

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

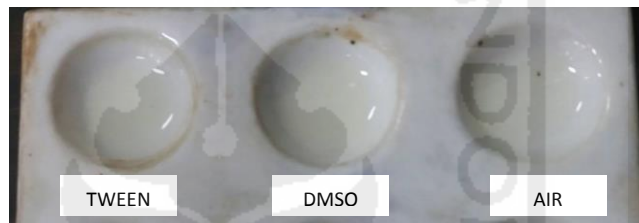
4.1 Hasil

4.1.1. Uji Pendahuluan

Uji Pendahuluan dibagi menjadi beberapa tahapan dengan hasil sebagai berikut :

1. Uji Kelarutan Sitral

Hasil uji kelarutan senyawa sitral terhadap pelarut yang ingin diujikan adalah sebagai berikut (Gambar 13) :



Gambar 13. Hasil Uji Kelarutan Senyawa Sitral

Berdasarkan uji kelarutan senyawa sitral didapatkan tidak begitu jelas terlihat perbedaan hasil *tween80*, DMSO dan akuades. Namun, jika dilihat dalam jarak dekat terlihat bahwa pada plat yang diberi *tween80* mampu menghomogenisasi sitral sehingga tidak terlihat adanya minyak dipermukaan. Sementara pada plat yang diberi DMSO dan air terlihat adanya minyak yang mengapung pada permukaan.

2. Uji Toksisitas Pelarut

Tween80 mampu menghomogenisasikan sitral dengan baik. Untuk dapat digunakan sebagai pelarut pada uji utama, sitral terlebih dahulu diuji efek toksisitasnya terhadap larva instar III *Ae. aegypti*. Hasil dari uji toksistas *tween 80* adalah sebagai berikut (Gambar 14) :



Gambar 14. Hasil Uji Toksisitas *Tween*

Hasil uji toksisitas yang dilakukan dengan konsentrasi *tween80* sebesar 2% menunjukkan bahwa tidak didapatkan adanya larva instar III *Ae. aegypti* yang mati. Konsentrasi 2% digunakan sebagai estimasi *tween 80* maksimal yang akan digunakan pada uji utama dan telah melebihi konsentrasi *tween80* yang akan digunakan dalam uji pendahuluan yaitu 1,6%.

3. Uji Pendahuluan Variasi Konsentrasi

Uji pendahuluan variasi konsentrasi dilakukan untuk mendapatkan konsentrasi yang akan digunakan pada saat uji utama. Hasil uji pendahuluan variasi konsentrasi yang telah dilakukan adalah sebagai berikut (Tabel 3) :

Tabel 3. Hasil Uji Pendahuluan Variasi Konsentrasi

Variasi Konsentrasi (%)	Mortalitas (%)
0,003	0
0,004	40
0,005	60
0,01	88
0,02	100
0,025	100

Konsentrasi yang ingin digunakan pada uji pendahuluan variasi konsentrasi awalnya adalah 0,025% ; 0,05% ; 0,1% ; 0,2% ; 0,4% ; 0,8% ; 1,6%. Tetapi, pada konsentrasi 0,025% didapatkan persentase mortalitas larva instar III *Ae. aegypti* sudah mencapai 100 % sehingga uji pendahuluan variasi konsentrasi menggunakan konsentrasi \leq 0,025%. Konsentrasi yang dimaksud adalah 0,003% ; 0,004% ; 0,005% ; 0,01% ; 0,02% dan 0,025%.

Berdasarkan hasil uji pendahuluan variasi konsentrasi, ditetapkan lima variasi konsentrasi yang akan digunakan pada uji utama. Variasi konsentrasi tersebut adalah 0,004 % , 0,0045 % , 0,005 % , 0,0055 % dan 0,006 %.

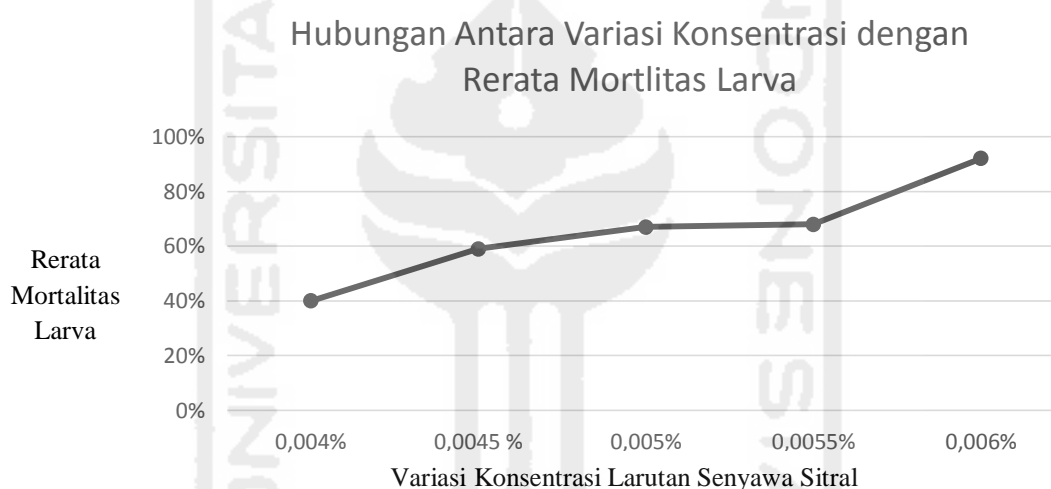
4.1.2 Uji Utama

Variasi konsentrasi yang didapatkan pada uji utama selanjutnya digunakan pada uji utama. Uji utama dilakukan bersamaan dengan replikasi nya. Variabel pengganggu yang terdapat pada penelitian ini seperti suhu, kepadatan larva, volume air, stadium larva dan kelembaban udara telah dikendalikan. Hasil persentase kematian larva instar III *Ae. aegypti* pada uji utama adalah sebagai berikut (Tabel 4) :

Tabel 4. Persentase Mortalitas pada Uji Utama

Replikasi	Variasi Konsentrasi Larutan Senyawa Sitral					Kontrol (+) <i>Temephos</i> 0,02 ppm	Kontrol (-)
	0,004%	0,0045%	0,005%	0,0055%	0,006%		
I	20 %	68 %	56 %	48 %	84 %	100 %	0 %
II	52 %	52 %	68 %	76 %	92 %	100 %	0%
III	48 %	60 %	72 %	76 %	92 %	100 %	0%
IV	40 %	56 %	72 %	72 %	100 %	100 %	0%
Rata-rata mortalitas	40 %	59 %	67 %	68%	92 %	100 %	0 %

Berdasarkan data hasil pada uji utama, maka dapat dibuat sebuah grafik hubungan antara rata – rata persentase mortalitas larva dengan variasi konsentrasi larutan senyawa sitral (Gambar 15)



Gambar 15. Grafik Hubungan Antara Variasi Knsentrasi dengan Rerata Mortalitas LarvaKonsentrasi

Berdasarkan hasil uji utama didapatkan bahwa setiap konsentrasi larutan senyawa sitral memiliki efek larvisida yang berbeda – beda setelah 24 jam perlakuan. Rata – rata persentase kematian larva setelah diberi perlakuan pada kelompok kontrol negatif adalah 0 % dan pada kelompok kontrol positif adalah 100 %. Rata – rata persentase kematian larva pada konsentrasi 0,004 % adalah sebanyak 40 %, pada konsentrasi 0,0045 % adalah sebanyak 59 %, pada konsentrasi 0,005 % adalah sebanyak 67 % , pada konsentrasi 0,0055 % adalah sebanyak 68 % , pada konsentrasi 0,006 % adalah sebanyak 92 % .

4.1.3 Analisis Data

Data yang diperoleh dari uji utama selanjutnya akan diuji menggunakan program SPSS. Uji yang dilakukan berupa uji normalitas dan variansi. Uji normalitas menggunakan uji *Shapiro-Wilk*. Hasil uji normalitas data hasil pengamatan didapatkan nilai p sebesar 0,011. Nilai p ini menunjukkan data tidak terdistribusi normal, maka analisis dilakukan dengan menggunakan uji *Kruskal-Wallis*. Hasil uji *Kruskal-Wallis* data hasil pengamatan didapatkan nilai p sebesar 0,000. Nilai p menunjukkan hasil yang signifikan karena nilai $p < 0,005$ sehingga data hasil pengamatan selanjutnya dianalisis dengan Uji *Mann-Whitney*. Hasil uji *Mann-Whitney* data hasil pengamatan adalah sebagai berikut (Tabel 5) :

Tabel 5. Hasil Uji *Mann-Whitney*

Konsentrasi (%)	Kontrol (-)	Kontrol (+)	0,004	0,0045	0,005	0,0055	0,006
Kontrol (-)	-	0,008	0,014	0,014	0,013	0,013	0,013
Kontrol (+)	0,008	-	0,014	0,014	0,013	0,013	0,046
0,004	0,014	0,014	-	0,110	0,02	0,058	0,020
0,0045	0,014	0,014	0,110	-	0,108	0,146	0,020
0,005	0,013	0,013	0,02	0,108	-	0,372	0,019
0,0055	0,013	0,013	0,058	0,146	0,372	-	0,019
0,006	0,013	0,046	0,020	0,020	0,019	0,019	-

Konsentrasi yang diberi lingkaran merah menunjukkan hasil nilai $p > 0,005$ yang berarti tidak signifikan.

Data hasil pengamatan diuji menggunakan analisis probit untuk mencari estimasi nilai LC_{50} dan LC_{90} . Hasil uji analisis probit data hasil pengamatan adalah sebagai berikut (Tabel 6) :

Tabel 6. Hasil Analisis Probit

No	Parameter	Konsentrasi (%)
1	LC_{50}	0,004
2	LC_{90}	0,006

4.2 Pembahasan

Hasil uji *Shapiro-Wilk* didapatkan nilai p sebesar $< 0,005$, sehingga data hasil pengamatan yang didapatkan tidak terdistribusi normal. Selanjutnya data dianalisis menggunakan uji *Kruskal-Wallis*. Hasil uji *Kruskal-Wallis* didapatkan nilai p sebesar $< 0,005$ artinya terdapat perbedaan jumlah kematian larva antara kelompok

perlakuan. Kemudian data dianalisis menggunakan uji *Mann-Whitney* untuk melihat pengaruh masing – masing variasi konsentrasi terhadap jumlah kematian larva. Hasil uji *Mann-Whitney* dari data hasil pengamatan didapatkan adanya perbedaan mortalitas yang bermakna pada seluruh kelompok variasi konsentrasi terhadap kelompok kontrol positif dan kontrol negatif sedangkan antar kelompok variasi konsentrasi didapatkan hasil tidak signifikan antara konsentrasi 3, 4, 5 dan 6. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi 0,004 %, konsentrasi 0,0045 %, konsentrasi 0,005 %, dan konsentrasi 0,0055 % memiliki pengaruh yang tidak jauh berbeda terhadap jumlah kematian larva. Selisih kematian larva antara konsentrasi 0,004 %; 0,0045 %; 0,005 % dan 0,0055 % lebih sedikit jika dibandingkan dengan antar kelompok variasi konsentrasi lainnya. Larutan senyawa sitral pada konsentrasi 0,006 % belum mampu membunuh larva 100 % seperti pada temefos.

Data hasil pengamatan dianalisis menggunakan analisis probit untuk mencari estimasi nilai LC_{50} dan LC_{90} . Hasil analisis probit menunjukkan estimasi nilai LC_{50} sebesar 0,004 % atau setara dengan 40 ppm dan LC_{90} sebesar 0,006 % atau setara dengan 60 ppm. Larutan senyawa sitral mampu mematikan larva *Ae. aegypti* sebanyak 50 % pada konsentrasi 40 ppm dan mampu mematikan larva *Ae. aegypti* sebanyak 90 % pada konsentrasi 60 ppm. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Kartika dan Istianah (2014), ekstrak etanol daun kemangi terhadap larva instar III *Ae. aegypti* memiliki nilai LC_{50} sebesar 1290,39 ppm dan LC_{90} sebesar 3173,53 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa larutan senyawa sitral lebih efektif menyebabkan mortalitas dibandingkan dengan ekstrak etanol daun kemangi karena larutan senyawa sitral mampu menyebabkan kematian 50 % larva dengan konsentrasi yang lebih kecil. Perbedaan ini diduga karena senyawa sitral merupakan senyawa aktif tunggal jika dibandingkan dengan ekstrak etanol daun kemangi yang masih memiliki banyak senyawa aktif sehingga memungkinkan suatu senyawa aktif dapat menghambat efek larvisida senyawa aktif lainnya.

Sitral merupakan senyawa monoterpena dan bersifat tidak larut air (Saddiq, *et al*, 2010). Untuk dapat larut dalam air, sitral memerlukan pelarut atau surfaktan. Setelah dilakukan uji pendahuluan didapatkan bahwa *tween* 80 yang mampu melarutkan sitral paling baik dan tidak memiliki efek toksik terhadap larva. Hal ini

sesuai dengan penelitian Maheswaran *et al* (2008) yang menunjukkan bahwa tidak didapatkan adanya kematian larva pada kelompok kontrol negatif yang hanya diberikan *tween80*.

Sitral terbukti memiliki efek larvisida karena pada kelompok yang diberikan senyawa sitral sintetik terdapat kematian larva yang bervariasi. Hasil ini menjadi lebih valid dikarenakan adanya kontrol negatif yang menunjukkan tidak adanya kematian larva. Senyawa sitral juga telah diketahui memiliki efek sebagai anti parasit terhadap larva cacing *Anisakis simplex* yang ditunjukkan dari penelitian Hierro *et al* (2006) dengan nilai mortalitas larva sebesar 85,90%. Pada penelitian ini, sitral diambil dari tumbuhan yang berbau wangi dan memiliki kandungan sitral. Penelitian Calvacenti *et al* (2004) juga mendukung penelitian Hierro *et al* (2006) yang menunjukkan bahwa minyak atsiri *Cymbopogon citratus* yang mengandung sitral memiliki efek larvisida terhadap larva *Ae. aegypti*.

Menurut penelitian Lee dan Ahn (2013), terdapat hubungan antara aktivitas larvisida dengan kejadian inhibisi asetilkolinesterase. Aktivitas inhibisi AChE dilihat dari kepala larva instar III yang diekstraksi setelah diberikan paparan sitral selama 24 jam. Hasilnya menunjukkan bahwa larva instar III *Ae. aegypti* yang dipaparkan sitral memiliki IC_{50} sebesar 14,27 mM.

Sitral memiliki efek larvisida terhadap larva instar III *Ae. aegypti* dengan cara menghambat kerja asetilkolinesterase (Lee dan Ahn., 2013). Asetilkolinesterase akan menghidrolisis secara cepat asetilkolin yang berada pada persarafan kolinergik baik saraf pusat maupun saraf perifer menjadi asetat, kolin dan koenzim-A. Asetikolin yang telah mengalami hidrolisis tidak akan lagi mampu berikatan dengan reseptornya (Isnaeni, 2006).

Adapun kemungkinan mekanisme lain yang dapat menyebabkan kematian larva adalah sebagai racun perut. Menurut penelitian Osman *et al* (2016), monoterpenoid dapat masuk sebagai racun perut dibuktikan dari gambaran perubahan histopatologi usus serangga. Perubahan histopatologi pada usus serangga yang terpapar monoterpenoid adalah penebalan lapisan otot, gambaran vakuola yang membesar, dan adanya destruksi dari sel epitel usus.

Adapun mekanisme lain yang mungkin menyebabkan kematian adalah sebagai racun kontak. Menurut penelitian Osman *et al* (2016) serangga yang terpapar minyak atsiri yang mengandung monoterpenoid akan mengalami kematian melalui kontak dengan minyak atsiri tersebut. Hal ini dibuktikan dengan didapatkannya gambaran histopatologi berupa nekrosis lapisan hipodermis. Lapisan kutikular menjadi kecoklatan dan tidak dapat dibedakan antara eksokutikel dan endokutikel.

4.3 Keterbatasan Penelitian

1. Penelitian ini hanya melihat efek larvisida terhadap larva instar III *Ae. aegypti* tetapi tidak mengukur secara pasti kadar asetilkolinesterase.
2. Penelitian ini tidak melihat gambaran histopatologis dari larva setelah perlakuan untuk mengetahui mekanisme pasti senyawa sitral sintetik dapat menyebabkan kematian.

