

Perbedaan Aktivitas Larvisida Antara Ekstrak Metanol, Etil Asetat dan Kloroform Rimpang *Zingiber zerumbet* (L) Smith pada *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae)

Comparison of Methanol, Ethyl Acetates and Chloroform Extracts of *Zingiber zerumbet* (L) Smith in Larvisidal Activities on *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) Larvae

Tri Murini^{1*}, Mae Sri Hartati Wahyuningsih¹, Tri Baskoro T.Satoto²

1. Departemen Farmakologi dan Terapi

2. Departemen Parasitologi, Fakultas Kedokteran Kesehatan Masyarakat dan Keperawatan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

Corresponding author: Tri Murini: Email: murini28@yahoo.co.id

ABSTRAK

Akhir-akhir ini banyak ditemukan bahwa larva nyamuk telah resisten terhadap larvisida konvensional. Oleh karena itu, perlu dikembangkan larvisida baru dari bahan alam. Salah satu bahan alam yang dapat digunakan sebagai larvisida adalah rimpang *Z. zerumbet*, yang pada penelitian sebelumnya berpotensi sebagai larvisida pada *Artemia salina* Leach dan *Anopheles nunestovary*. Penggunaan beberapa solven untuk melihat aktivitas larvisida terbaik pada *Z. zerumbet* belum pernah diteliti. Tujuan penelitian ini untuk mengkaji aktivitas larvisida ekstrak methanol, etil asetat dan kloroform pada *A. aegypti*. Penelitian ini merupakan penelitian eksplorasi laboratories dengan rancangan posttest-only control group. Penelitian dilakukan pada tiga macam ekstrak *Z. zerumbet* dengan perbedaan solven yaitu methanol, etil asetat dan kloroform. Dua puluh lima larva instar III-IV *Ae.aegypti* dipejankan dengan tujuh konsentrasi yang berbeda dari ketiga ekstrak rimpang *Z. zerumbet*. Tingkat kematian larva dihitung dan kemudian dianalisis menggunakan regresi analisa probit untuk mendapatkan nilai LC_{50} dan LC_{90} . Nilai LC_{50} dan LC_{90} ketiga ekstrak methanol; etil asetat dan kloroform adalah; 153,57; 185,80; 3542,03 ppm dan; 226,59 ; 274,70 ; 5567,24 ppm. Ekstrak methanol rimpang *Z. zerumbet* memiliki aktivitas larvisida yang kuat terhadap larva instar III-IV *Ae.aegypti* dibandingkan dengan ekstrak lainnya.

Kata kunci: Ekstrak, *Z.zerumbet*, larvisida, *Ae.aegypti*, LC_{50}

ABSTRACT

The resistance of mosquito larvae to conventional larvicides has been increased in the recent years. Therefore, it is necessary to develop new larvacides from natural materials. Previous studies showed that *Zingiber zerumbet* (L.) Smith has a potential ability as a larvicide in *Artemia salina* Leach and *Anopheles nunestovary*. Nevertheless, the use of different solvents to observe the best larvicidal activity has not been known. This study aims to assess the larvicidal activity of methanol extract, ethyl acetate, and chloroform in *Aedes aegypti* larvae. This is an exploratory laboratory study with the posttest-only control group. The extraction solvents used were methanol, ethyl acetate, and chloroform. Twenty-five instar larvae (III-IV) of *Ae.aegypti* were treated with seven different concentrations of the three *Z. rhizome* extracts. The mortality rate of the larvae was calculated and analyzed using probit analysis regression to obtain LC_{50} and LC_{90} values. The LC_{50} of the methanol, ethyl

acetate, and chloroform extracts are 153.57, 185.80, 3542.03 ppm; while the LC₉₀ are 226.59, 274.70, and 5567.24 ppm, respectively. The study suggested that the methanol extract of *Z. zerumbet* rhizome has the most robust larvicidal activity against third-fourth instar larvae of *Ae. aegypti* among other extracts.

Key words: Extract, *Z. zerumbet*, larvisidal, *Ae. aegypti*, LC₅₀

PENDAHULUAN

Nyamuk *Aedes aegypti* merupakan vektor utama penyebab demam berdarah dengue di Indonesia. Untuk mengantisipasi penyebarannya sebaiknya diberantas pada waktu masih dalam bentuk larva. Pemberantasan larva nyamuk dengan larvisida hingga kini masih menggunakan temefos (Abate). Pemakaian insektisida secara terus menerus dalam waktu lama dapat mengakibatkan resistensi organisme sasaran. Resistensi larva *Ae. aegypti* terhadap temefos telah dilaporkan di Indonesia, di daerah Surabaya (Mulyatno *et al.*, 2012) dan di Jakarta (Prasetyowati *et al.*, 2016) sementara di luar negeri juga terjadi di Colombia dan Brazil (Grizales *et al.*, 2013; Diniz *et al.*, 2014). Insektisida yang aman terhadap lingkungan adalah insektisida yang secara selektif toksik terhadap serangga sasaran, dan mudah mengalami biodegradasi di alam sehingga dapat digunakan pada manajemen program pengendalian serangga sasaran (Rattan, 2010). Penggunaan produk bioaktif alami dengan potensi larvisida perlu dikembangkan sebagai alternatif pencegahan berkembangnya larva

Lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet* (L) J.E. Smith), merupakan tanaman obat yang sering digunakan sebagai campuran jamu dalam industri obat tradisional. Kandungan kimia lempuyang gajah antara lain senyawa golongan terpenoid (zerumbon, zederon), alkaloid, fenol termasuk flavonoid (derivat kaempferol) dan komponen aromatik (P-hidroksibenzaldehid, vanilin) serta saponin (Dae *et al.*, 2004; Chien *et al.*, 2008; Hashemi *et al.*, 2008). Skrining pendahuluan pada beberapa tanaman sebagai larvisida te

rhada larva *Ae. aegypti* menunjukkan bahwa ekstrak metanol rimpang *Z. zerumbet* mempunyai aktivitas larvisida terbaik dengan nilai LC₅₀: 153,57ppm (Murini *et al.*, 2014)

METODOLOGI

Bahan dan alat

Bahan tanaman yang digunakan adalah rimpang *Z. zerumbet* diperoleh dari desa Jatimulyo, Kulon Progo yang diambil bulan Mei 2014 dan telah diterminasi di Bagian Biologi Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada (BF/284/Ident/Det/VI/2014) metanol standart teknis, kloroform standart teknis, etil asetat standart teknis, wash benzen standart teknis, silika gel GF₂₅₄, larva instar III-IV nyamuk *Ae. aegypti* Lampu UV (254 dan 366 nm), reagen penyemprot (Cerium Sulfat), sentrifuge (Hitachi 18PR/5, Automatic high speed refrigerated), vakum evaporator (Heidolf vv 2000, Germany), oven (Memert, Germany), plate silika gel GF₂₅₄, gelas volume 250 ml, air suling.

Cara penelitian

Preparasi ekstrak metanol, etil asetat dan kloroform rimpang *Z. zerumbet*

Masing-masing 500 gram serbuk kering rimpang lempuyang gajah diekstraksi dengan cara maserasi disertai pengadukan selama 24 jam pada suhu kamar menggunakan 1 liter metanol; 1 liter ethyl asetat dan 1 liter kloroform. Penyaringan dilakukan menggunakan corong *buchner* dan ampasnya dimaserasi kembali dengan cara yang sama sebanyak dua kali kemudian disaring. Filtrat yang didapat digabung pada masing-masing solven dan diuapkan, sehingga diperoleh

ekstrak metanol, ekstrak etil asetat dan ekstrak kloroform dalam konsistensi kental, kemudian ditimbang untuk mengetahui rendemennya. Keberhasilan masing-masing ekstraksi dipantau dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT).

Kolonisasi larva *Aedes aegypti*

Proses kolonisasi larva nyamuk *Ae. aegypti* dilakukan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Kesehatan Masyarakat dan Keperawatan Universitas Gadjah Mada dengan metode sesuai prosedur yang ada menurut WHO (2005). Nyamuk *Ae.aegypti* dewasa dipindahkan ke sangkar nyamuk dengan menggunakan aspirator. Didalam sangkar disediakan mangkok yang berisi air leding sebagai tempat bertelur nyamuk. Selanjutnya telur *Ae.aegypti* dimasukkan dalam baki yang berisi 1500 ml air sumur dan ditunggu 1-2 hari sampai menetas menjadi larva. Selama proses kolonisasi, diberikan hati ayam sebagai makanan larva. Identifikasi larva instar III-IV *Ae.aegypti* dilakukan 7 hari setelah menetas, secara makroskopis dengan menggunakan lensa pembesar.

Uji aktifitas larvisida

Penelitian ini menggunakan tujuh konsentrasi untuk ekstrak metanol dan etil asetat (125; 135; 145,80; 157,46; 170,06; 183,67 dan 200 ppm), sedangkan ekstrak kloroform (2500; 2800; 3136; 3933,85; 4495,85 dan 5000 ppm). Masing-masing konsentrasi ekstrak disuspensikan dengan tween 80 beberapa tetes, kemudian diberi air hingga 100 ml dimasukkan dalam wadah plastik yang bervolume 200 ml. Tiap wadah berisi 25 ekor larva instar III- IV *Ae. aegypti*. Perhitungan larva yang mati dilakukan 24 jam setelah pemberian ekstrak. Larva dinyatakan mati apabila tenggelam atau tidak bergerak setelah diganggu atau disentuh dengan pipet pada sifon atau daerah toraks (WHO,2005). Pengujian diulang sebanyak tiga (3) kali.

Analisa data

Aktivitas larvisida digambarkan dengan nilai LC₅₀ dan LC₉₀ yang ditetapkan dengan regresi analisis probit menggunakan program A.Woods U.N.S.W. versi 1.1.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Preparasi ekstrak metanol, etil asetat dan kloroform rimpang *Z. zerumbet*

Rimpang *Z.zerumbet* yang telah dibuat serbuk dan dilakukan dengan metode maserasi karena rimpang *Z.zerumbet* mengandung minyak mudah menguap. Maserasi dilakukan dengan menggunakan solven yang berbeda kepolarannya yaitu metanol (polar), etil asetat (semi polar) maupun kloroform (non polar) masing-masing selama 3 hari. Hasil ekstraksi dari beberapa solven yang berbeda kepolarannya dari rimpang *Z.zerumbet* disajikan pada (Tabel 1). Hasil ekstraksi dengan solven metanol, etil asetat dan kloroform dari serbuk rimpang *Z.zerumbet* secara masera menghasilkan rendemen 0,75%, 1,26% dan 7,25%. Pada (Tabel 1) terlihat bahwa ekstraksi dengan pelarut metanol pada rimpang *Z.zerumbet* menghasilkan rendemen paling kecil dibandingkan dengan pelarut etil asetat dan kloroform. Hal ini menunjukkan bahwa kandungan kimia yang terdapat pada pelarut polar paling kecil dibandingkan dengan pelarut semi polar maupun non polar.

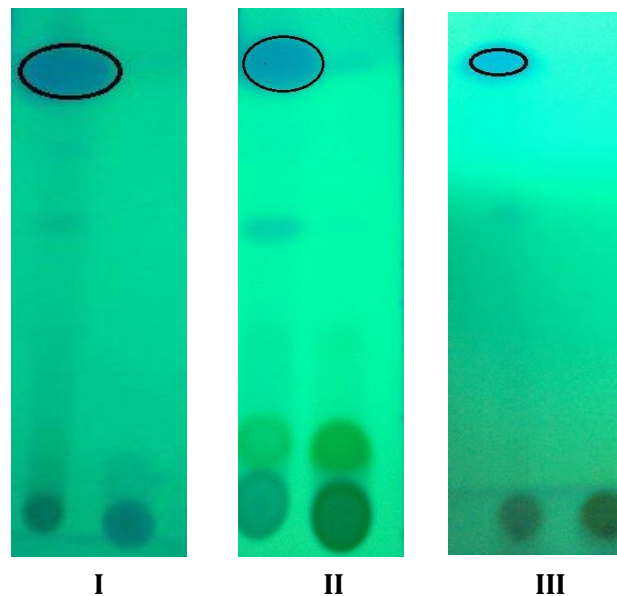
Hasil Kromatogram ekstrak metanol, etil asetat dan kloroform

Profil kromatogram pada KLT terlihat adanya spot yang tebal pada ekstrak metanol (I) yang menunjukkan bahwa senyawa yang tersari pada ekstrak methanol lebih banyak dibandingkan Dengan ekstrak etil asetat maupun kloroform (Gambar 1). Dapat diartikan bahwa senyawa yang terkandung dalam solven metanol yang bersifat polar lebih

Tabel I. Hasil rendemen dari serbuk rimpang *Z. zerumbet* dengan metode maserasi

Macam	Bobot kering (kg)	Rendemen %
Ekstrak metanol	0,5	0,75
Ekstrak etil asetat	0,5	1,26
Ekstrak kloroform	0,5	7,25

Keterangan : % Redemen diperoleh dari berat ekstrak dengan bobot tetap dibagi dengan berat serbuk



Gambar1: Kromatogram KLT ekstrak metanol (I); ekstrak etil asetat (II) dan ekstrak kloroform dari rimpang *Z. zerumbet*; Fase diam: silika gel GF254; fase gerak: Etil asetat :WB = 1:3; Deteksi dengan sinar UV 254 nm

besar dibandingkan dengan solven semi polar maupun non polar.

Ekstraksi rimpang *Z. zerumbet* dengan pelarut metanol bertujuan untuk mendapatkan golongan senyawa yang bersifat polar, sedangkan pelarut etil asetat untuk mendapatkan golongan senyawa yang bersifat semi polar, serta kloroform untuk mendapatkan golongan senyawa yang bersifat non polar. Dilihat dari profil KLT ekstrak dengan pelarut non polar menunjukkan spot yang tidak tebal, yang dapat diartikan bahwa senyawa-senyawa yang terlarut pada solven bersifat non polar hanya tersari sedikit atau golongan senyawa yang bersifat non polar hanya kecil. Sementara dengan solven etil asetat memberikan spot yang lebih tebal

dibanding dengan solven kloroform. Dalam hal ini etil asetat merupakan solven semi polar yang mendekati polar.

Hasil Uji daya Larvisida ekstrak metanol, etil asetat dan kloroform *Z. zerumbet*

Uji larvisidal secara *in vivo* pada larva *Ae. aegypti* terhadap ekstrak metanol, etil asetat dan kloroform dengan tujuan untuk mengetahui aktivitas larvisida dari setiap ekstrak yang diperoleh. Untuk mengetahui aktivitas larvisida, masing-masing ekstrak dipaparkan pada larva *Ae. aegypti* stadium III-IV selama 24 jam.

Aktivitas larvisida dihitung berdasarkan kematian larva. Hasil uji aktivitas menunjukkan persentase kenaikan kematian larva *Ae. aegypti* pada

Tabel II. Nilai LC₅₀ dan LC₉₀ pada ekstrak metanol, etil asetat dan kloroform

Nama ekstrak	Konsentrasi ^a (ppm)	Jumlah larva	^b Kematian (%)	Slope (± SE)	LC ₅₀ (ppm) (95%CL)	LC ₉₀ (ppm) (95%CL)
Metanol	kontrol	25	0,00 ± 0,00			
	125,00	25	24,00 ± 1,89			
	135,00	25	33,33 ± 3,93	7,61 (± 0,23)	153,57 *(144,57-163,13)	226,59 *(193,26-269,07)
	145,80	25	49,33 ± 2,88			
	157,46	25	48,67 ± 1,45			
	170,06	25	62,67 ± 2,18			
	183,67	25	70,67 ± 4,36			
	200,00	25	80,00 ± 1,89			
Etil asetat	kontrol	25	0,00 ± 0,00			
	125,00	25	9,33±1,89			
	135,00	25	13,33±1,89	7,57 (± 0,29)	185,80 *(170,69-202,28)	274,70 *(218,05-346,27)
	145,80	25	21,33±1,89			
	157,46	25	33,33±3,27			
	170,06	25	44,00±3,27			
	183,67	25	49,33±1,89			
	200,00	25	54,67±4,99			
Kloroform	kontrol	25	0,00 ± 0,00			
	2500	25	18,67±1,86			
	2800	25	32,00±9,80	7,60 (±9,50)	3542,03 (3298,41-3803,75)	5567,24 (4712,51-6580,59)
	3136	25	40,00±14,24			
	3512,32	25	52,00±6,53			
	3933,85	25	64,00±5,66			
	4495,85	25	77,33±3,77			
	5000	25				

^appm : konsentrasi ekstrak rimpang *Z.zerumbet*; ^bnilai rata-rata tiga kali replikasi; *confidencelimit 95% (LCL= Lower Confidence Limit; UCL = Under Confidence Limit)

masing-masing kadar ekstrak (Tabel II).

Makin tinggi konsentrasi ekstrak uji maka % kematian larva makin besar. Pada Tabel 2 menunjukkan konsentrasi ekstra terkecil pada metanol dan etil asetat (125 ppm) mampu mematikan larva *Ae.aegypti* sebesar 24,00 ± 1,89 dan 9,33±1,89 %. Pada konsentrasi 200 ppm mampu mematikan larva secara berturut-turut 80,00 ± 1,89 dan 85,33±3,77%. Sedangkan untuk solven non

polar (kloroform) konsentrasi terendah (2500 ppm) hanya bisa mematikan 18,67±1,86%. Hasil perbedaan kelarutan senyawa aktif rimpang *Z.zerumbet* terhadap sifat polaritas solven yang diujikan pada larva *Ae.aegypti* instar III-IV ternyata juga mempengaruhi nilai LC₅₀ dan LC₉₀ pada masing-masing solven. Senyawa yang larut dalam solven polar yaitu metanol memberikan hasil LC₅₀ dan LC₉₀ lebih kecil

dibandingkan dengan solven semi polar (*etil asetat*) dan non polar (*kloroform*), yaitu 153,57; 185,80; 3542,03 ppm dan 226,59; 274,70 dan 5567,24ppm. Hal ini dapat diartikan bahwa nilai LC₅₀ dan LC₉₀ memberikan hasil yang lebih poten terhadap larva *Ae.aegypti* dibandingkan nilai LC₅₀ dan LC₉₀ yang besar.

Hasil yang sama pada beberapa penelitian yang dilakukan pada daun *Morinda citrifolia*; *Azadirachta indica*; *Delonix elata*; *Mirabilis jalapa*; *Tridax procumbens* (Kovendan *et al.*, 2012; Maragathavalli *et al.*, 2012; Gavindarajan *et al.*, 2014; Begum *et al.*, 2014) dengan solven polar (metanol) memberikan hasil LC₅₀ dan LC₉₀ lebih kecil dibanding solven semi polar (etil asetat) maupun non polar (kloroform, heksan, benzen). Hal ini dapat diartikan bahwa zat aktif yang terdapat pada rimpang *Z.zerumbet* mempunyai khasiat sebagai larvisida pada larva *Ae.aegypti* merupakan senyawa aktif yang larut dalam solven polar.

KESIMPULAN

Hasil penelitian ini mengungkapkan bahwa solven dengan perbedaan polaritas yang digunakan untuk ekstraksi juga berdampak pada jumlah kematian larva. Nilai LC₅₀ dan LC₉₀ ketiga ekstrak metanol; etil asetat dan kloroform berturut-turut adalah; 153,57; 185,80; 3542,03 ppm dan; 226,59; 274,70; 5567,24 ppm. Ekstrak metanol rimpang *Z.zerumbet* memiliki aktivitas larvisida yang kuat terhadap larva instar III-IV *Ae.aegypti* dibandingkan dengan ekstrak lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Begum, S.M.I., Durga A., Mary R.R., Vithiya, B.S.M., Elumalai K., 2014 Evaluation of Larvicidal Activity of *Tridax procumbens* (Asteraceae) Leaf Extract Against the Dengue vector *Aedes aegypti* and *Bancroftian Filariasis* vector, *Culex quinquefasciatus*. *Indian Journal of applied Research* 4 (8) 664-666.
- Chien, T.Y., Chen, L.G., Lee, C.J., and Wang, C.C., 2008. Anti-inflammatory constituents of *Zingiber zerumbet*, *Food Chemistry*, vol 11 (3) 584-589.
- Dae, S.J., Han, A.R., Park,G., Jhon, G.J., and Seo, E.K., 2004. Flavonoids and aromatic compounds from the rhizomes of *Zingiber zerumbet*, *Archives of Pharmacal. Reseach*, vol 27(4) 386-389.
- Diniz, M.M.C.S.L., Henriques, A.D.S., Leandro, R.S., Aguiar, D.L., and Beserr, E.B. 2014. Resistance Of *Aedes Aegypti* To Temephos And Adaptive Disadvantages. *Rev Saúde Pública*; vol.48(5):775-782 .
- Finney, D.J., 1971. *Probit Analysis; A Statistical treatment of sigmoid response curve*, Cambridge, 67-79.
- Govindarajan, M., Ramya, A and Sivakumar, R., 2014. Mosquito larvicidal properties of *Mirabilis jalapa* (Nyctaginaceae) against *Anopheles stepheni*, *Aedes aegypti*, & *Culex quinquefasciatus* (Diptera : Culicidae) *Indian J.Med.Res.*438-440.
- Grisales, N., Poupardin, R., Gomez, S., Fonseca-Gonzalez, I., Ranson, H., 2013. Temephos Resistance in *Aedes aegypti* in Colombia Compromises Dengue Vector Control. *PLoS Neglected Tropical Diseases*; vol.7(9): e2438 1-10.
- Hashemi, S.R., Zulkifli, I., Bejo, M.H., Farida A., and Somchit, M.N.,2008, Acute toxicity study and phytochemical screening of selected herbal aqueous extract in broiler chicken, *International Journal of Pharmacology*, vol. 4(5) 352-360.
- Kovendan, K., Murugan, K., Vincent, S., 2012. Evaluation of larvicidal activity of *Acalypha alnifolia* Klein ex Willd. (*Euphorbiaceae*) leaf extract against the malarial vector, *Anopheles*

- stephensi*, dengue vector, *Aedes aegypti* and Bancroftian filariasis vector, *Culex quinquefasciatus* (Diptera : *Culicidae*), *Parasitol. Res.* 110 (2): 571-81.
- Marathagavalli, S., Brindha, S., Kaviyarasi, N.S., Annadurai, B., Gangwar, S.K., 2012. Mosquitoes larvicidal activity of leaf extract of neem (*Azadirachta indica*), I.J.A.B.R., vol.2(1) 138-142.
- Marimuthu, G., Rajamohan, S., Mohan, R., Krisnamoorthy, Y., 2012. Larvicidal and ovicidal properties of leaf and seed extracts of *Delonix elata* (L) Gamble (family : *Fabaceae*) against malaria (*Anopheles stephensi* Liston) and dengue (*Aedes aegypti* (Linn) (Diptera : *Culicidae*) vector mosquitoes., *Parasitol Res.* 111 (1) 65-77.
- Mulyatno, K.C., Yamanaka, A., Ngadino, Konish, E., 2012. Resistance Of *Aedes Aegypti* (L.) Larvae To Temephos In Surabaya, Indonesia. *Southeast Asian Journal Tropical Medical Public Health.* 2012; 43(1), 29-33.
- Murini, T., Satoto, T.B., Wahyuningsih M.S.H., 2014 Eksplorasi beberapa tanaman yang berpotensi sebagai larvisida *Aedes aegypti* (Dipterae : *Culicidae*), dalam *Prosiding Peluang dan tantangan Obat Tradisional dalam Pelayanan Kesehatan Formal*, Yogyakarta, 305-309, ISBN : 978-602-70191-0-2.
- Prasetyowati, H., Hendri, J., Wahono, T., 2016. Status Resistensi *Aedes aegypti* (Linn.) terhadap Organofosfat di Tiga Kotamadya DKI Jakarta. *BALABA.*; 12 (1): 23-30.
- World Health Organization, 2005. *Guidelines for Laboratory and Field Testing of Mosquito Larvicides.* Dikutip. dari http://whqlibdoc.who.int/hq/2005/WHO_CDS_WHO_PES_GC_DPP_2005.13.pdf. 10 September 2011.