KARAKTERISASI KG-SM (KROMATOGRAFI GAS-SPEKTROMETRI MASSA), UJI FITOKIMIA DAN POTENSI ANTI LARVA NYAMUK (Culex sp.) DARI EKSTRAK SONIKASI KULIT BUAH JERUK PURUT (Citrus hystrix D.C) DENGAN VARIASI PELARUT

SKRIPSI

Oleh: VIRNA HERNA NINGKI NIM. 17630085



PROGRAM STUDI KIMIA FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG 2023

KARAKTERISASI KG-SM (KROMATOGRAFI GAS-SPEKTROMETRI MASSA), UJI FITOKIMIA DAN POTENSI ANTI LARVA NYAMUK (Culex sp.) DARI EKSTRAK SONIKASI KULIT BUAH JERUK PURUT (Citrus hystrix D.C) DENGAN VARIASI PELARUT

SKRIPSI

Oleh: VIRNA HERNA NINGKI NIM. 17630085

Diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Univeritas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan
dalam Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

PROGRAM STUDI KIMIA FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG 2023

KARAKTERISASI KG-SM (KROMATOGRAFI GAS-SPEKTROMETRI MASSA), UJI FITOKIMIA DAN POTENSI ANTI LARVA NYAMUK (Culex sp.) DARI EKSTRAK SONIKASI KULIT BUAH JERUK PURUT (Citrus hystrix D.C) DENGAN VARIASI PELARUT

SKRIPSI

Oleh: VIRNA HERNA NINGKI NIM. 17630085

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji Tanggal: 14 Desember 2023

Pembinbing I

Rachmawath Ningsih, M.Si NIP. 19810811 200801 2 010

Pembimbing II

Susi Nurul Khalifah, M.Si NIP. 19851020 201903 2 012

Mengetahui,

NIP. 19810 1 200801 2 010

KARAKTERISASI KG-SM (KROMATOGRAFI GAS-SPEKTROMETRI MASSA), UJI FITOKIMIA DAN POTENSI ANTI LARVA NYAMUK (Culex sp.) DARI EKSTRAK SONIKASI KULIT BUAH JERUK PURUT (Citrus hystrix D.C) DENGAN VARIASI PELARUT

SKRIPSI

Oleh: VIRNA HERNA NINGKI NIM. 17630085

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si) Tanggal: 14 Desember 2023

Penguji Utama

: A. Ghanaim Fasya, M.Si

NIP. 19820616 200604 1 002

Ketua Penguji

: Nur Aini, M.Si

NIP. 19840608 201903 2 009

Sekretaris Penguji : Rachmawati Ningsih, M.Si

NIP. 19810811 200801 2 010

Anggota Penguji

: Susi Nurul Khalifah, M.Si

NIP. 19851020 201903 2 012

NIP. 19810811 **6**0801 2 010

SURAT PERNYATAAN ORISINALITAS PENELITIAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama

: Virna Herna Ningki

NIM

: 17630085

Fakultas/Jurusan

: Sains dan Teknologi/Kimia

Judul Penelitian

: Karakterisasi KG-SM (Kromatografi Gas-Spektrometri

Massa), Uji Fitokimia dan Potensi Anti Larva Nyamuk (*Culex* Sp.) dari Ekstrak Sonikasi Kulit Buah Jeruk

Purut (Citrus hystrix D.C) dengan Variasi Pelarut

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa hasil penelitian saya ini tidak terdapat unsur-unsur penjiplakan karya penelitian atau karya ilmiah yang pernah dilakukan atau dibuat oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka.

Apabila ternyata hasil penelitian ini terbukti terdapat unsur-unsur jiplakan, maka saya bersedia untuk mempertanggung jawabkan, serta diproses sesuai peraturan yang berlaku.

Malang, 14 Desember 2023 Yang membuat Pernyataan,

NHM. 17630085

HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirobbil 'aalamiin, dengan mengucap syukur yang mendalam kepada Allah SWT serta sholawat serta salam kepada Nabi Muhammad SAW yang telah memberikan kekuatan dan kemudahan sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini. Karya skripsi ini saya persembahkan untuk:

Bapak Heri Khoeroni dan Ibu Tarwiyah, terimakasih atas segala dukungan baik moril maupun materil yang selalu mendoakan yang terbaik. Kakak Wahyu, Kakak Gita serta Adik Jihan terimakasih atas motivasi dan semangatnya. Terimakasih kepada diri sendiri yang telah berusaha dan tidak pantang menyerah hingga dititik ini.

Terimakasih kepada teman-teman seperjuangan, khususnya Novita Indriana Pujiastuti dan Dhema Pissela Bayu Martha yang selalu ada, membantu dan menemani dalam menyelesaikan skripsi ini. Sifrotun Najahah, Zamrotin, Imroatul Hasanah, Lumatut Durrotil Fahriyah, M. Khairul Umami dan Agie Pratama Setiawan yang telah mendukung, dan menemani saya sampai dititik ini. Mita, Elza, Sofi, Aisyah, Aini, dan Ilham yang telah membantu berproses selama perkuliahan. Teman-teman selaboratorium organik terimakasih atas kebersamaannya, memberikan semangat dan dukungan. Terimakasih kepada teman-teman SMP dan SMA saya yang selalu mendukung serta memberi semangat untuk menyelesaikan penulisan naskah skripsi ini.

Semoga karya tulis ini dapat bermanfaat untuk orang lain dan barokah dunia akhirat Aamiin

MOTTO

"Sebelum terlahir di dunia ini, kita telah diberi gambaran kehidupan yang akan dijalani, dan kita memilih untuk tetap dilahirkan, berarti ada hal baik dan indah yang akan terjadi. Teruslah berusaha dan berdoa hingga hal tersebut datang"

"Never Surrender"

KATA PENGANTAR

Puji syukur penyusun panjatkan kehadirat Allah SWT Yang Maha Pengasih dan Yang Maha Penyayang, atas limpah rahmat, taufiq, dan hidayah-Nya penyusun dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul "Karakterisasi KG-SM (Kromatografi Gas-Spektrometri Massa), Uji Fitokimia dan Potensi Anti Larva Nyamuk (*Culex* Sp.) dari Ekstrak Sonikasi Kulit Buah Jeruk Purut (*Citrus Hystrix* D.C) dengan Variasi Pelarut" dengan baik.

Sholawat serta salam senantiasa tercurahkan kepada junjungan kita Nabi Muhammad SAW yang telah membimbing kita ke jalan yang diridhai Allah SWT. Skripsi merupakan salah satu tugas akhir studi yang harus ditempuh sebagai syarat menyelesaikan program S-1 (Strata-1) di Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Penyusun proposal skripsi ini tidak luput dari bantuan, bimbingan, nasehat dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penyusun mengucapkan terima kasih kepada:

- 1. Allah SWT atas limpahan rahmat taufiq serta hidayah-Nya sehingga penyusun dapat menyelesaikan proposal skripsi dengan baik.
- 2. Orang tua penyusun yang telah banyak memberikan perhatian, nasihat, doa, dan dukungan baik moril maupun materil yang tak mungkin terbalaskan, serta keluarga besar penyusun.
- 3. Bapak Prof. Dr. H. M. Zainuddin, M.A. selaku Rektor UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- 4. Ibu Dr. Sri Harini, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- 5. Ibu Rachmawati Ningsih, M.Si selaku Ketua Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- 6. Ibu Rachmawati Ningsih, M.Si selaku dosen pembimbing skripsi yang telah memberikan bimbingan, pengarahan dan nasehat kepada penyusun dalam menyelesaikan proposal skripsi dengan baik.

7. Ibu Susi Nurul Khalifah, M,Si selaku dosen agama yang telah memberikan bimbingan, pengarahan, dan nasehat kepada penyusun dalam menyelesaikan proposal skripsi.

8. Ibu Dr. Anik Maunatin, S.T., M.P. selaku dosen wali yang selalu memberikan pengarahan dan bimbingannya selama kuliah

9. Seluruh dosen Kimia UIN Malana Malik Ibrahim Malang yang telah mengalirkan ilmu, pengetahuan, pengalaman, wacana, dan wawasannya sebagai pedoman dan bekal bagi penyusun guna menyelesaikan proposal skripsi. Teriring do'a dan harapan semoga apa yang telah mereka berikan kepada penyusun mendapatkan balasan yang baik dari Allah SWT. Aamiin.

10. Semua pihak yang secara langsung maupun tidak langsung telah ikut memberikan kontribusi dan motivasi selama penyusunan skripsi.

Dengan menyadari atas terbatasnya ilmu yang penyusun miliki skripsi ini tentu jauh dari kesempurnaan, untuk itu penyusun dengan senang hati mengharapkan kritik dan saran untuk perbaikan dalam penyusunan selanjutnya. Terlepas dari segala kekurangan semoga skripsi ini dapat memberikan informasi dan kontribusi positif serta bermanfaat bagi kita semua. Aamiin.

Malang, 14 Desember 2023

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	
! Bookmark not defined.	Error
HALAMAN PENGESAHAN	Error
! Bookmark not defined.	21101
HALAMAN ORISINALITAS	
E	Error
! Bookmark not defined.	
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
MOTTO	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
ABSTRAK	xv
ABSTRACT	xvi
مستخلص البحث	xvii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan Penelitian	6
1.4 Batasan Masalah	6
1.5 Manfaat Penelitian	7
DAD II TINIAIIAN DIICTAKA	Q

	2.1 Manfaat Tumbuhan dalam Perspektif Islam
	2.2 Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix</i> D. C.)
	2.2.1 Morfologi dan Klasifikasi Jeruk Purut
	2.2.2 Kandungan Kimia Jeruk Purut
	2.3 Ekstraksi Metode Ultrasonik pada Kulit Jeruk Purut
	2.4 Uji Fitokimia pada Kulit Jeruk Purut
	2.4.1 Uji Alkaloid
	2.4.2 Uji Flavonoid
	2.4.3 Uji Saponin
	2.4.4 Uji Tanin
	2.4.5 Uji Terpenoid
	2.5 Identifikasi Komponen Ekstrak Kulit Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix</i> D.C.) Menggunakan GC-MS
	2.6 Biolarvasida
	2.7 Uji Aktivitas Ekstrak Kulit Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix</i> D. C.) sebagai Larvasida
	2.7.1 Nyamuk <i>Culex</i> sp.
В	AB III METODE PENELITIAN
	3.1 Waktu dan Tempat Pelaksanaan
	3.2 Alat dan Bahan
	3.2.1 Alat
	3.2.2 Bahan
	3.3 Rancangan Penelitian
	3.4 Tahapan Penelitian
	3.5 Cara Kerja
	3.5.1 Preparasi Sampel
	3.5.2 Ekstraksi Ultrasonik Kulit Jeruk Purut (Citrus hystrix D. C.)
	3.5.3 Uji Aktivitas Larvasida Kulit Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix</i> D. C.) terhadap Larva Nyamuk <i>Culex</i> sp.
	3.5.3.1 Pengujian Ekstrak Kulit Jeruk Purut terhadap Nyamuk
	3.5.3.2 Tingkat Kematian Larva Nyamuk (Mortalitas)
	3.5.4 Analisis Data
	3.5.5 Uji Fitokimia Senyawa Aktif Kulit Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix</i> D. C.)
	3.5.5.1 Uji Alkaloid
	3.5.5.2 Uii Flavonoid

DAFTAR TABEL

Tabel 4. 1 Kematian rata-rata larva pada ekstrak etanol	50
Tabel 4. 2 Kematian rata-rata larva pada ekstrak aseton	50
Tabel 4. 3 Kematian rata-rata larva pada ekstrak n-heksana	50
Tabel 4. 4 Mortalitas larva berdasarkan pelarut	51
Tabel 4. 5 Mortalitas larva berdasarkan konsentrasi	52
Tabel 4. 6 Hasil uji fitokimia ekstrak etanol kulit jeruk purut	54
Tabel 4. 7 Hasil uji fitokimia ekstrak aseton kulit jeruk purut	54
Tabel 4. 8 Hasil uji fitokimia ekstrak n-heksana kulit jeruk purut	54
Tabel 4. 9 Daftar Komponen Ekstrak Kulit Jeruk Purut (Citrus hystrix D.C.)	
Pelarut n-heksana	58

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Buah Jeruk Purut (Citrus hystrix D. C.)	10
Gambar 2. 2 Ekstraksi Maserasi	12
Gambar 2. 3 Ekstraksi Ultrasonik	13
Gambar 2. 4 Struktur Senyawa Alkaloid	17
Gambar 2. 5 Reaksi Uji Dragendorff	18
Gambar 2. 6 Reaksi Uji Meyer	18
Gambar 2. 7 Struktur Dasar Senyawa Flavonoid	19
Gambar 2. 8 Reaksi Pembentukan Garam Flavilium	20
Gambar 2. 9 Struktur Senyawa Saponin	21
Gambar 2. 10 Reaksi Uji Saponin	21
Gambar 2. 11 Struktur Senyawa Tanin	22
	23
Gambar 2. 13 Struktur Senyawa Terpenoid	24
Gambar 2. 14 Reaksi Reagen Liebermann-Burchad	24
Gambar 2. 15 Kromatogram Limonen Standar	27
Gambar 2. 16 Spektra Massa Standar Limonen	27
	28
Gambar 2. 18 Nyamuk <i>Culex</i> sp	31
Gambar 2. 19 Larva Nyamuk <i>Culex</i> sp	34
Gambar 3. 1 Wadah Uji	39
Gambar 3. 2 Kurva Analisis Probit	40
Gambar 4. 1 Sampel Citrus hystrix D.C (a) sampel Citrus hystrix D.C segar (b) serbuk kulit Citrus hystrix D.C	44
Gambar 4. 2 Ekstrak kulit jeruk purut Citrus hystrix D.C sebelum di rotary	77
evaporator (a) ekstrak kasar pelarut etanol (b) ekstrak kasar	
	45
1	43
Gambar 4. 3 Ekstrak kental kulit jeruk purut Citrus hystrix D.C (a) pelarut	
() 1	47
Gambar 4. 4 Media dan pengujian larvasida nyamuk Culex s.p (a) kontrol	
\mathcal{E}	49
Gambar 4. 5 Kromatogram ekstrak kulit jeruk purut (Citrus hystrix D.C.) pelarut n-heksana	57
<u> </u>	59
	60
ϵ	
1 1	60
ε	61
Gambar 4. 10 Spektra massa senyawa puncak 2,6,10,14,18,22-	
Tetracosahexaene, 2,6,10,15,19,23-hexamethyl- (CAS)	
1	62
Gambar 4. 11 Struktur 2,6,10,14,18,22-Tetracosahexaene, 2,6,10,15,19,23-	
hexamethyl- (CAS) Squalene	62

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan penelitian	75
Lampiran 2. Diagram alir	76
Lampiran 3. Perhitungan	
Lampiran 4. Data Hasil Uji Aktivitas Larvasida	
Lampiran 5. Dokumentasi	
Lampiran 6. Hasil GC-MS	

ABSTRAK

Ningki, V. H. 2023. Karakterisasi KG-SM (Kromatografi Gas-Spektrometri Massa), Uji Fitokimia dan Potensi Anti Larva Nyamuk (*Culex Sp.*) dari Ekstrak Sonikasi Kulit Buah Jeruk Purut (*Citrus Hystrix D.C*) dengan Variasi Pelarut. Pembimbing I: Rachmawati Ningsih, M.Si; Pembimbing Agama: Susi Nurul Khalifah, M,Si

Kata Kunci: Kulit jeruk purut, ekstraksi ultrasonic, fitokimia, larvasida, GC-MS

Jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C.) merupakan tanaman buah yang banyak ditanam oleh masyarakat Indonesia. Keseluruhan bagian buah seperti kulit buah ini diduga mengandung senyawa aktif dan minyak esensial yang ampuh sebagai larvasida alami. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder dan atsiri yang terkandung pada kulit buah jeruk purut serta aktivitas sebagai larvasida alami ekstrak kulit jeruk purut.

Kulit jeruk purut diekstraksi menggunakan metode ultrasonik dengan variasi pelarut berupa etanol, aseton dan n-heksana. Hasil ekstraksi dari ketiga pelarut kemudian diuji fitokimia masing-masing untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder pada kulit jeruk purut. Selanjutnya dilakukan uji aktivitas larvasida dengan variasi konsentrasi ekstrak 1%, 3%, 5%, 7% dan 9% menggunakan larva nyamuk *Culex* sp. Ekstrak kulit jeruk purut kemudian diidentifikasi menggunakan GC-MS untuk mengetahui kandungan yang mempengaruhi aktivitas larvasida.

Hasil ekstraksi *ultrasonic bath* diperpleh rendemen ekstrak etanol sebanyak 21,16% dan yang tertinggi yaitu rendemen dari ekstrak aseton sebesar 23,60%. Rendemen ekstrak n-heksana merupakan yang paling sedikit dibandingkan yang lainnya yaitu 2,42%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak kental kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C.) yang berfungsi sebagai larvasida terbaik adalah ekstrak yang menggunakan pelarut n-heksana konsentrasi 1-9% dengan nilai LC₅₀ tertinggi yaitu bernilai mutlak dan mortalitas 100%. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak n-heksana mengandung senyawa triterpenoid. Pada identifikasi menggunakan GC-MS diketahui bahwa ekstrak n-heksana mengandung senyawa monoterpen, seskuiterpen dan asam karboksilat. Puncak tertinggi yaitu δ-*Cadinene* yang tergolong dalam senyawa seskuiterpen.

ABSTRACT

Ningki, V. H. 2023. Characterization of GC-MS (Gas Chromatography-Mass Spectrometry), Phytochemical Test and Potential Larvicide to larvae (*Culex* sp.) of Ultrasonic Bath Extract of Kaffir Lime Fruit Peel (*Citrus hystrix* D.C) with Various Solvents. Supervisor I: Rachmawati Ningsih, M.Si; Supervisor of Religion: Susi Nurul Khalifah, M,Si

Keywords: Kaffir lime peel, ultrasonic extraction, phytochemicals, larvicides, GC-MS

Kaffir lime (*Citrus hystrix* D.C.) is a fruit plant that is widely planted by Indonesian people. All parts of the fruit, such as the rind, are thought to contain active compounds and essential oils that are effective as natural larvicides. The aim of this research is to determine the secondary and essential metabolite compounds contained in kaffir lime peel as well as the activity as a natural larvicide of kaffir lime peel extract.

Kaffir lime peel was extracted using ultrasonic method with a variety of solvents in the form of ethanol, acetone and n-hexane. The extraction results from the three solvents were then tested for their respective phytochemicals to determine the content of secondary metabolite compounds in kaffir lime peel. Next, a larvicidal activity test was carried out with varying extract concentrations of 1%, 3%, 5%, 7% and 9% using the larvae of *Culex* sp. The kaffir lime peel extract was then identified using GC-MS to determine the contents that affects larvicidal activity.

The results of ultrasonic bath extraction resulted in a yield of ethanol extract of 21.16% and the highest yield of acetone extract was 23.60%. The yield of n-hexane extract was the lowest compared to the others, namely 2.42%. The results of the research showed that the thick extract of kaffir lime peel (*Citrus hystrix* D.C.) which functions as the best larvicide is the extract that uses n-hexane solvent with a concentration of 1-9% with the highest LC50 value, namely absolute value and 100% mortality. Phytochemical test results show that n-hexane extract contains triterpenoid compounds. During identification using GC-MS, it was discovered that the n-hexane extract contained monoterpene, sesquiterpene and carboxylic acid compounds. The highest peak is δ -Cadinene which is classified as a sesquiterpene compound.

مستخلص البحث

نينكي، ف. ه. ٢٠٢٣. توصيف كروماتوغرافيا الغاز – مطياف الكتلة، اختبار الكيمياء النباتية وإمكانات مكافحة البرقات للبعوض (Culex Sp.) من مستخلص صوبي من قشر الجير (Citrus) مكافحة البرقات للبعوض (Hystrix DC) مع تباين المذيبات. المشرفة الأولى: راحمواتي نينغسيه الماجستيرة ؟ المشرفة الدينية: سوسي نور الخليفة الماجستيرة

الكلمات المفتاحية: قشر الجير الكفيري، استخراج بالموجات فوق الصوتية، المواد الكيميائية النباتية، مبيدات الكلمات الميرقات، كروماتوغرافيا الغاز - مطياف الكتلة

الجير الكفيري (Citrus hystrix DC) هو نبات فاكهة يزرع على نطاق واسع من قبل شعب إندونيسيا. يعتقد أن جميع أجزاء الفاكهة مثل جلد هذه الفاكهة تحتوي على مركبات نشطة وزيوت أساسية قوية مثل مبيدات اليرقات الطبيعية. كان الغرض من هذه الدراسة هو تحديد مركبات الأيض الثانوية والأساسية الموجودة في قشر فاكهة الليمون الكفيري ونشاطها كمبيد طبيعى لليرقات من مستخلص قشر الليمون الكفيري.

تم استخراج قشر الجير الكفيري باستخدام طريقة الموجات فوق الصوتية مع اختلافات المذيبات في شكل الإيثانول والأسيتون والهكسان -ن. ثم تم اختبار نتائج الاستخلاص من المذيبات الثلاثة لكيمياء العقاقير على التوالي لتحديد محتوى مركبات الأيض الثانوية في قشر الليمون الكفيري. علاوة على ذلك، تم إجراء اختبارات نشاط مبيدات اليرقات مع اختلافات في تركيزات المستخلص بنسبة 1% و 1% و 1% و 1% و 1% باستخدام يرقات البعوض 10 مطياف قشر الليمون الكفيري باستخدام كروماتوغرافيا الغاز 11 مطياف الكتلة لتحديد المكونات التي تؤثر على نشاط مبيدات اليرقات.

كان عائد استخراج الحمام بالموجات فوق الصوتية ٢١,١٦٪ وكان أعلى عائد لمستخلص الأسيتون كان عائد استخلص المرتب بنسبة ٢٢,٢٠٪. أظهرت النتائج أن المستخلص المرتب لليرقات هو مستخلص المستخلص اللزج لقشر الليمون الكفيري (Citrus hystrix DC) الذي يعمل كأفضل مبيد لليرقات هو مستخلص يستخدم تركيز مذيب والهكسان –ن بنسبة ١- ٩٪ مع أعلى قيمة LC_{50} للقيمة المطلقة ووفيات ١٠٠٪. أظهرت نتائج الاختبارات الكيميائية النباتية أن مستخلص والهكسان –ن يحتوي على مركبات ترايتيريينويد. في تحديد الهوية باستخدام كروماتوغرافيا الغاز – مطياف الكتلة ، من المعروف أن مستخلص والهكسان –ن يحتوي على التربينات الأحادية والسيسكيتربين.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C.) merupakan tanaman buah yang banyak ditanam oleh masyarakat Indonesia. Buah ini diduga mengandung senyawa aktif dengan aktivitas antioksidan yang tinggi. Bagian yang sering digunakan sebagai obat dan penyedap masakan hanyalah bagian daun dan buahnya. Sedangkan bagian dari kulit jeruk purut biasanya tidak dimanfaatkan sehingga hanya dibuang sebagai sampah. Masyarakat Indonesia tidak mengolah kulit jeruk purut karena kurangnya informasi mengenai kandungan di dalamnya, sehingga tidak dapat mengeksplor potensi manfaat dari kulit jeruk purut secara maksimal (Widyastuti, 2017). Menurut Poerwanto (2019) produksi jeruk purut Indonesia masih kalah dengan negeri tetangga, yaitu Thailand. Meskipun demikian, di dalam negeri sendiri terdapat daerah yang dikenal melakukan budidaya jeruk purut yaitu di Tulungagung, Jawa Timur.

Al Quran telah menjelaskan bahwasanya Allah menciptakan tumbuhan dengan segala manfaatnya. Salah satu ayat yang membahas mengenai keberagaman tumbuhan yang bermanfaat adalah dalam Q.S An-Nahl ayat 11. Berikut adalah potongan dari Surah An-Nahl Ayat 11 (Departemen Agama Republik Indonesia, 1982).

Artinya: "Dia menumbuhkan bagi kamu dengan air hujan itu tanam-tanaman; zaitun, korma, anggur dan segala macam buah-buahan. Sesungguhnya

pada yang demikian itu benar-benar ada tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang memikirkan."

Tanaman yang telah dihidupkan oleh Allah pasti akan membawa manfaat bagi umatnya jika umat itu mengetahuinya. Allah tidak pernah menciptakan sesuatu tanpa ada manfaatnya, baik makhluk hidup ataupun benda mati. Semua telah tertulis dengan baik dalam Al Quran. Allah sungguh menunjukkan kekuasaannya sampai dengan hal kecil sekalipun. Hanyalah umat Allah yang selalu merasa bersyukurlah yang dapat merasakan serta mengetahui nikmat yang telah diberikan dari semua ciptaan-Nya.

Jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C.) merupakan salah satu bukti bahwa Allah menciptakan semua dengan berbagai manfaat didalamnya. Beberapa kandungan senyawa kimia pada jeruk purut diantaranya terdapat senyawa golongan kumarin, senyawa minyak atsiri, saponin, flavonoid dan steroid. Sedangkan menurut Albrigo (1977) secara umum kulit jeruk memiliki dua bagian utama. Bagian pertama yaitu kulit bagian luar yang berbatasan langsung dengan epidermis disebut flavedo, mengandung kloroplas, karotenoid, dan kelenjar minyak yang merupakan tempat akumulasi minyak atsiri. Bagian kedua yaitu kulit bagian dalam berupa jaringan busa yang disebut albedo. Bagian ini mengandung banyak selulosa hemiselulosa, lignin, pektat, dan senyawa limonin yang lebih banyak dibandingkan yang terdapat pada flavedo.

Senyawa yang terkandung dalam kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C.) dapat digunakan sebagai larvasida alami. Senyawa yang berperan sebagai biolarvasida dalam kulit jeruk purut diantaranya senyawa minyak atsiri, flavonoid, dan terpen sebagai racun perut pada larva (Adrianto, 2014). Limonin dalam kulit jeruk bekerja dengan masuk ke dalam pencernaan larva kemudian diserap oleh dinding usus larva

sehingga beredar bersama darah yang mengakibatkan metabolisme tubuh larva terganggu hingga mengakibatkan larva kejang dan mati (Gunawan, 2004). Minyak esensial limonoid yang dapat menyebabkan hilangnya koordinasi organ larva sehingga dapat membunuh larva (Lestari, 2016). Selain itu, dapat menghambat larva untuk makan yang disebut sebagai antifeedant (Daswi, 2019). Senyawasenyawa lain seperti alkaloid, tanin, dan saponin juga berperan sebagai larvasida dan bersifat toksik (Pedro, 2014).

Penelitian sebelumnya telah dilakukan pada tahun 2019 tentang uji toksisitas ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C.) pada nyamuk (*Anopheles aconitus*). Penelitian tersebut menggunakan ekstrak yang diperoleh dengan proses ekstraksi maserasi pelarut etanol 96%. Hasil ekstrak yang diperoleh kemudian divariasi konsentrasinya menjadi 0,25%, 0,5% dan 1%. Kemudian ketiga konsentrasi tersebut diaplikasikan ke 10 larva nyamuk dengan proses pengamatan 30 menit, 1 jam, 6 jam, 12 jam dan 24 jam. Setelah 24 jam diperoleh hasil rata-rata kematian larva terbesar pada konsentrasi 1% yaitu 8 ekor (Daswi, 2019).

Penelitian lainnya dilakukan pada nyamuk *Aedes aegypti* dengan proses yang sama yaitu ekstraksi maserasi. Pembeda dari penelitian ini adalah hewan uji serta konsentrasi yang digunakan. Penelitian ini menggunakan variasi konsentrasi 1%, 3%, 5%, 7% dan 9%. Berdasarkan penelitian tersebut yang bekerja secara efektif terhadap larva yaitu pada konsentrasi 3% sampai 9% dengan 100% kematian (Hayati, 2017). Pada penelitian Daswi (2019) ekstrak dengan konsentrasi 1% menyebabkan kematian 80%, dimana hal tesrebut masih setara dengan penelitian Hayati (2017) yang pada konsentrasi 1% menyebabkan kematian sebesar 88%.

Disimpulkan jika perbedaan jenis larva tidak begitu berpengaruh terhadap kematian larva, namun besar konsenrasi yang mempengaruhi kematian larva.

Penelitian yang telah dilakukan memacu untuk dilakukannya penelitian lebih lanjut dengan menggunakan hewan uji nyamuk yang berbeda yaitu *Culex* sp. Jenis nyamuk tersebut digunakan karena berdasarkan kedua penelitian diatas menunjukkan hasil yang tidak berbeda siknifikan. Selain itu, jenis nyamuk *Culex* sp. merupakan jenis nyamuk yang mudah didapat. Nyamuk jenis ini biasa disebut dengan nyamuk kebun, karena kebiasaaannya meletakkan telur pada genangan air yang terdapat di sekitaran rumah seperti di perkebunan. Beberapa spesies *Culex* merupakan vektor dari penyakit Kaki Gajah atau *Filariasis*, penyakit ini memang tidak mematikan namun dapat menghambat aktivitas akibat pembengkakan yang terjadi. Selain itu nyamuk ini juga merupakan vektor dari penyakit *Japanese Enchepalitis* (JE) yang berbahaya jika terkena pada anak usia kurang dari 10 tahun karena penyakit ini menyerang otak (Wuri, 2019).

Kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C.) merupakan bagian yang sering dibuang dan tidak dimanfaatkan dengan baik. Bagian kulit jeruk purut juga diyakini mengandung senyawa minyak atsiri limonin, flavonoid dan saponin yang dipercaya dapat bekerja sebagai biolarvasida. Senyawa tersebut diperoleh dengan metode ekstraksi ultrasonik dengan variasi pelarut. Menurut penelitian Verdiana (2018) hasil ekstraksi ultrasonik pada kulit buah lemon sangat dipengaruhi jenis pelarut untuk jumlah rendemen yang dihasilkan. Verdiana (2018) menyebutkan bahwa kandungan vitamin C tertinggi diperoleh dari pelarut aseton 70% dengan hasil rendemen 301,86 mg AAE/g ekstrak. Sedangkan untuk kandungan flavonoid pelarut etanol 70% menghasilkan rendemen paling tinggi yaitu7,1 mg QE/g ekstrak.

Hasil rendemen tertinggi dari penelitian tersebut dilakukan pada pelarut etanol 70% dengan waktu ekstraksi 60 menit menghasilkan rendemen sebanyak 37,68%. Sedangkan pada penelitian yang dilakukan oleh Susilo (2016) pada kulit buah jeruk purut menggunakan pelarut etanol 96% dengan waktu ekstraksi 20 menit hanya menghasilkan rendemen sebanyak 11,73%

Ekstraksi dilakukan dengan metode ekstraksi ultrasonik karena metode ini memiliki keunggulan tidak memerlukan waktu yang lama serta biaya yang tidak mahal, sehingga dapat menghemat energi. Proses ekstraksi dapat maksimal karena dibantu gelombang ultrasonik yang merusak permeabilitas dinding sel (Verdiana, 2018). Penelitian dilakukan dengan variasi pelarut yaitu etanol, aseton dan hheksana dengan tujuan untuk mengetahui aktivitas dari setiap senyawa yang terkandung dalam ekstrak kulit jeruk purut (Citrus hystrix D. C.). Variasi pelarut berdasarkan tingkat kepolarannya, karena senyawa yang terdapat pada kulit jeruk akan terlarut dengan tingkat kepolaran yang relatif sama. Tingkat kepolaran pelarut dapat diketahui berdasarkan konstanta dielektrik dan momen dipol. Larutan yang bersifat polar memiliki momen dipol sama dengan atau lebih dari 0, sedangkan larutan non-polar memiliki momen dipol sama dengan 0 (Chandra, 2015). Hasil ekstraksi kemudian di identifikasi senyawa aktifnya menggunakan uji fitokimia serta instrumen GC-MS. Selain variasi pelarut juga dilakukan variasi konsentrasi ekstak untuk mengetahui efektifitas biolarvasida. Hewan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu larva dari nyamuk Culex sp.

1.2 Rumusan Masalah

- Bagaimana pengaruh pelarut ekstraksi terhadap hasil uji aktivitas larvasida LC₅₀ ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C.) terhadap larva nyamuk *Culex* sp.?
- 2. Bagaimana hasil analisis fitokimia dan uji GC-MS ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C.)?

1.3 Tujuan Penelitian

- Untuk mengetahui pengaruh pelarut ekstraksi terhadap hasil uji aktivitas larvasida LC₅₀ ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C.) menggunakan larva nyamuk *Culex* sp.
- 2. Untuk mengetahui hasil analisis fitokimia dan uji GC-MS kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C.).

1.4 Batasan Masalah

- 1. Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan metode ekstraksi ultrasonik.
- 2. Ekstraksi dilakukan dengan variasi pelarut berupa etanol, aseton dan n-heksan.
- 3. Identifikasi senyawa hasil ekstraksi dengan uji fitokimia alkaloid, flavonoid, saponin, tannin, dan terpenoid.
- 4. Uji aktivitas ekstrak kulit buah jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C.) yang didapat dari daerah kecamatan Talun, Blitar.
- 5. Larva uji menggunakan larva nyamuk *Culex* sp.
- 6. Menggunakan variasi konsentrasi ekstrak 0%, 1%, 3%, 5%, 7% dan 9%.

1.5 Manfaat Penelitian

- Dapat mengetahui aktivitas larvasida ekstraksi kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C.) terhadap nyamuk *Culex* sp.
- 2. Dapat mengetahui hasil analisis ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C.) menggunakan uji fitokimia dan instumen GC-MS.
- 3. Menambah wawasan ilmu pengetahuan dibidang kimia.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Manfaat Tumbuhan dalam Perspektif Islam

Tumbuhan adalah salah satu ciptaan Allah SWT yang tidak sesederhana penglihatan dan pemikiran kita. Tumbuhan melewati proses-proses yang sangat rumit untuk tetap hidup, tumbuh dan berkembang. Selain itu tumbuhan juga merupakan anugerah khusus yang diberikan Allah SWT kepada manusia. Dalam kitab suci Al Quran telah disebutkan berkali-kali mengenai banyak tumbuhan yang memiliki kegunaan sebagai obat dan makanan. Sebagaimana yang terdapat pada firman Allah SWT dalam QS Abasa ayat 27-32:

فَأَنبَتْنَا فِيهَا حَبًّا ٢٧ وَعِنَبًا وَقَصْبًا ٢٨ وَزَيْتُونًا وَنَخْلًا ٢٩ وَحَدَآئِقَ غُلْبًا ٣٠ وَقَكِهَةً وَأَبًّا ٣١ مَّتَعًا لَّكُمْ وَلِأَنْعُمِكُم ٣٢

Artinya: "lalu di sana Kami tumbuhkan biji-bijian, dan anggur dan sayur-sayuran, dan zaitun dan pohon kurma, dan kebun-kebun (yang) rindang, dan buah-buahan serta rerumputan. (Semua itu) untuk kesenanganmu dan untuk hewan-hewan ternakmu."

Ayat tersebut menjelaskan bahwasanya Allah SWT telah mempersiapkan semua kebutuhan makhluknya karena segala yang diciptakan-Nya memiliki manfaat. Semua bagian yang diciptakan Allah SWT memiliki fungsi dan manfaat yang sangat dibutuhkan baik manusia ataupun hewan. Pada ayat 30 terdapat kata غُلُتُ : Ghulb yang artinya lebat, lebat berupa pepohonan yang rindang, berdaun banyak serta ditumbuhi banyak cabang. Kata al-ghalb merupakan bentuk isim masdar dari fi'il ghalaba-yaghlibu-ghalban wa ghalbatan yang artinya mengalahkan atau mengatasi. Ayat tersebut memiliki sambungan dari ayat-ayat sebelumnya, yang

artinya: "maka Kami tumbuhkan di sana biji-bijian, anggur, sayur-sayuran, zaitun, kurma dan kebun-kebun yang rindang, banyak cabangnya dan lebat daunnya." Kalimat tersebut menunjukkan bahwasanya Allah SWT menumbuhkan tanaman yang lebat sehingga manusia dan hewan dapat memanfaatkannya dengan maksimal. Terdapat kata ghulban pada kalimat ini, adalah sebagai *maf'ul mutlaq* yang menunjukkan jenis tumbuh-tumbuhan yang lebat dan rindang. Tumbuhan yang sangat melimpah baik jumlah maupun jenisnya memiliki manfaat disetiap bagiannya, baik buah, daun ataupun rantingnya (Departemen Agama RI, 2011).

Hal tersebut sejalan dengan sabda Nabi Muhammad SAW:

Artinya: Sesungguhnya permisalan mukmin seperti pohon Kurma. Apapun kamu mengambil sesuatu darinya, niscaya bermanfaat bagimu. (Riwayat aţ-Ţabrāni dari Ibnu 'Umar).

Hadist tersebut memperkuat bahwa Allah SWT menciptakan segala sesuatu disertai dengan manfaatnya. Sebagai contohnya adalah pohon kurma yang dapat diambil khasiat dari buahnya dan dapat dimanfaatkan batang serta bagian yang lainnya. Seluruh bagian tanaman dapat dimanfaatkan asalkan manusia mau menggali lebih dalam tentang tanaman tersebut. Sama halnya dengan pohon jeruk purut, yang tidak hanya daunnya saja yang memiliki manfaat, kulit buahnyapun memiliki banyak manfaat seperti yang dijelaskan oleh Lestari (2016).

2.2 Jeruk Purut (Citrus hystrix D. C.)

2.2.1 Morfologi dan Klasifikasi Jeruk Purut

Pohon jeruk purut memiliki ukuran yang relatif rendah, meskipun demikian pohon jeruk purut yang tumbuh liar di alam dapat tumbuh hingga 12 meter. Batang

yang sudah tua akan berbentuk bulat dengan warna hijau tua yang disertai tekstur polos atau berbintik. Memiliki tata letak tajuk tanaman yang tidak beraturan dengan cabang rapat. Bersudut tajam pada dahan dan rantingnya dengan warna hijau tua, berbintik dan berduri diketiak daunnya. Memiliki duri yang pendek, panjangnya 0,2 cm sampai 1 cm sehingga kaku, berwarna hitam dengan ujung coklat. Daun jeruk purut tersebar, bertangkai dan bersayap panjang. Bentuk buah jeruk purut yaitu bulat namun terkadang tidak bulat sempurna, memiliki ukuran yang relatif kecil jika dibandingkan dengan buah jeruk lainnya. Kulit jeruk purut memiliki tekstur yang tidak rata, tidak seperti beberapa jenis jeruk lain, rasanya asam dan berbau sedap (Sarwono, 2001).



Gambar 2. 1 Buah Jeruk Purut (Citrus hystrix D. C.)

Menurut (Joko, 2010) taksonomi atau klasifikasi jeruk purut (Citrus hystrix

D. C.) sebagai berikut:

Kingdom : Plantae

Sub kingdom : Tracheobionta Super divisi : Spermathophyta Divisi : Magnoliophyta Kelas : Magnoliopsida

Sub kelas : Rosidae
Ordo : Sapimdales
Famili : Rutaceae
Genus : Citus

Spesies : Citrus hystrix DC

2.2.2 Kandungan Kimia Jeruk Purut

Jeruk purut yang didestilasi uap mengandung minyak atsiri sebanyak 57 jenis komponen kimia (Koswara, 2009). Minyak atsiri tersebut diantaranya adalah limonen, mirsen, linalool, oktanal, decanal, sitronelol, neral, geraniol, valensen, sinnsial dan sinensial (Menegristek, 2010). Bentuk ester dari sintronelal dapat digunakan sebagai insektisida (Ketaren, 2005). Selain minyak atsiri kulit jeruk purut juga mengandung senyawa saponin dan metabolit sekunder seperti flavonoid, kumarin dan steroid tritreponoid (Adrianto, 2014).

Ekstrak limonen yang berasal dari kulit jeruk mencapai sekitar 91,15% (Istiano, 2001). Senyawa limonen telah terbukti dalam beberapa penelitian memberikan efek insektisida terhadap beberapa jenis kutu dan larva. Limonoid yang merupakan minyak essensial dalam jeruk dapat menyebabkan hilangnya koordinasi organ larva. Berdasarkan uji lapangan yang dilakukan pada serangga, limonoid mampu menghambat serangga untuk makan (antifeedant). Sitronelol sebagai penenang dan pengusir nyamuk. Limonen atau limonoid merupakan salah satu senyawa minyak atsiri yang berpotensi sebagai larvasida (Hayana, 2020).

2.3 Ekstraksi Metode Ultrasonik pada Kulit Jeruk Purut

Ekstraksi merupakan suatu jenis metode untuk proses pemisahan zat aktif dari bentuk padatan maupun cairan dengan bantuan pelarut. Ekstraksi berjalan dengan prinsip komponen mengalami perpindahan massa dari suatu padatan ke cairan atau dari cairan ke cairan lainnya sebagai pelarut (Prayudo, 2015). Ekstraksi pada penelitian ini menggunakan metode ektraksi ultrasonik yang merupakan pengembangan metode baru dari ekstraksi padat-cair. Ekstraksi ini dilakukan

dengan bantuan gelombang utrasonik untuk mempengaruhi perubahan-perubahan yang terjadi pada proses. Metode ini juga dikenal sebagai sonokimia (Fuadi, 2012).

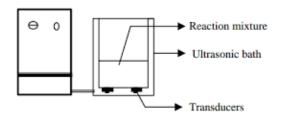
Metode ekstraksi sangat beragam, terdapat ekstraksi konvensional salah satunya adalah maserasi. Sedangkan metode ekstraksi lainnya yaitu ekstraksi modern, salah satunya adalah ekstraksi menggunakan gelombang ultrasonik yang biasa disebut *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE). Ekstraksi pada maserasi hanya mengandalkan polaritas pelarut yang digunakan untuk menarik senyawa aktif dalam sampel (Utami, 2020). Maserasi dilakukan dengan merendam sampel pada pelarut, sehingga terjadi kontak, yang kemudian disimpan di wadah tertutup selama waktu yang telah ditentukan. Selama proses maserasi dilakukan pengadukan sesekali agar sampel larut. Proses maserasi ditunjukkan pada Gambar 2.2. (Julianto, 2019).



Gambar 2. 2 Ekstraksi Maserasi

Dibandingkan dari segi hasil, ekstraksi modern menggunakan bantuan gelombang ultrasonik diperoleh hasil yang lebih baik daripada ekstraksi konvensional (Utami, 2020). Selain dari hasil yang diperoleh, ekstraksi ultrasonik juga dilakukan dengan waktu yang lebih cepat karena gelombang ultrasonik menyebabkan terjadinya kavitasi akustik, sehingga mengakibatkan gangguan pada dinding sel (Adhiksana, 2017). Hal tersebut digunakan untuk meningkatkan

presentasi pelarut ke dalam matriks, sehingga waktu yang dibutuhkan untuk mengekstraksi senyawa aktif lebih singkat. Proses ekstraksi ultrasonik ditunjukkan pada Gambar 2.3. (Julianto, 2019).



Gambar 2. 3 Ekstraksi Ultrasonik

Ekstraksi menggunakan ultrasonik pada tanaman dapat mempercepat proses ekstraksi senyawa organik. Proses yang terjadi ketika ekstaksi ultrasonik yaitu getaran atau gelombang ultrasonik memecah dinding sel pada sampel yang mengakibatkan keluarnya senyawa yang terkandung dalam sampel dengan mudah (Mason, 1990). Meskipun dengan waktu yang lebih singkat, rendemen yang dihasilkan dari ekstraksi ultrasonik tetap banyak, sebanding atau bahkan lebih banyak jika dibandingkan dengan ekstraksi soxhlet. Hal tersebut dikarenakan pada ekstraksi soxhlet laju perpindahan yang terjadi lebih rendah. Penggunaan pelarut pada ekstraksi ultrasonik akan lebih sedikit sehingga tidak menghasilkan limbah yang banyak (Gracia, 2004).

Proses ekstraksi dipengaruhi oleh banyak faktor yaitu waktu dan temperatur ekstraksi, perbandingan sampel dengan pelarut, serta jenis pelarut yang digunakan ekstraksi. Pelarut yang digunakan berdasarkan tingkat kepolaran yang dilihat dari momen dipol serta konstanta dielektrik. Berdasarkan konstanta dielektrik diketahui bahwa larutan dengan nilai konstanta dielektrik besar merupakan pelarut yang bersifat polar, sedangkan nilai konstanta dielektrik kecil merupakan pelarut yang bersifat non-polar (Chandra, 2015). Faktor tersebut akan mempengaruhi besar

rendemen dan kandungan yang dihasilkan (Savova, 2007). Perlakuan yang telah dilakukan oleh Verdiana (2018) pada kulit buah lemon menunjukkan hasil yang cukup baik yaitu dengan perbandingan sampel dan pelarut 1:10 menggunakan ultrasonik dengan frekuensi 47 KHz selama 60 menit. Berdasarkan hasil tersebut, penelitian yang akan dilakukan menggunakan variasi pelarut untuk mengetahui kandungan yang terdapat pada setiap sampel ekstraksi. Pelarut tersebut yaitu etanol 70%, aseton 70% dan n-heksana.

Berdasarkan data nilai konstanta dielektrik pelarut organik milik Adnan (1997) etanol memiliki nilai 24,30 yang tergolong dalam larutan polar. Sedangkan aseton memiliki nilai konstanta dielekrik sebesar 20,70 yang tergolong larutan semi-polar. N-heksana memiliki nilai konstanta dielekrtik sebesar 1,890 yang merupakan pelarut dengan nilai yang rendah, sehingga tergolong larutan non-polar. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dengan membandingkan jenis pelarut, diperoleh hasil rendemen paling rendah sebesar 34,32% menggunakan pelarut air yang merupakan pelarut paling polar. Total flavonoid yang dihasilkanpun juga paling rendah jika dibandingkan dengan pelarut yang lain. (Verdiana, 2018). Air yang bersifat polar mengakibatkan komponen dalam sampel yang bersifat polar ikut terekstrak, contohnya yaitu karbohidrat sehingga total flavonoid dalam sampel menjadi rendah. Hal tersebut disebabkan karena kelarutan zat terhadap air, kekuatan untuk menandingi gaya tarik-menarik listrik antara molekul-molekul air. Sehingga zat tidak akan terlarut pada air ketika zat tersebut tidak mampu menandingi gaya tarik-menarik antar molekul air (Septiana, 2012).

Digunakan perbedaan kepolaran pelarut, sesuai dengan hasil dari penelitian Verdiana (2018) yang menyatakan kandungan flavonoid pelarut etanol 70% menghasilkan rendemen paling tinggi yaitu7,1 mg QE/g ekstrak. Sedangkan untuk kandungan vitamin C tertinggi diperoleh dari pelarut aseton 70% dengan hasil rendemen 301,86 mg AAE/g ekstrak. Hasil rendemen tertinggi dari penelitian tersebut dilakukan pada pelarut etanol 70% dengan menghasilkan rendemen sebanyak 37,68%. Penelitian tersebut dilakukan dengan waktu ekstraksi 60 menit. Dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan oleh Susilo (2016) yang menggunakan kulit buah jeruk purut dengan waktu ekstraksi 20 menit menggunakan pelarut etanol 96% hanya menghasilkan rendemen sebanyak 11,73%. Hal tersebut membuktikan bahwa waktu dan jenis pelarut sangat mempengaruhi hasil ekstraksi meskipun dengan perbandingan sampel dan pelarut yang sama.

Penentuan lama waktu ekstraksi berpengaruh terhadap hasil ekstraksi, seperti pada penelitian yang dilakukan Rafsanjani (2015) pada kulit jeruk bali. Dilakukan ekstraksi menggunakan variasi waktu 10, 20 dan 30 menit. Hasil terbaik adalah dengan ekstraksi selama 30 menit yang menghasilkan rendemen 7,42% dengan aktivitas antioksidan 91,61%. Sedangkan pada penelitian Riskullah (2016) ekstraksi kulit jeruk manis dengan hasil rendemen tertinggi 0,238% dilakukan dengan lama ekstraksi 40 menit. Sedangkan penelitian yang dilakukan oleh Damanik (2019) diperoleh hasil rendemen 20,12%, kadar air 8,0% dan kadar metoksil 7,44% dengan waktu 60 menit. Penelitian Prahasiwi (2022) dengan lama waktu yang sama diperoleh kadar metoksil 4,60-5,60%. Berdasarkan penelitian lain, ekstraksi kulit jeruk purut dilakukan dengan variasi waktu 30 sampai 90 menit (30, 45, 60, 75 dan 90 menit) diperoleh hasil konsentrasi kandungan total fenolik tertinggi pada waktu 45 menit sebesar 0,541037 g GAE/g ekstrak, sedangkan hasil

terendah pada waktu 90 menit yang dimungkinkan ekstrak mulai rusak pada waktu tersebut (Liew, 2018). Namun berdasarkan penelitian Haryanto (2018) diperoleh hasil optimum TPC 8,623 mg GAE/g dengan waktu ekstraksi 98 menit 13 detik. Hal tersebut dimungkinkan terjadi karena perbedaan rasio pelarut serta suhu yang digunakan. Sehingga penelitian yang akan dilakukan menggunakan waktu 60 menit agar ekstraksi lebih optimal namun ekstrak tidak sampai rusak, karena menurut Susilo (2016) jika semakin lama waktu ekstraksi maka kadar limonen yang terkandung dalam ekstrak akan semakin berkurang.

2.4 Uji Fitokimia pada Kulit Jeruk Purut

Senyawa aktif (metabolit sekunder) yang terdapat pada kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C.) dapat diidentifikasi secara kualitatif dengan uji fitokimia tabung. Pengujian dilakukan dengan mengambil sedikit sampel ekstrak diletakkan pada tabung reaksi. Selanjutnya ditambahkan reagen sesuai dengan senyawa yang akan diidentifikasi. Faktor penentu dari uji fitokimia ini adalah perubahan warna yang terjadi serta munculnya busa pada tabung (Rumagit, 2015). Pengujian fitokimia pada penelitian ini meliputi uji alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan terpenoid.

2.4.1 Uji Alkaloid

Alkaloid adalah kelompok metabolit sekunder terpenting yang ditemukan pada tumbuhan. Golongan senyawa ini berupa campuran dari beberapa alkaloid utama dan beberapa alkaloid kecil. Kebanyakan alkaloid memiliki rasa pahit, bersifat basa lemah, dan sedikit larut dalam air dan dapat larut dalam pelarut organik nonpolar seperti dietil eter dan kloroform. Alkaloid akan terdekomposisi oleh panas

kecuali *strychnine* dan *caffeine*. Secara wujud kebanyakan alkaloid berbentuk padatan kristal dan sedikit diantaranya merupakan padatan amorf (Julianto, 2019). Struktur dasar dari senyawa alkaloid ditunjukkan pada Gambar 2.4 berikut:

Gambar 2. 4 Struktur Senyawa Alkaloid (Julianto, 2019)

Senyawa alkaloid dapat diidentifikasi dengan reagen Dragendroff dan reagen Mayer. Hasil positif ketika reagen Dragendroff jika terbentuk endapan putih hingga jingga. Sedangkan untuk reagen Mayer, hasil positif ditandai dengan dihasilkannya endapan berwarna putih kekuningan hingga jingga (Suryanita, 2019). Endapan tersebut disebabkan karena adanya senyawa kompleks yang terbentuk dari reaksi senyawa alkaloid dengan ion logam yang berasal dari reagen (Rahmah, 2014).

Reagen Dragendroff dapat menghasilkan endapan putih hingga jingga ketika direaksikan karena terbentuknya kompleks kalium-alkaloid. Reaksi terjadi karena ion logam K⁺ dari kalium tetraiodomerkurat (II) yang membentuk ikatan kovalen koordinat dengan nitrogen pada alkaloid sehingga terbentuk endapan kompleks kalium-alkaloid (Marliana, 2005). Sedangkan reaksi yang terjadi pada penambahan reagen Mayer yaitu ion tetraiodomerkurat (II) yang bereaksi dengan senyawa alkaloid sehingga terbentuk senyawa kompleks yang mengendap. Pengendapan terjadi karena ion merkuri merupakan ion logam berat yang mengendapkan senyawa yang bersifat basa seperti alkaloid (Svehla, 1990).

Gambar 2. 5 Reaksi Uji Dragendorff (Bintari dan Elyani, 2017)

Gambar 2. 6 Reaksi Uji Meyer (Bintari dan Elyani, 2017)

2.4.2 Uji Flavonoid

Flavonoid merupakan kelompok senyawa fenolik terbesar di alam. Banyaknya senyawa flavonoid ini karena banyaknya jenis tingkat hidroksilasi, alkoksilasi dan glikosilasi pada strukturnya. Flavonoid mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri dari 15 atom karbon yang membentuk susunan C₆-C₃-C₆. (Julianto, 2019). Struktur dasar dari senyawa flavonoid ditunjukkan pada Gambar 2.7 berikut:

Gambar 2. 7 Struktur Dasar Senyawa Flavonoid (Julianto, 2019)

Senyawa flavonoid dapat diidentifikasi dengan mereaksikan sampel dengan serbuk magnesium dan kemudian ditetesi HCL pekat. Hasil positif flavonoid akan ditunjukkan dengan terjadinya perubahan warna menjadi merah atau jingga (Suryanita, 2019) akibat terbentuknya senyawa kompleks berupa garam flavilium. Garam tersebut terbentuk akibat reduksi dengan serbuk magnesium dan larutan HCl pekat (Mariana, 2013). Warna yang dihasilkan tergantung dari struktur flavonoid yang terdapat pada sampel, selain itu pelarut yang digunakan juga merupakan pengaruh perbedaan warna tersebut (Sangi, 2008).

Reaksi yang terjadi pada uji ini adalah larutan asam berupa HCl pekat berfungsi menghidrolisis flavonoid menjadi aglikonnya. HCl yang bersifat elektrofilik akan menghidrolisis O-glikosil dan digantikan oleh H⁺ (Robinson, 1985). Penambahan Mg dalam uji ini berfungsi untuk mereduksi inti benzopiron yang terdapat pada senyawa flavonoid (Setyowati, 2014). Reduksi dengan Mg serta HCl pekat menghasilkan perubahan warna merah atau jingga. Hal tersebut disebabkan adanya senyawa komplek (garam flavilium) yang terbentuk, ditunjukkan pada Gambar 2.8 berikut (Achmad, 1986).

Gambar 2. 8 Reaksi Pembentukan Garam Flavilium

2.4.3 Uji Saponin

Saponin merupakan senyawan yang memberikan efek pembentukan gelembung yang permanen pada saat dikocok bersama air. Saponin umumnya terdapat dalam bentuk glikosida sehingga umumnya bersifat polar Senyawaan ini juga menyebabkan terjadinya *hemolysis* pada sel darah merah. Sesungguhnya saponin tidak disarankan dalam penggunaan istilah kimia organik, hal tersebut dikarenakan banyak konstituen tumbuhan dapat menghasilkan busa, dan banyak triterpene-glikosida yang bersifat amphipolar dalam kondisi tertentu, dan bertindak sebagai surfaktan (Julianto, 2019).

Senyawa saponin dapat diidentifikasi dengan menambahkan 2-3 tetes HCl 2N dan dikocok kuat. Hasil positif mengandung saponin akan ditunjukkan dengan terbentuknya busa yang stabil setelah pengocokan (Suryanita, 2019). Struktur dasar dari senyawa saponin ditunjukkan pada Gambar 2.9 berikut:

Gambar 2. 9 Struktur Senyawa Saponin (Julianto, 2019)

Saponin bersifat mudah larut dalam air yang memunculkan busa ketika dikocok. Terbentuknya busa disebabkan adanya reaksi kombinasi dari penyusun struktur senyawa yang berupa rantai sapogenin dan rantai samping polar yang larut dalam air (Pertiwi, 2014). Busa muncul karena saponin merupakan senyawa yang sebagian hidrofilik (larut dalam air) dan sebagian hidrofobik (larut dalam pelarut nonpolar) surfaktan yang menurunkan tegangan permukaan (Widyasari, 2008). Tegangan permukaan yang rendah mengakibatkan gaya tarik menarik antar muka semakin besar yang mengakibatkan meningkatnya kestabilan busa (Ariani, 2013). Busa yang terbentuk merupakan perwujudan misel dimana struktur misel gugus polar menghadap keluar dan gugus nonpolar menghadap kedalam (Robinson, 19805). Perlakuan penambahan HCl bertujuan untuk kemudahan mengamati ketahanan busa pada sampel (Marjoni, 2016).

Gambar 2. 10 Reaksi Uji Saponin (Nugrahani, 2016)

2.4.4 Uji Tanin

Tanin merupakan suatu senyawa fenolik yang memberi sensasi rasa pahit dan sepat. Senyawa ini dapat bereaksi dan menggumpalkan protein atau senyawa organik lainnya yang mengandung asam amino dan alkaloid. Senyawa tanin banyak ditemukan diberbagai jenis tumbuhan. Senyawa ini berperan penting untuk melindungi tumbuhan dari pemangsa herbivora dan hama, serta sebagai agen pengatur dalam metabolisme tumbuhan. Berat molekul tanin berkisar antara 500 sampai 3000 (ester asam galat) (Julianto, 2019).

Senyawa tannin dapat diidentifikasi dengan menambahkan FeCl₃ 1% sebanyak 2-3 tetes. Hasil positif ditunjukkan dengan perubahan warna menjadi hijau kehitaman atau biru kehitaman. Hal tersebut dapat terjadi karena terbentuknya senyawa kompleks (Suryanita, 2019). Struktur dasar dari senyawa tanin ditunjukkan pada Gambar 2.11 berikut:

Gambar 2. 11 Struktur Senyawa Tanin (Julianto, 2019)

Tanin merupakan senyawa yang memiliki gugus OH sehingga bersifat polar yang akan berubah warna menjadi hujau kehitaman atau biru kehitaman setelah ditambahkan FeCl₃ (Jones, 2006). Perubahan warna tersebut disebabkan reaksi FeCl₃ dengan salah satu gugus hidroksil pada tanin sehingga terbentuk senyawa

kompleks (Halimah, 2010). Warna hijau kehitaman muncul karena tanin terkondensasi, tanin tersebut merupakan tanin katekol. Sedangkan warna biru kehitaman yang muncul disebabkan tanin terhidrolisis dimana tanin tersebut merupakan tanin pirogalol (Sangi, 2008). Reaksi pembentukan kompleks ditunjukkan dalam Gambar 2.12 (Muthmainnah, 2017).

Gambar 2. 12 Reaksi Pembentukan Senyawa Kompleks

2.4.5 Uji Terpenoid

Senyawa terpena adalah kelompok senyawa organik hidrokarbon yang keberadaanya sangat melimpah. Senyawa ini dihasilkan oleh berbagai jenis tumbuhan. Selain dari tumbuhan terpenoid juga dihasilkan oleh serangga. Terpenoid umumnya memberikan bau yang kuat sehingga tumbuhan dapat terlindung dari predator atau herbivora. Ciri atau karakteristik terpenoid selain memiliki bau yang kuat yaitu sebagian besar terpenoid tidak memiliki warna berwujud cairan, berat jenisnya lebih ringan dibandingkan dengan air, serta mudah menguap dengan adanya uap air panas (Julianto, 2019).

Terpenoid dapat diidentifikasi dengan mereaksikan kloroform dan asetat anhidrat. Selanjutnya didinginkan dan ditambahkan H₂SO₄. Hasil positif akan ditunjukkan dengan terbentuknya cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut yang menandakan adanya triterpenoid, sedangkan jika berubah menjadi

warna hijau kebiruan menandakan adanya steroid. (Suryanita, 2019). Struktur dasar dari senyawa terpenoid ditunjukkan pada Gambar 2.13 berikut:

Gambar 2. 13 Struktur Senyawa Terpenoid (Julianto, 2019)

Perubahan warna yang terjadi setelah perlakuan disebabkan oksidasi pada golongan senyawa triterpenoid dengan pembentukan ikatan rangkap terkonjugasi. Prinsip yang digunakan pada uji triterpenoid adalah pelepasan H₂O atau kondensasi serta penggabungan karbokation (Siadi, 2012). Uji triterpenoid dengan pereaksi Libermann-Burchard menggunakan asam asetat anhidrat bertujuan untuk membentuk turunan asetil. Sedangkan pemberian H₂SO₄ berfungsi untuk menghidrolisis air yang bereaksi dengan turunan asetil sehingga membentuk larutan warna (Sulistyarini, 2020).

$$Ac_2O[H^+]$$

$$-HOAc$$

$$-[H^+]$$

$$-[H^+]$$

$$-[H^+]$$

$$-[H^+]$$

Gambar 2. 14 Reaksi Reagen Liebermann-Burchad (Nugrahani, 2016)

2.5 Identifikasi Komponen Ekstrak Kulit Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D.C.) Menggunakan GC-MS

GC-MS adalah metode yang dilakukan menggunakan proses pemisahan sampel menjadi solut-solut yang mudah menguap. Pemisahan tersebut menggunakan kromatografi gas (*Gas Chromatography*), dan selanjutnya analisis menggunakan MS (Gandjar, 2012). Senyawa dalam kromatografi gas digunakan sebagai gas pembawa yang bertekanan sekitar 760 torr. Kromatografi gas menggunakan kolom kapiler yang ditentukan dari panjang, diameter, ketebalan film (dimensi kolom), selain itu juga dari sifat fase. Suatu campuran yang dipisahkan memiliki sifat kimia yang berbeda-beda antar molekul-molekulnya. Sehingga ketika sampel melewati sepanjang kolom, akan diperlukan jumlah waktu yang berbeda atau disebut waktu retensi dari setiap molekul untuk keluar dari kromatografi gas. Selanjutnya akan diproses oleh MS yang berkondisi vakum pada tekanan 10⁻⁶-10⁻⁵ torr (Darmapatni, 2016).

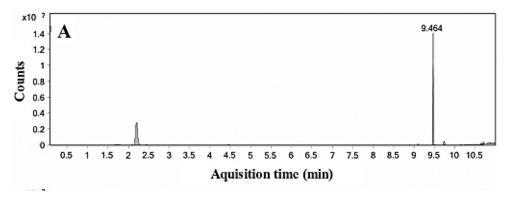
MS merupakan kepanjangan dari *Mass Spectrometer* yang berfungsi untuk mendeteksi massa berdasarkan nilai m/z dari senyawa. Prinsip kerja dari instrumen ini yaitu sampel yang diuapkan secara vakum kemudian dialirkan ke ruang pengion. Sampel yang telah masuk ke ruang pengion kemudian ditembak dengan arus partikel yang berenergi tinggi sehingga menghasilkan ion yang radikal. Ion tersebut merupakan ion induk yang dapat memecah menjadi ion positif, negative dan netral. Partikel yang bermuatan positif akan ke tabung analisator karena yang dapat terdeteksi oleh spectrometer hanyalah ion positif. Sedangkan ion negatif tertarik ke anoda kemudian dinetralkan. Partikel positif dibelokkan karena adanya medan magnet. Ion positif tersebutlah yang nantinya dipresentasikan sebagai puncak m/z

sesuai dengan kelimpahan relatif ion. Puncak dengan spectrum tertinggi dianggap memiliki intensitas 100% yang disebut dengan *base peak* (Sparkman, 2011). Massa fragmen adalah petunjuk berat molekul dan struktur dari senyawa yang terkandung pada sampel. Fragmen bergantung pada kerangka karbon dan gugus fungsional (Fessenden, 1982).

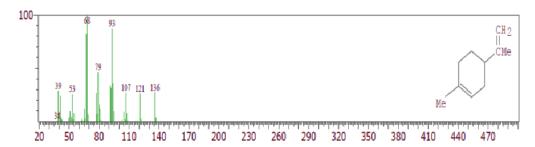
GC-MS memiliki keunggulan berupa tingkat efisiensi serta resolusi yang tinggi sehingga dapat menganalisis partikel dengan ukuran yang sangat kecil. Memiliki aliran gas yang sangat terkontrol serta kecepatan yang konsisten. Waktu analisis hanya membutuhkan beberapa menit, serta tidak merusak sampel. Alat ini juga memiliki sensitivitas yang tinggi sehingga dapat digunakan untuk memisahkan banyak senyawa yang tercampur. Analisis dapat dilakukan dengan senyawa yang berkadar rendah atau berkonsentrasi sedikit. Alat ini memiliki kekurangan yaitu tidak dapat memisahkan campuran dengan jumlah yang besar. Zat yang diuji hanya zat yang mudah menguap. Fase gerak tidak bersifat reaktif terhadap zat terlarut serta fase diam (Hermanto, 2008).

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan Wibaldus, dkk (2016) hasil analisis Kromatografi Gas Spektroskopi Massa terhadap minyak atsiri kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terdapat 45 senyawa penyusun minyak atsiri jeruk nipis, dari 45 senyawa tersebut terdapat 5 komponen mayor yaitu limonen (26,04%), β-citral (10,40%), β-pinen (18,84%), Citral (13,09%), dan β- phellandren (6,29%). Limonen merupakan senyawa dengan berat molekul 136 yang pada larutan limonen standar (15 mg L⁻¹) memiliki waktu retensi 9,464 menit yang ditunjukkan pada Gambar 2.15 (Camargo, 2020). Spektra massa standar dari limonene ditunjukkan pada Gambar 2.16. Berdasarkan spektra tersebut dapat

diketahui ion molekul puncak tertinggi dengan m/z 63. Puncak tersebut merupakan puncak khas dari limonen karena terjadinya pemecahan sejenis reaksi homolitik *retro Diels-Alder* (Siburian, 2008). Hasil tersebut kemudian digambarkan dengan pola fragmentasi pada senyawa limonen sehingga membentuk ion molekul dengan m/z 136 yang ditunjukkan pada Gambar 2.17 (Irawan, 2010).



Gambar 2. 15 Kromatogram Limonen Standar



Gambar 2. 16 Spektra Massa Standar Limonen (Wibaldus, 2016)

Gambar 2. 17 Fragmentasi Ion Molekul Limonen

Limonen merupakan salah satu senyawa yang terkandung dalam kulit jeruk. Limonen terdapat dalam minyak atsiri kulit jeruk yang dapat dimanfaatkan di berbagai bidang industri (Ismanto, 2010). Limonen dengan rumus molekul C₁₀H₆ memiliki titik didih mencapai 178°C pada 101,3 kPa dengan wujud cair. Limonen yang berwujud cairan pada suhu ruang berwarna bening hingga kuning muda (Ullmann,1988). Limonen merupakan senyawa yang berasal dari golongan monoterpene (Rosyidah, 2011). Senyawa tersebut terbentuk dari dua unit senyawa isoterpen. Limonen yang terdapat di alam ada 2 yaitu *l-limonene* dengan aroma seperti terpentine dan *d-limonene* yang memiliki aroma jeruk (Ismanto, 2010).

2.6 Biolarvasida

Biolarvasida adalah suatu larvasida yang bahan-bahannya didapat dari tumbuhan yang mengandung bahan kimia (bioaktif) yang toksik terhadap larva namun mudah terurai (terdegradasi) di alam sehingga tidak mencemari lingkungan dan relatif aman bagi manusia. Biolarvasida atau yang dapat disebut dengan insektisida alami dinilai lebih aman digunakan dan tidak merugikan, karena penggunaan insektisida sintetis terlebih untuk larvasida akan menimbulkan beberapa dampak buruk. Dampak buruk tersebut diantaranya yaitu pencemaran lingkungan, terdapat residu insektisida, serta resistensi terhadap serangga. Kelebihan lain dari biolarvasida yaitu akan lebih mudah terurai karena terbuat dari bahan alami, sehingga residunya mudah hilang. Biolarvasida memiliki sifat ketika diaplikasikan akan membunuh larva atau hama pada waktu yang sama, dan ketika larva atau hama sudah mati akan cepat terurai, biasa disebut dengan *hit and run* (Kardinan, 2000).

2.7 Uji Aktivitas Ekstrak Kulit Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D. C.) sebagai Larvasida

Aktivitas biologi yang terjadi dalam metabolit sekunder tumbuhan, terdiri dari 4 jenis, yang pertama yaitu aktivitas antifeedant, kemudian aktivitas penolakan peneluran, dilanjutkan dengan aktivitas pengatur pertumbuhan serangga, dan yang terakhir yaitu aktivitas kematian/mortalitas. Antifeedant adalah zat atau senyawa kimia yang ketika dirasakan oleh serangga dapat menghasilkan penghentian aktivitas makan yang bersifat sementara atau permanen tergantung pada potensi atau kekuatan senyawa tersebut dalam memberikan aktivitasnya. Antifeedant mencakup penolakan makan atau dikatakan tidak ada aktivitas makan samasekali dan penghambatan makan berupa aktivitas makan namun terhambat (Prijono, 2008).

Indikator yang menunjukkan tingkat toksisitas minyak atsiri jeruk purut adalah kematian larva. Aktivitas larva nyamuk menurun seiring dengan meningkatnya daya racun (toksisitas) dari ekstrak jeruk, dimana ekstrak jeruk bersifat menghambat aktivitas makan pada nyamuk (antifeedant). Larva nyamuk memiliki kecenderungan untuk menolak makanan seiring dengan meningkatnya konsentrasi minyak atsiri yang diberikan. Hal ini terjadi karena adanya aroma khas dari minyak atsiri yang mengandung senyawa bioaktif yang bersifat racun pada larva. Senyawa-senyawa toksik tersebut menghasilkan efek resultan sebagai larvasida nyamuk. Minyak atsiri diduga sebagai bahan aktif yang paling dominan bekerja sebagai larvasida karena terdiri dari beberapa kandungan aktif yang bersifat terapeutik dan toksisitas (Noverita, 2014).

Keefektifitasan uji larvasida dapat diketahui dengan menghitung nilai LC₅₀ dengan Program Analisis Probit yang memiliki derajat kepercayaan 95% (Rahmayanti, 2016). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan Hayati (2008) efektifitas larvasida dari air perasan jeruk purut menghasilkan nilai LC₉₀ pada konsentrasi 12,5%. Sedangkan pada penelitian lain yang mengekstrak daun jeruk purut menggunakan etanol diperoleh nilai LC₉₀ pada 6961,822 ppm yang bila dipersenkan menjadi 0,69% serta LC₅₀ pada 4015,880 ppm atau 0,40% (Maryanti, 2011). Selain itu, berdasarkan penelitian Wati (2010) dengan menggunakan air perasan jeruk manis diperoleh nilai LC₅₀ sebesar 0,946%. Sedangkan pada penelitian Nurhaifah (2015) dengan air perasan jeruk manis dihasilkan nilai LC₅₀ adalah 0.731%. Berdasarkan hasil penelitian tersebut diperoleh hasil yang ditentukan dari nilai LC₅₀, dimana semakin rendah nilai LC₅₀ dan LC₉₀ suatu zat

berarti semakin tinggi kemampuan zat untuk membunuh hewan uji (Salsabila, 2021).

Pengujian larvasida dilakukan dengan memindahkan kurang lebih 10 ekor larva dari wadah penampung ke gelas. Sebelumnya gelas telah diisi ekstrak sesuai variasi yang dilakukan serta ke gelas kontrol positif dan kontrol negatif. Selanjutnya diamati aktivitas setelah 24 jam, yang dihitung setelah memasukkan larva ke dalam gelas (Atta, 2001). Diamati dan dihitung larva yang bereaksi terhadap ekstrak. Berdasarkan hasil tersebut dapat diketahui konsentrasi ekstrak yang paling efektif sebagai larvasida (Rumengan, 2010).

2.7.1 Nyamuk Culex sp.

Nyamuk *Culex* sp. merupakan serangga yang cukup tua didunia, namun kepolurenannya terkalahkan oleh nyamuk *Aedes*. Terdapat sekitar 82 spesies nyamuk *Culex* di Indonesia. *Culex* merupakan jenis nyamuk yang tersebar di hampir seluruh belahan dunia. Nyamuk ini dapat dibedakan dengan mudah jika dibandingkan dengan nyamuk jenis yang lain. *Culex* memiliki warna coklat atau coklat kehitaman. Memiliki ukuran tubuh yang tidak terlalu besar. Nyamuk jenis ini memiliki habitat di sekitar rumah dan kebut-kebun, sehingga nyamuk ini biasa disebut dengan nyamuk kebun (Prasetyowati, 2007). Nyamuk *Culex* sp. ditunjukkan pada Gambar 2.18.



Gambar 2. 18 Nyamuk *Culex* sp.

Menurut Damayanti (2018) klasifikasi dari nyamuk *Culex* adalah:

Kingdom : Animalia Phylum : Arthropoda Classis : Insecta Subclassis : Pterygota Ordo : Diptera : Nematocera Subordo Familia : Culicidae Subfamilia : Culianeae Genus : Culex

Siklus hidup dari larva nyamuk dimulai dari telur yang akan menetas pada 2-3 hari setelah terkena air. Perkembangan hidup larva dipengaruhi banyak faktor seperti, tempat perkembangbiakan, temperatur serta keberadaan musuh atau pemangsa. Proses pertumbuhan serta perkembangan larva terjadi sekitar 7-14 hari mulai dari menetas hingga dewasa (Soegijanto, 2006). Kurun waktu tersebut terbagi menjadi 4 instar atau tingkatan yaitu, larva instar ke-1 berumur 1-2 hari setelah menetas yang berukuran sekitar 1-2 mm. Larva ini belum jelas duri-duri dada serta corong pernafasannya. Selanjutnya larva instar ke-2 berumur 2-3 hari setelah menetas dengan ukuran 2,5-3,5 mm. Larva sudah mulai terlihat hitam corong kepalanya, namun duri-duri dada tetap belum jelas. Larva instar ke-3 berumur 3-4 hari setelah menetas, memiliki ukuran 4-5 mm dengan duri dada yang mulai jelas dan corong pernafasan yang berwarna coklat kehitaman. Terakhir yaitu larva instar ke-4 yang berumur 4-6 hari setelah menetas. Memiliki ukuran paling besar sekitar 5-6 mm dengan warna kepala yang nyata. Waktu perkembangan tersebut tergantung pada faktor lingkungan, sehingga dikatakan perkembangan dapat mencapai 7-14 hari (Astuti, 2011).

Penelitian yang akan dilakukan menggunakan larva dengan tingkatan atau instar ke-3 sampai ke-4 (Maryanti, 2011). Pemilihan pengujian pada usia tersebut dikarenakan larva pada instar ke-3 sampai ke-4 sudah lengkap dan kuat alat tubuhnya. Selain itu larva sudah stabil terhadap faktor atau pengaruh dari lingkungan luar (WHO, 2005). Ketika di alam, larva akan mencari makan untuk bertahan hidup dengan mencari ke tempat perindukannya (Oktaviani, 2012). Namun dalam penelitian ini larva akan diberi makan berupa rebusan hati ayam 1 hari sebelum perlakuan uji larvasida (Wuri, 2019).

Nyamuk *Culex quinquefasciatus* dikenal sebagai vektor filariasis *Wuchereria bancrofti*. Selain itu nyamuk jenis ini juga merupakan nyamuk pembawa bakteri kaki gajah (Ramadhani, 2009). Nyamuk *Culex* merupakan hewan yang aktif pada malam hari. Nyamuk betina memiliki keunikan yaitu, menghisap darah untuk proses pematangan telur dan kemudian meletakkan telur pada tempat yang disukainya seperti di genangan air. Mematangkan telur membutuhkan waktu 3-4 hari. Waktu tersebut dimulai dari menghisap darah yang disebut dengan siklus gonotropik. Ketika nyamuk menghisap darah yang terinfeksi mikrofilaria maka mikrofilaria akan ikut terhisap bersama darah menuju usus tengah, kemudian melepaskan selubungnya, sehingga Cacing mikrofilaria bergerak menuju otot dada nyamuk untuk berkembang menjadi larva tahap pertama (L1), larva tahap kedua (L2) dan larva tahap ketiga (L3). Nyamuk merupakan media yang sangat baik bagi para bakteri, sehingga pembasmian nyamuk sangatlah penting untuk menekan persebaran penyakit (WHO, 2013). Larva nyamuk *Culex* sp. ditunjukkan pada Gambar 2.19.



Gambar 2. 19 Larva Nyamuk *Culex* sp.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Pelaksanaan

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari-Juli 2023 di Laboratorium Kimia Organik dan Laboratorium Anorganik Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah pisau, oven, penggiling, ayakan 60 mesh, spatula, neraca analitik, pengaduk, gelas ukur, gelas kimia, Erlenmeyer, pipet tetes, pipet ukur, bola hisap, corong *Buchner, rotary evaporator*, vortex, tabung reaksi, labu ukur, botol kaca gelap, gelas plastik, kain tile dan ultrasonik frekuensi 42 kHz. Identifikasi senyawa menggunakan instrumen GC-MS.

3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang diperlukan dalam penelitian ini adalah kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C.), larva nyamuk *Culex* sp. etanol 70%, aseton 70%, n-heksana dan aquades. Bahan pengujian fitokimia berupa reagen Dragendroff, reagen Meyer, serbuk magnesium, HCl pekat, metanol 50%, kloroform, asetat anhidrat, H₂SO₄, FeCl₃ 1%, *Tween* 20, abate dan hati ayam.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan melalui pengujian eksperimental di laboratorium. Sampel berupa kulit buah jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C.) diperoleh dari wilayah kecamatan Talun, Blitar. Langkah pertama yang dilakukan yaitu mencuci buah terlebih dahulu, kemudian dipotong-pootong kulit buah jeruk purut dengan ukuran sekitar 3 cm x 3 cm. Langkah berikutnya yaitu dioven, kemudian sampel kering dihaluskan dengan penggiling dan diayak. Serbuk sampel kemudian diekstraksi menggunakan metode ultrasonik. Ekstraksi tersebut menggunakan 3 variasi pearut organik, yaitu etanol, aseton, dan n-heksana. Setelah diekstraksi larutan disaring dan filtrat yang diperoleh dievaporasi sehingga diperoleh ekstrak yang bebas pelarut.

Ekstrak kulit jeruk purut kemudian diuji fitokimia, diidentifikasi menggunakan GC-MS dan diuji aktivitasnya sebagai biolarvasida. Uji fitokimia terdiri dari uji alkaloid, flavonoid, saponin, tannin, dan terpenoid. Selanjutnya dilakukan identifikasi senyawa menggunakan instrumen GC-MS. Kemudian pengujian aktivitas biolarvasida dengan variasi konsentrasi ekstrak 1%, 3%, 5%, 7% dan 9% dengan kontrol (-) menggunakan aquades serta kontrol (+) dengan abate. Dilakukan 2 kali pengulangan pada setiap konsentrasi. Data yang diamati sebanyak 36 unit perlakuan dengan pengamatan selama 1x24 jam.

3.4 Tahapan Penelitian

Tahapan kerja yang akan dilakukan dalam penelitian ini adalah:

1. Preparasi sampel kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C.).

- 2. Ekstraksi ultrasonik kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C.) variasi pelarut.
- 3. Uji fitokimia senyawa aktif kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C.).
- 4. Uji aktivitas larvasida kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C.) terhadap larva nyamuk *Culex* sp.
- 5. Analisis data hasil uji aktivitas larvasida.
- 6. Identifikasi senyawa dalam ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C.) dengan GC-MS.

3.5 Cara Kerja

3.5.1 Preparasi Sampel (Verdiana, 2018)

Buah jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C.) sebanyak 8 kg dicuci dengan air yang bertujuan untuk menghilangkan kotoran yang menempel. Selanjutnya dipisahkan bagian kulit dan buahnya. Kulit kemudian dipotong kecil-kecil dengan ukuran ±3 cm. Pemotongan tersebut bertujuan untuk mempermudah proses pengeringan yang dilakukan selama 42 jam di dalam oven dengan suhu 50°C. Langkah berikutnya adalah dihaluskan kulit jeruk purut kering menggunakan penggiling, selanjutnya diayak dengan ukuran 60 mesh.

3.5.2 Ekstraksi Ultrasonik Kulit Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D. C.). (Verdiana, 2018)

Ekstraksi kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C.) menggunakan metode ultrasonik variasi pelarut. Langkah pertama yaitu menimbang serbuk kulit jeruk purut sebanyak 50 gram kemudian dimasukkan kedalam erlenmeyer. Kemudian ditambahkan pelarut etanol 70%, aseton 70% dan n-heksana masing-masing 500 mL karena perbandingan antara bahan dan pelarut adalah 1:10 setiap erlenmeyer. Selanjutnya dilakukan ekstraksi ultrasonik menggunakan *ultrasonic bath* dengan

frekuensi 42 KHz selama 60 menit. Hasil ekstraki disaring menggunakan corong *Buchner* dan diperoleh filtrat berupa ekstrak kasar kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C.). Langkah berikutnya yaitu dipekatkan atau dievaporasi filtrat dengan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 40°C, 200mBar kecepatan 60rpm. Ekstrak kemudian disimpan pada wadah gelap dan ditimbang untuk mengetahui rendemennya dengan menggunakan persamaan 3.1.

Rendemen(%) =
$$\frac{A}{B}$$
 x 100%(3.1)

Keterangan:

A = Berat ekstrak

B = Berat sampel

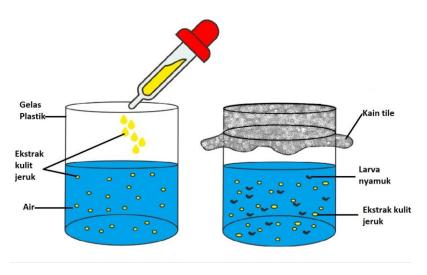
3.5.3 Uji Aktivitas Larvasida Kulit Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D. C.) terhadap Larva Nyamuk *Culex* sp.

Uji aktivitas larvasida menggunakan ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C.) terhadap larva nyamuk *Culex* sp. mengacu pada penelitian Hayati (2017) dengan metode *bio-assay test* yang merupakan uji untuk mengukur efektivitas suatu larvasida terhadap vektor penyakit, kemudian dilakukan uji regresi pada hasil perhitungan mortalitas menggunakan SPSS24 antara konsentrasi dengan pelarut.

3.5.3.1 Pengujian Ekstrak Kulit Jeruk Purut terhadap Nyamuk

Wadah atau tempat untuk hidup larva nyamuk *Culex* sp. berupa gelas plastik sebanyak 36 gelas dicuci terlebih dahulu untuk menghilangkan kotoran yang menempel. Kemudian dimasukkan 45 mL aquades pada setiap gelas. Selanjutnya dimasukkan 10 ekor larva nyamuk *Culex* sp. yang telah diberikan makan berupa rebusan hati ayam 1 hari sebelum percobaan pada setiap gelas. Langkah selanjutnya yaitu menambahkan ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C.) yang telah

disesuaikan konsentrasinya pada setiap ekstrak yaitu 1%, 3%, 5%, 7%, 9% dan kontrol (-) berupa aquades. Khusuh pada pembuatan konsentrasi ekstrak N-heksana ditambahkan 5 tetes Tween 20. Masing-masing konsentrasi ditambahkan ke dalam gelas plastik sebanyak 5 mL. Sedangkan untuk kontrol (+) dimasukkan 50 mL aquades dan dimasukkan 10 ekor larva kemudian diberi bubuk abate. Selama percobaan larva nyamuk dibiarkan tanpa diberi makan. Penghitungan jumlah larva yang mati dilakukan setelah 24 jam sejak diberi perlakuan.



Gambar 3. 1 Wadah Uji

3.5.3.2 Tingkat Kematian Larva Nyamuk (Mortalitas) (Pratiwi, 2020)

Mortalitas larva nyamuk diamati setelah 24 jam perlakuan. Kemudian mortalitas larva nyamuk dihitung dengan menggunakan persamaan 3.2.

Mortalitas (%) =
$$\frac{A}{B}$$
 x 100%(3.2)

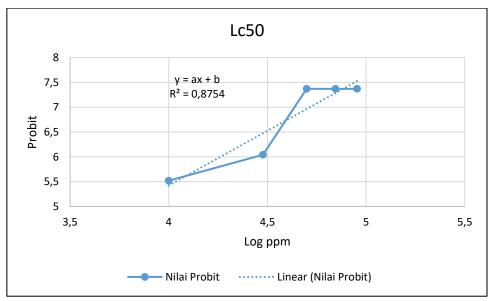
Keterangan:

A = Jumlah individu larva nyamuk yang mati

B = Total individu larva nyamuk mula-mula

3.5.4 Analisis Data

Data mortalitas larva nyamuk hasil uji aktivitas larvasida dibuat dalam bentuk tabel dan grafik, kemudian dideskripsikan hasilnya. Grafik dibuat dengan menggunakan konsentrasi (log ppm) sebagai sumbu x dan nilai probit sebagai sumbu y. Nilai probit diperoleh dengan melihat tabel probit yang sesuai dengan persen mortalitas setiap konsentrasi. Hasil dari grafik tersebut akan menunjukkan persamaan regresi y=ax+b. Nilai a merupakan nilai dari konsentrasi, sedangkan b merupakan *intercept*. Persamaan regresi tersebut kemudian digunakan untuk menghitung nilai LC₅₀ yang ditunjukkan pada persamaan 3.3 dan 3.4. Tingkat mortalitas larva nyamuk *Culex* sp. dapat diketahui dengan melakukan uji LC₅₀ untuk mengetahui nilai LC₅₀ (konsentrasi yang menyebabkan kematian sebanyak 50% dari larva uji) menggunakan analisis probit pada program komputer SPSS24 dan Excel. Contoh kurva grafik persamaan regresi ditunjukkan pada Gambar 3.2.



Gambar 3. 2 Kurva Analisis Probit

$$y = ax+b$$

 $x = (y_{50}-b)/a$ (3.3)

$$LC_{50} = antilog(x)$$
(3.4)

3.5.5 Uji Fitokimia Senyawa Aktif Kulit Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D. C.). (Suryanita, 2019)

Uji fitokimia dilakukan terhadap hasil ekstrak kulit jeruk purut dengan pelarut etanol 70%, aseton 70% dan n-heksana. Perlakuan uji fitokimia bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa aktif dalam ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C.). Uji fitokimia yang dilakukan meliputi uji alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan terpenoid.

3.5.5.1 Uji Alkaloid

Ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C.) sebanyak 0,5 gram dimasukkan dalam tabung reaksi. Digunakan 2 tabung reaksi yang masing-masing diisi ekstrak dan ditambahkan 0,5 mL HCl 2%. Tabung 1 ditambahkan dengan 2-3 tetes reagen Dragendroff, jika terbentuk endapan jingga maka menandakan ekstrak positif mengandung alkaloid. Sedangkan pada tabung 2 ditambahkan 2-3 tetes reagen Mayer, jika menghasilkan endapan berwarna putih kekuningan maka ekstrak positif mengandung alkaloid.

3.5.5.2 Uji Flavonoid

Ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C.) sebanyak 0,5 gram dimasukkan dalam tabung reaksi. Dilarutkan dalam 1-2 mL pelarut. Selanjutnya ditambahkan serbuk magnesium sebanyak 0,1 mg dan 4-5 tetes HCl pekat. Ekstrak yang positif mengandung flavonoid akan menunjukkan perubahan warna menjadi merah, kuning atau jingga.

3.5.5.3 Uji Saponin

Ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C.) sebanyak 0,5 gram dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambah 1mL aquades. Kemudian dikocok kuat 1 menit. Selanjutnya ditambahkan 2-3 tetes HCl 1N apabila menghasilkan

busa. Hasil ekstrak yang positif mengandung saponin yaitu terbentuk busa yang stabil setelah pengocokan tersebut.

3.5.5.4 Uji Tanin

Ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C.) sebanyak 0,5 gram dimasukkan dalam tabung reaksi. Langkah berikutnya yaitu ditambahkan FeCl₃ 1% sebanyak 2-3 tetes. Identifikasi ekstrak mengandung tanin adalah jika setelah bereaksi menghasilkan warna hijau kehitaman atau biru kehitaman.

3.5.5.5 Uji Terpenoid

Ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C.) sebanyak 0,5 gram dimasukkan dalam tabung reaksi. Ditambahkan 0,5 mL kloroform dan 0,5 mL asetat anhidrat kemudian didinginkan. Selanjutnya ditambahkan H₂SO₄ pekat 1-2mL, jika terbentuk cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut menandakan adanya triterpenoid, sedangkan jika berubah menjadi warna hijau kebiruan menandakan adanya steroid.

3.5.6 Identifikasi Senyawa dalam Ekstrak Kulit Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D.C.) dengan GC-MS

Sebanyak 0.50 ekstrak kulit kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C.) diinjeksikan dengan menggunakan *syrnge* ke dalam ke dalam spektrometer GC-MS QP20102 SHIMADZU dengan kondisi operasional sebagai berikut:

Jenis kolom : Agilent HP 5 MS

Panjang kolom : 30 meter
Gas pembawa : Helium
Temp. oven kolom : 40°C
Temperatur injektor : 100°C
Tekanan gas : 19,0 KPa
Kecepatan aliran gas : 1 mL/menit

BAB IV PEMBAHASAN

4.1 Preparasi Sampel

Kulit buah jeruk purut (Citrus hystrix D.C) pada penelitian ini diperoleh dari wilayah kecamatan Talun, Blitar, Jawa Timur. Tahapan preparasi sampel kulit buah jeruk purut yang dilakukan yaitu pencucian, pengupasan, pemotongan, pengeringan dan penyerbukan. Penyucian buah jeruk purut bertujuan untuk menghilangkan pengotor serta hewan yang menempel pada kulit buah. Pencucian dilakukan dengan air bersih mengalir sebanyak 2 kali. Pengupasan dilakukan untuk memisahkan bagian kulit dengan daging buah. Selanjutnya yaitu pemotongan sampel yang bertujuan untuk mempercepat proses pengeringan sampel. Proses pengupasan buah jeruk sebanyak 8 kg diperoleh kulit buah jeruk sebanyak 3,02 kg kulit buah jeruk segar. Pengeringan sampel dilakukan dengan diangin-anginkan terlebih dahulu baru dikeringkan dengan mengoven selama 42 jam dengan suhu 50°C. Hasil pengovenan 3,02 kg tersebut menyusut menjadi 0,71 kg kulit jeruk kering. Pengeringan dilakukan untuk mengurangi kadar air pada sampel yang bertujuan agar tidak mengganggu proses ekstraksi. Hasil pengeringan ini diperoleh kulit jeruk purut kering dengan kadar air 6,5%. Proses pengovenan serta penyerbukan dilakukan di Materia Medika Batu. Diperoleh serbuk kulit jeruk purut sebanyak 0,65 g. Penyerbukan dilakukan untuk memperbesar luas permukaan sampel sehingga dapat mempermudah dan memaksimalkan proses ekstraksi dengan pelarut yang digunakan.



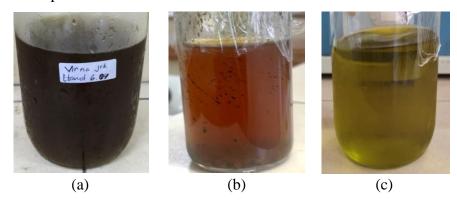
Gambar 4. 1 Sampel *Citrus hystrix* D.C (a) sampel *Citrus hystrix* D.C segar (b) serbuk kulit *Citrus hystrix* D.C

4.2 Ekstraksi Ultrasonik Kulit Jeruk Purut (Citrus hystrix D.C.)

Ekstraksi sampel kulit jeruk purut dilakukan dengan bantuan gelombang ultrasonik atau biasa disebut dengan metode sonikasi. Sampel yang telah melalui tahap preparasi kemudian diekstraksi menggunakan *ultrasonic bath* dengan frekuensi 42 KHz. Tujuan dari ekstraksi ini adalah untuk memperoleh senyawa metabolit sekunder dengan menggunakan pelarut yang berbeda-beda. Ekstraksi dilakukan dengan suhu ruang, karena suhu juga merupakan faktor yang mempengaruhi hasil ekstraksi. Suhu ekstraksi yang terlalu tinggi dapat menghilangkan atau merusak senyawa yang terkandung karena terjadi oksidasi dan mengalami perubahan struktur senyawa. Selain itu waktu yang digunakan juga menentukan tingkat optimum ekstraksi. Lama waktu ekstraksi yang tepat akan menghasilkan komponen bioaktif terekstrak dengan maksimal (Sekarsari, 2019).

Ekstraksi ultrasonik menggunakan prinsip *like dissolves like*, yaitu setiap pelarut memiliki tingkat efektivitas yang berbeda, tergantung kesesuaian polaritas antara pelarut dengan senyawa yang terekstrak. Ekstraksi ultrasonik memanfaatkan energi gelombang suara dimana dihasilkan getaran yang akan mengganggu partikel dalam sampel sehingga proses ekstraksi berjalan lebih cepat (Suryanto, 2019). Ekstraksi ultrasonik kulit jeruk purut dilakukan selama 60 menit dengan

menggunakan variasi pelarut etanol 70%, aseton 70% dan n-heksana. Setelah tahap sonikasi, selanjutnya dipisahkan antara pelarut dengan sampel menggunakan kertas saring dengan bantuan corong Buchner dan vakum untuk mempercepat dan memaksimalkan proses penyaringan. Diperoleh ekstrak kasar berwarna hijau kecoklatan untuk pelarut etanol dan aseton, sedangkan ekstrak kasar pelarut n-heksana berwarna hijau kekuningan. Selanjutnya ekstrak kasar dikentalkan dengan menggunakan *rotary evaporator* untuk memisahkan antara pelarut dengan ekstrak kentalnya. Ekstrak kental yang dihasilkan berwujud pasta. Gambar ekstrak kasar dapat dilihat pada Gambar 4.2.

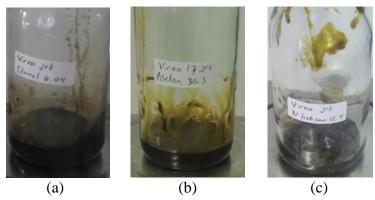


Gambar 4. 2 Ekstrak kulit jeruk purut *Citrus hystrix* D.C sebelum di *rotary evaporator* (a) ekstrak kasar pelarut etanol (b) ekstrak kasar pelarut aseton (c) ekstrak kasar pelarut n-heksana

Ekstrak kasar dengan pelarut etanol yang terdapat pada Gambar 4.2 (a) menunjukkan warna coklat pekat sedikit kehijauan dengan intensitas paling gelap jika dibandingkan dengan hasil ekstrak pelarut lainnya. Hal ini dimungkinkan terjadi karena senyawa yang terekstrak lebih banyak dibandingkan ekstrak pelarut lainnya. Hal tersebut dapat dibuktikan dengan hasil uji fitokimia mengenai berbagai macam senyawa yang terekstrak. Selain itu, tingkat kepekatan warna ekstrak kasar kulit jeruk purut *Citrus hystrix* D.C berdasarkan hasil di atas juga menunjukkan bahwa ekstrak lebih dominan mengandung senyawa yang bersifat polar. Ekstrak

kasar pelarut etanol beraroma khas kulit jeruk purut yang bercampur aroma etanol. Hasil ekstrak kental dengan pelarut etanol berwarna coklat gelap dengan sedikit kehijauan dengan tekstur kental seperti pasta. Ekstrak kental beraroma khas kulit jeruk purut murni, sudah tidak tercium aroma khas dari etanol. Selanjutnya yaitu ekstrak kasar dengan pelarut aseton yang ditunjukkan pada Gambar 4.2 (b) berwarna coklat dengan intensitas lebih terang jika dibandingkan dengan hasil ekstrak menggunakan pelarut etanol. Ekstrak kasar pelarut aseton memiliki aroma yang bercampur antara aroma khas aseton yang lebih dominan dengan aroma khas kulit jeruk purut. Sedangkan untuk hasil ekstrak kental berwarna coklat pekat dengan sedikit kekuningan dan bertekstur sama yaitu kental seperti pasta serta hanya menyisakan aroma khas kulit jeruk purut yang semerbak.

Gambar 4.2 (c) menunjukkan hasil ekstrak kasar dari ekstrak kulit jeruk purut Citrus hystrix D.C menggunakan pelarut n-heksana. Ekstrak kasar ini memiliki aroma yang lebih dominan pada n-heksana namun tetap mengeluarkan aroma khas dari kulit jeruk purut. Pada ekstrak kasar tersebut berwarna hijau sedikit kekuningan dengan intensitas paling cerah. Hal tersebut menunjukkan bahwa ekstrak kulit jeruk purut Citrus hystrix D.C mengandung sedikit senyawa yang bersifat non-polar. Hal tersebut juga berpengaruh terhadap rendemen yang dihasilkan. Seperti dilihat pada Gambar 4.3 yang menunjukkan hasil ekstrak kental menggunakan pelarut n-heksana hanya menghasilkan jumlah ekstrak yang sedikit dengan warna ekstrak coklat kehijauan dengan tekstur kental seperti pasta dan sudah terbebas dari aroma n-heksana yang menyengat, hanya tersisa aroma kulit jeruk purut yang khas.



Gambar 4. 3 Ekstrak kental kulit jeruk purut *Citrus hystrix* D.C (a) pelarut etanol (b) pelarut aseton (c) pelarut n-heksana

Hasil dari ekstraksi ultrasonik yang telah dilakukan diperoleh rendemen pada ekstrak pelarut etanol sebanyak 21,16%. Jika dibandingkan dengan hasil dari penelitian sebelumnya (Susilo, 2016), rendemen yang dihasilkan sebesar 11,38%. Hal tersebut dapat terjadi karena proses ekstraksi yang kurang maksimal sehingga rendemen yang dihasilkan lebih sedikit. Penelitian terdahulu (Susilo, 2016) menggunakan pelarut etanol 98% dengan perbandingan 1:5 selama 20 menit, sedangkan dalam penelitian ini menggunakan pelarut 70% dengan perbandingan 1:10 selama 60 menit. Sementara itu rendemen pada ekstrak pelarut aseton merupakan hasil dengan rendemen paling tinggi yaitu sebanyak 23,60%. Meskipun tingkat kepolaran etanol lebih tinggi dibandingkan dengan aseton, hal ini dapat dimungkinkan terjadi karena banyak faktor. Seperti kesalahan ketika penyaringan yang kurang maksimal pada perlakuan etanol, atau bahkan adanya pengotor yang ikut pada ekstrak aseton.

Rendemen yang dihasilkan oleh ekstraksi menggunakan pelarut n-heksana merupakan hasil yang paling sedikit yaitu hanya sebanyak 3,77%. Hasil tersebut sangat jauh dibandingkan dengan hasil rendemen pelarut lainnya, hal tersebut dikarenakan n-heksana merupakan pelarut non-polar. Hal tersebut dapat terjadi

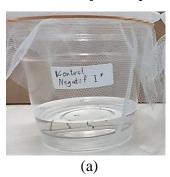
dimungkinkan karena pada kulit jeruk purut tidak banyak senyawa yang bersifat non-polar. Pelarut n-heksana hanya mampu melarutkan minyak atau senyawa yang bersifat non-polar. Gaya tarik Van Der Waals mempengaruhi kelarutan antara zat terlarut dengan pelarut. Gaya tersebut yang mengakibatkan n-heksana tidak dapat larut dalam air dan hanya melarutkan senyawa non-polar (Wiradnyani, 2014).

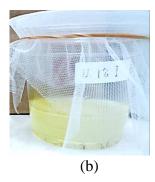
4.3 Uji Aktivitas Larvasida Kulit Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D.C.) terhadap Larva Nyamuk *Culex* sp.

Aktifitas larvasida merupakan sebuah uji yang digunakan untuk mengamati tingkat toksisitas atau daya racun suatu zat terhadap larva sebagai hewan uji. Toksisitas yang terjadi berupa penolakan tubuh larva dengan lingkungan hingga perusakan sel pada larva yang dapat menyebabkan kematian (Prijono, 2008). Penelitian ini menggunakan larva nyamuk *Culex* sp. atau biasa disebut nyamuk kebun. Pemilihan tersebut dikarenakan larva mudah didapat serta tingkat resiko bahaya yang ditimbulkan lebih rendah disbanding larva nyamuk lainnya. Uji aktifitas larvasida dilakukan dengan menyiapkan larva yang telah berada difase instar ke-3 sampai 4 (Maryanti, 2011).

Penelitian dilakukan dengan menyiapkan media yang ditutup kain tile untuk keamanan ketika pengujian berlangsung. Kain tile akan menghambat larva yang berubah menjadi nyamuk tidak berterbangan bebas diluar media. Pengujian dilakukan dengan menambahkan ekstrak yang sudah diencerkan sesuai konsentrasi yang telah ditentukan. Perbedaan konsentrasi ini bertujuan untuk mengetahui pada konsentrasi berapakah ekstrak dapat bereaksi dan bekerja secara maksimal. Setelah media siap, barulah larva dimasukkan dan ditutup kain dengan rapat. Selanjutnya

ditunggu selama 24 jam untuk mengetahui tingkat toksisitas larva yang dilihat dari banyaknya jumlah larva yang mati atau biasa disebut mortalitas. Media dan pengujian larvasida ditunjukkan pada Gambar 4.4.





Gambar 4. 4 Media dan pengujian larvasida nyamuk *Culex* s.p (a) kontrol negatif (b) ekstrak pelarut n-heksana kensentrasi 1%

Gambar 4.4 (a) menunjukkan hasil dari uji larvasida dengan kontrol negatif, yaitu menggunakan konsentrasi 0%. Hasil dari kontrol negatif menunjukkan bahwa larva berada di permukaan air dan masih bergerak. Hal tersebut menandakan larva masih hidup. Sedangkan pada Gambar 4.4 (b) yang merupakan media dengan ekstrak pelarut n-heksana kensentrasi 1% menunjukkan bahwa larva berada di dasar media. Larva juga tidak bergerak, hal tersebut menandakan larva telah mati total. Berdasarkan data yang diperoleh dari hasil uji larvasida, dilakukan pengolahan data. Hasil pengolahan tersebut menyatakan bahwa jenis pelarut dan konsentrasi mempengaruhi jumlah rata-rata kematian larva nyamuk *Culex* s.p. Data tersebut ditunjukkan pada Tabel 4.1, 4.2 dan 4.3

Tabel 4. 1 Kematian rata-rata larva pada ekstrak etanol

Konsentrasi (%)	Kematian Rata-rata
0 (kontrol negatif)	0,00a
1	$7,00^{b}$
3	8,50°
5	10,00 ^d
7	10,00 ^d
9	10,00 ^d
Abate (kontrol positif)	10,00 ^d

Tabel 4. 2 Kematian rata-rata larva pada ekstrak aseton

Konsentrasi (%)	Kematian Rata-rata
0 (kontrol negatif)	$0,00^{a}$
1	$4,50^{b}$
3	$6,50^{c}$
5	9,00 ^{de}
7	9,00 ^{de}
9	7,50 ^{cd}
Abate (kontrol positif)	10,00e

Tabel 4. 3 Kematian rata-rata larva pada ekstrak n-heksana

Konsentrasi (%)	Kematian Rata-rata
0 (kontrol negatif)	$0,00^{a}$
1	10,00 ^b
3	10,00 ^b
5	10,00 ^b
7	10,00 ^b
9	10,00 ^b
Abate (kontrol positif)	$10,00^{b}$

Berdasarkan Tabel 4.1 ekstrak etanol menunjukkan bahwa rerata kematian maksimal sudah dapat dicapai pada konsentrasi 5% dan seterusnya. Sedangkan rerata kematian terendah yaitu 7 ekor ditunjukkan pada hasil dari konsentrasi 1%. Pada pengujian dengan ekstrak aseton Tabel 4.2 menunjukkan hasil terendah pada konsentrasi 1% dengan rerata kematian 4,5. Sedangkan rerata kematian tertinggi yaitu 9 dicapai pada konsentrasi 5% dan 7%, namun menurun menjadi 7,5 pada konsentrasi 9%. Hal tersebut dapat terjadi karena menurut Rahmani (2014)

penambahan konsentrasi tersebut tidak memberikan efek toksik atau racun pada larva sebab zat telah terurai pada media serta larva telah meningkatkan kekebalan tubuhnya. Meskipun demikian, pada penelitian ini hewan yang tidak mati pada ekstrak aseton konsentrasi 9% menunjukkan gejala stress berupa gerakan yang tidak stabil serta pergerakan yang sangat minim. Hal tersebut merupakan gejala stress akibat zat racun, sehingga larva akan memperkecil proses biokimia pada tubuhnya yang telah terkena racun, maka efek yang dialami oleh larva terjadi lebih lambat (Effendie, 1979). Sedangkan untuk hasil dari ekstrak n-heksana pada Tabel 4.3 menunjukkan kematian maksimal dari konsentrasi 1% hingga 9%. Hal tersebut menunjukkan hasil terbaik diantara ekstrak yang lain.

Hasil data tersebut kemudian diolah menggunakan Ms.Excel untuk mengetahui persen mortalitasnya. Perhitungan mortalitas bergantung pada jumlah total hewan yang diuji serta jumlah kematian hewan uji. Dilakukan perhitungan menggunakan *software* Ms.Excel agar diperoleh hasil perhitungan yang akurat. Perhitungan dilakukan dengan formula rata-rata kematian dibagi jumlah hewan uji dikali 100%. Kemudian data tersebut diolah menggunakan SPSS24 yang ditunjukkan pada Tabel 4.4.

Tabel 4. 4 Mortalitas larva berdasarkan pelarut

Pelarut	Mortalitas Rata-rata (%)
Etanol	91,00±12,867 ^b
Aseton	73,00±18,288 ^a
n-heksan	100,00±0,000°

Berdasalkan hasil perhitungan diketahui bahwa n-heksana memiliki mortalitas paling efektif yaitu dengan semua nilai mortalitas 100%. Sementara itu

untuk tingkat keefektivitasan kedua yaitu etanol, karena pada konsentrasi 5% keatas nilai mortalitasnya sebesar 100% dan tidak mengalami penurunan. Sedangkan aseton merupakan pelarut yang menghasilkan ekstrak dengan nilai mortalitas paling kurang efektif karena nilai mortalitasnya tidak mencapai 100% pada konsentrasi 0-9%. Berdasarkan data tersebut dapat disimpulkan bahwa kedua faktor tersebut yaitu jenis pelarut dan konsentrasi berpengaruh terhadap mortalitas larva nyamuk *Culex* sp. Jenis pelarut akan mempengaruhi kandungan senyawa ketika proses ekstraksi. Sedangkan tingkat konsentrasi yang digunakan akan berpengaruh pada kekuatan tubuh larva terhadap serangan senyawa yang bersifat toksik dalam ekstrak.

Berdasarkan data yang diperoleh dari hasil uji larvasida, juga dilakukan pengolahan data mengenai konsentrasi. Hasil pengolahan tersebut menyatakan bahwa selain jenis pelarut, konsentrasi dan interaksi antara keduanya juga mempengaruhi mortalitas larva nyamuk *Culex* sp. Data tersebut ditunjukkan pada Tabel 4.5.

Tabel 4. 5 Mortalitas larva berdasarkan konsentrasi

Konsentrasi (%)	Mortalitas Rata-rata (%)
1	71,67±24,833 ^a
3	83,33±16,330 ^b
5	96,67±5,164°
7	96,67±5,164°
9	91,67±13,292°

Berdasarkan Tabel 4.3 menunjukkan bahwa mortalitas tertinggi sudah dapat dicapai pada konsentrasi 5%, namun justru terjadi penurunan pada konsentrasi 9%. Sedangkan mortalitas terendah ditunjukkan pada hasil dari konsentrasi 1%. Kemudian untuk mortalitas yang dipengaruhi oleh jenis pelarut pada Tabel 4.2

diketahui bahwa n-heksan memiliki mortalitas paling tinggi yaitu 100%. Sedangkan aseton merupakan pelarut yang menghasilkan mortalitas paling rendah yaitu 73%. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa kedua faktor tersebut berpengaruh terhadap mortalitas larva nyamuk *Culex* sp.

Data hasil dari uji larvasida juga digunakan untuk menghitung nilai LC₅₀ dari ekstrak yang digunakan. Penghitungan dilakukan dengan probit SPSS dimana jika nilai LC₅₀<1000 mg/KgBB maka dikatakan sangat toksik, dengan kata lain semakin kecil nilai LC₅₀ maka toksisitasnya semakin tinggi (Jenova, 2009). Didapatkan hasil perhitungan LC₅₀ pada ekstrak pelarut etanol sebesar 0,6439 mg/KgBB. Hasil LC₅₀ dari ekstrak pelarut aseton adalah 1,1027 mg/KgBB. Sedangkan pada ekstrak pelarut n-heksan memiliki nilai LC₅₀ mutlak (0 mg/KgBB). Sehingga dapat disimpulkan bahwa semua ekstrak mengandung senyawa yang sangat toksik.

4.4 Uji Fitokimia Senyawa Aktif Kulit Jeruk Purut (Citrus hystrix D.C.)

Kulit jeruk purut mengandung senyawa aktif yang dapat diidentifikasi dengan uji fitokimia. Pengujian fitokimia dimaksutkan untuk mengidentifikasi senyawa yang terkandung dalam kulit jeruk purut. Hasil pengujian tersebut dapat dijadikan landasan mengenai faktor yang mempengaruhi hasil uji larvasida. Golongan senyawa yang diujikan yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan terpenoid. Berdasarkan hasil uji fitokimia diperoleh hasil pengamatan yang ditunjukkan pada Tabel 4.6 untuk hasil uji ekstrak etanol, Tabel 4.7 untuk hasil ekstrak aseton dan Tabel 4.8 untuk hasil ekstrak n-heksana.

Tabel 4. 6 Hasil uji fitokimia ekstrak etanol kulit jeruk purut

		J 1
Golongan Senyawa Aktif	Hasil	Keterangan
Alkaloid		
a. Dragendroff	-	Tidak terdapat endapan jingga
b. Meyer	-	Tidak terdapat endapan putih kekuningan
Flavonoid	+	Berwarna jingga kemerahan
Saponin	+	Terbentuk busa stabil
Tanin	+	Berwarna hijau kehitaman
Terpenoid	+	Terbentuk cincin kecoklatan

Keterangan +

+ : Mengandung senyawa

- : Tidak mengandung senyawa

Tabel 4. 7 Hasil uji fitokimia ekstrak aseton kulit jeruk purut

Golongan Senyawa Aktif	Hasil	Keterangan
Alkaloid		
a. Dragendroff	-	Tidak terdapat endapan jingga
b. Meyer	-	Tidak terdapat endapan putih kekuningan
Flavonoid	+	Berwarna jingga kemerahan
Saponin	-	Tidak terbentuk busa stabil
Tanin	+	Berwarna hijau kehitaman
Terpenoid	+	Terbentuk cincin kecoklatan

Keterangan

+ : Mengandung senyawa

- : Tidak mengandung senyawa

Tabel 4. 8 Hasil uji fitokimia ekstrak n-heksana kulit jeruk purut

Golongan Senyawa Aktif	Hasil	Keterangan
Alkaloid		
a. Dragendroff	-	Tidak terdapat endapan jingga
b. Meyer	-	Tidak terdapat endapan putih kekuningan
Flavonoid	-	Tidak berwarna jingga kemerahan
Saponin	-	Tidak terbentuk busa stabil
Tanin	-	Tidak berwarna hijau kehitaman
Terpenoid	+	Terbentuk cincin kecoklatan

Keterangan

+ : Mengandung senyawa

- : Tidak mengandung senyawa

Berdasarkan Tabel 4.6 hasil skrining fitokimia pada ekstrak etanol kulit jeruk purut mengandung flavonoid, saponin, tanin dan terpenoid. Sedangkan pada Tabel 4.7 dapat diketahui bahwa ekstrak aseton kulit jeruk purut mengandung flavonoid, tanin dan terpenoid. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak dengan pelarut etanol dapat melarutkan lebih banyak senyawa aktif. Hasil uji skrining fitokimia pada ekstrak n-heksana kulit jeruk purut hanya mengandung terpenoid saja. Hal ini

dikarenakan n-heksana merupakan pelarut non-polar sehingga dapat dikatakan bahwa ekstrak jeruk purut mengandung lebih banyak senyawa yang bersifat polar dibandingkan dengan senyawa yang bersifat non-polar.

Hasil skrining fitokimia pada etanol dan aseton yang merupakan pelarut polar menunjukkan positif mengandung flavonoid. Hal tersebut terjadi karena flavonoid memiliki sejumlah gugus hidroksil yang tidak tersubstitusi sehingga flavonoid bersifat polar. Flavonoid yang dikenal sebagai senyawa sitotoksik terkandung dalam ekstrak kulit jeruk purut, sehingga flavonoid dapat masuk ke dalam tubuh larva yang berdampak pada menurunnya sistem kerja saraf sehingga mengganggu pertumbuhan dan pergerakan pada larva (Hayati, 2010).

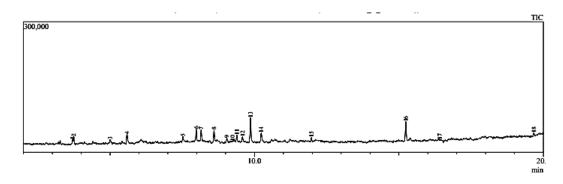
Saponin termasuk dalam senyawa yang bersifat polar karena mengandung gugus hidrofilik, namun saponin juga memiliki gugus hidrofobik sebagai gugus nonpolar. Hal tersebut mengakibatkan terbentuknya misel ketika dilakukan pengocokan dengan pelarutnya (Ningsih, 2016). Saponin dalam ekstrak kulit jeruk purut dapat mengakibatkan hemolisis sel darah merah pada larva, sehingga dapat menyebabkan kematian larva. Selain itu saponin memiliki efek gangguan pigmentasi kulit bahkan kerusakan bentuk kepala dan perut pada larva (Nurhaifah, 2015). Selanjutnya adalah tanin, yang merupakan senyawa polar dengan gugus hidroksi, sehingga tanin dapat diekstrak oleh pelarut polar seperti etanol. Senyawa tanin dapat menurunkan aktivitas enzim yang terdapat pada system pencernaan, selain itu dapat mengganggu proses penyerapan makanan pada larva (Yunita, 2009).

Senyawa terpenoid merupakan senyawa yang bersifat non-polar sehingga larut dalam pelarut non-polar seperti n-heksana. Meskipun demikian, menurut

penelitian yang telah dilakukan Defiarti (2021) diperoleh hasil bahwa senyawa triterpenoid terekstrak pada pelarut nonpolar, semipolar dan polar, sehingga hal tersebut sesuai dengan hasil penelitian yang telah dilakukan, dimana pada pelarut etanol dan aseton diperoleh hasil positif terpenoid. Terpenoid bisa terdapat dalam bentuk glikosida, dimana glikosida adalah senyawa yang terdiri dari gula dan aglikon. Adanya gula yang terikat dan bersifat polar menyebabkan glikosida mampu larut dalam pelarut polar. Sedangkan aglikon yang bersifat non-polar menyebabkan terpenoid larut dalam pelarut semi polar dan non polar (Purwatresna, 2012). Senyawa terpenoid tersusun dari rantai panjang hidrokarbon C30. Ada beberapa senyawa terpenoid berstruktur siklik yang berupa alkohol yang memiliki gugus -OH sehingga menyebabkan sifatnya menjadi semi polar, maka dapat terekstrak/tertarik dalam pelarut polar maupun semi polar (Sriwahyuni, 2010). Senyawa terpenoid yang terdapat pada ekstrak kulit jeruk purut merupakan terpenoid golongan triterpenoid. Limonen termasuk dalam golongan triterpenoid, sehingga dimungkinkan hasil ekstraksi pelarut n-heksana merupakan limonen dan jenis senyawa terpen lainnya. Limonen dapat menghambat serangga untuk makan, sehingga kekurangan energi untuk bertahan hidup. Limonen memberi dampak antifeedant pada larva sehingga tingkat kematian larva sangat tinggi (Nurhaifah, 2015). Selain itu limonen juga mempengaruhi sistem saraf yang mengakibatkan terjadinya pergantian secara terus menerus pada lapisan epidermis. Hal tersebut berdampak pada ketahanan tubuh larva hingga menjadi lumpuh bahkan menyebabkan kematian larva (Kasi, 2012).

4.5 Identifikasi Senyawa dalam Ekstrak Kulit Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D.C.) dengan GC-MS

Identifikasi dilakukan untuk memantapkan hasil uji fitokimia yang telah dilakukan. Ekstrak dengan hasil uji larvasida terbaik kemudian dianalisis menggunakan instrument GC-MS. Identifikasi senyawa target berupa limonen dilakukan pada ekstrak kulit jeruk purut menggunakan pelarut n-heksana dengan mortalitas kematian larva nyamuk sebanyak 100%. Identifikasi dengan GC-MS akan menghasilkan dua data yaitu berupa kromatogram hasil GC dan spektra massa yang merupakan hasil dari analisis MS. Hasil kromatogram GC ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C.) dengan pelarut n-heksana ditunjukkan pada Gambar 4.5.



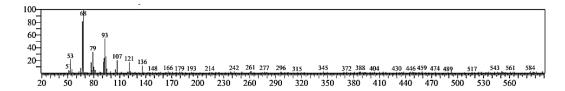
Gambar 4. 5 Kromatogram ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C.) pelarut n-heksana

Kromatogram pada gambar 4.5 menunjukkan adanya 18 puncak senyawa. Senyawa yang keluar pada rentang waktu retensi 0-3,500an merupakan senyawa golongan monoterpen. Kemudian pada tentang waktu retensi 3,700an-12,000an termasuk golongan seskuiterpen. Selanjutnya rentang waktu 15,000an- 19,600an merupakan senyawa golongan triperpen dan ester. Puncak pertama merupakan hasil dari puncak target yaitu 1-limonene pada waktu retensi 3,700 menit dengan kadar atau luas area 2,65%. Sedangkan senyawa dengan puncak tertinggi atau luas area paling banyak yaitu δ -Cadinene dengan luas area 17,02% pada waktu retensi 9,864

menit. *δ-Cadinene* merupakan senyawa golongan siskuiterpen yang banyak ditemukan dalam minyak atsiri, selain itu mayoritas komponen hasil uji juga merupakan senyawa golongan terpen. Hal tersebut sejalan dengan hasil uji fitokimia dari ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C.) dengan pelarut n-heksana yang hanya positif terpenoid. Daftar 18 komponen hasil identifikasi ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C.) tersebut ditunjukkan pada Tabel 4.9

Tabel 4.9 Daftar Komponen Ekstrak Kulit Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D.C.) Pelarut n-heksana

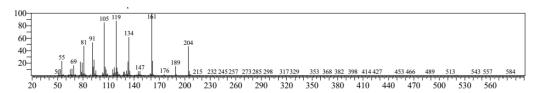
i <u>eksana</u>				
No.	Rt (Menit)	Senyawa	Area (%)	Golongan
1	3.700	l-Limonen	2.65	Monoterpen
2	3.742	1,8-Cineole	3.87	Monoterpen
3	5.004	Citronella	3.32	Monoterpen
4	5.588	3-Cyclohexene-1-methanol	7.64	Monoterpen
5	7.519	Citronellyl acetate	3.76	Monoterpen
6	7.983	а-Сораепе	5.73	Seskuiterpen
7	8.153	Germacrene-D	8.09	Seskuiterpen
8	8.600	trans-Caryophyllene	7.04	Seskuiterpen
9	9.042	α-Humulene	3.27	Seskuiterpen
10	9.242	6-hydroxycarvone methyl ether	2.25	Monoterpen
11	9.388	Germacrene-D	4.22	Seskuiterpen
12	9.584	alphaAmorphene	3.47	Seskuiterpen
13	9.864	δ -Cadinene	17.02	Seskuiterpen
14	10.233	Cyclohexanemethanol / elemol	5.95	Seskuiterpen
15	11.973	Cyclohexanone	2.59	Sikloalkana
				(hidrokarbon
				monosiklik)
16	15.237	2,6,10,14,18,22-	13.49	Triterpen
		Tetracosahexaene,		
		2,6,10,15,19,23-hexamethyl-		
1.5	1 < 410	(CAS) Squalene	2.15	
17	16.419	Oxiranepentanoic acid, 3-	3.15	Fatty acid
		undecyl-, methyl ester, trans-		methyl esters
		(CAS) methyl trans-6,7-		
18	19.669	epoxistearate Citronellyl propionate	2.50	Ester
10	19.009	Curonenyi propionale	2.30	karboksilat
L				Kai UUKSIIat



Gambar 4. 6 Spektra massa senyawa puncak *l-Limonen*

Gambar 4.6 merupakan hasil dari Analisa MS berupa spektra massa dan berdasarkan spektra tersebut dapat diketahui puncak dasar pada m/z= 68 yang merupakan puncak khas limonen dengan ion molekuler (M+) dengan m/z= 136. Pola fragmentasi berdasarkan spektra pada Gambar 4.6 menunjukkan pembentukan senyawa limonen dengan menghilangkan satu elektron sehingga membentuk ion molekul [C₁₀H₁₆]⁺ dengan m/z=136. Selanjutnya membentuk ion molekul [C₉H₁₃]⁺ dengan m/z= 121. Pembentukan tersebut dilakukan dengan melepaskan radikal CH₃. Kemudian melepas molekul CH₂ sehingga terbentuk ion molekul [C₈H₁₁]⁺ dengan m/z= 107. Langkah berikutnya yaitu pelepasan molekul CH₂ yang membentuk ion molekul [C₇H₉]⁺ dengan m/z= 93. Selanjutnya Ion molekul [C₇H₉]⁺ melepaskan molekul CH₂ yang kemudian membentuk [C₆H₇]⁺ dengan m/z= 79. Puncak m/z= 68 merupakan puncak khas limonen yang merupakan *base peak* yang dihasilkan dari pemecahan reaksi homolitik *retro Diels-Alder* dari ion molekul m/z 136. Adapun mekanisme fragmentasi limonen ditunjukkan pada Gambar 4.7.

Gambar 4. 7 Fragmentasi ion molekul limonene (Irawan, 2010)



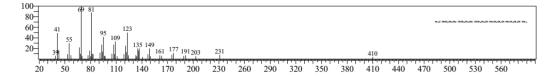
Gambar 4. 8 Spektra massa senyawa puncak δ -Cadinene

Senyawa dengan puncak tertinggi yaitu δ -Cadinene memiliki spektra massa seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4.8. δ -Cadinene merupakan senyawa golongan seskuiterpen dengan rumus molekul $C_{15}H_{24}$ dan berat molekul 204. Struktur fragmentasinya dimulai dari ion molekul dengan m/z 204 yang kemudian memutuskan ikatan rangkap terkonjugasi membentuk ion dengan m/z 189.

Selanjutnya fragment ion m/z 175 terbentuk melalui pelepasan metil dari m/z 189. Ion m/z 161 dihasilkan dari pelepasan sebuah gugus metilen. Kemudian m/z 147 dan m/z 133 berturut-turut dihasilkan oleh pelepasan metil dan propenil dari ion m/z 161. Akhirnya, fragment ion paling stabil m/z 119 terbentuk melalui tahap pemecahan cincin siklik dan penyusunan ulang. Dalam spektrum massa δ -cadinene, m/z 119 merupakan puncak dasar. Fragmentasi δ -Cadinene ditunjukkan pada Gambar 4.9.

Gambar 4. 9 Fragmentasi δ-Cadinene (Chappell, 2010)

Senyawa dengan puncak tertinggi kedua yaitu 2,6,10,14,18,22-Tetracosahexaene, 2,6,10,15,19,23-hexamethyl- (CAS) Squalene memiliki spektra massa seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4.10. Sedangkan struktur dari 2,6,10,14,18,22-Tetracosahexaene, 2,6,10,15,19,23-hexamethyl- (CAS) Squalene dapat dilihat pada Gambar 4.11.



Gambar 4. 10 Spektra massa senyawa puncak 2,6,10,14,18,22-Tetracosahexaene, 2,6,10,15,19,23-hexamethyl- (CAS) Squalene

Squalene atau 2,6,10,14,18,22-Tetracosahexaene, 2,6,10,15,19,23-hexamethyl- merupakan senyawa triterpen dengan rumus molekul $C_{30}H_{50}$. Struktur fragmentasinya dimulai dari ion molekul dengan m/z 410 yang kemudian memutuskan ikatan rangkap pada kerangka karbon terdekonjugasi membentuk ion dengan m/z 395. Kemudian ion m/z 381 terbentuk dari pelepasan metil dari m/z 395. Ion selanjutnya m/z 341 dan m/z 273 dihasilkan melalui proses degradasi kerangka karbon dan pelepasan gugus alkil. Ion paling stabil m/z 69 yang merupakan puncak dasar terbentuk melalui serangkaian proses fragmentasi dan penyusunan ulang. Berikut gambaran secara skematisnya, m/z 410 (Molecular Ion) \rightarrow m/z 395 \rightarrow m/z 381 \rightarrow m/z 341 \rightarrow m/z 273 \rightarrow m/z 69 (Base Peak).



Gambar 4. 11 Struktur 2,6,10,14,18,22-Tetracosahexaene, 2,6,10,15,19,23hexamethyl- (CAS) Squalene

4.6 Pemanfaatan Kulit Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D.C.) sebagai Larvasida dalam Perspektif Islam

Allah SWT telah menciptakan bumi seisinya dengan segala nikmat didalamnya. Salah satu kenikmatan tersebut adalah berupa berbagai tanaman

dengan berjuta manfaatnya. Sebagaimana sering disebutkan dalam Al Quran salah satunya yaitu dalam firman Allah SWT surah Al-An'am ayat 99:

Artinya: "Dan Dialah yang menurunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan Maka Kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau. Kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang banyak; dan dari mayang korma mengurai tangkai-tangkai yang menjulai, dan kebun-kebun anggur, dan (kami keluarkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. perhatikanlah buahnya di waktu pohonnya berbuah dan (perhatikan pulalah) kematangannya. Sesungguhnya pada yang demikian itu ada tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman".

Ayat diatas menjelaskan bahwa berbagai macam tumbuhan beserta setiap bagiannya diikuti dengan beraneka manfaat didalamnya bagi makhluk hidup lainnya. Tidak hanya tangkainya, daun, bunga, akar hingga buahnyapun bermanfaat bagi semua makhluk hidup. Allah SWT telah menyediakan semuanya di alam semesta ini, baik sebagai sumber makanan, obat, bahkan kebutuhan pokok lainnya. Hal itu dapat dimanfaatkan lebih lanjut bagi manusia yang percaya akan kebesaran Allah SWT. Seperti ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C.) yang telah terbukti dapat digunakan sebagai larvasida. Allah SWT memang tidak menuliskan secara langsung bahwa kulit jeruk dapat digunakan sebagai larvasida, namun Allah SWT menjelaskan bahwasanya tumbuhan yang Ia ciptakan bermanfaat bagi hambaNya yang beriman. Larvasida adalah upaya pencegahan dari ditimbulkannya penyakit seperti DBD misalnya. Hal tersebut merupakan salah satu obat bersifat mencegah yang Allah SWT berikan melalui kulit jeruk purut. Sebagaimana dituliskan dalam surat Asy-syuara ayat 80:

Artinya: "Dan apabila aku sakit, Dialah yang menyembuhkan aku"

Ayat tersebut menjelaskan bahwa Allah SWT yang dapat menyembuhkan segala penyakit serta memberi perlindungan bagi umatnya. Allah SWT telah mempersiapkan segala kebutuhan umat di bumi ini, tanpa ada satu halpun yang luput dari-Nya. Selain dari firman Allah SWT hal tersebut juga diperkuat oleh hadits Nabi SAW yang disebutkan:

Dari Jabir dari Rasulullah SAW, beliau bersabda: "Setiap penyakit ada obatnya. Apabila ditemukan obat yang tepat untuk suatu penyakit, maka akan sembuhlah penyakit tu dengan izin Alah Azza Wa jalla" (HR. Muslim no. 4084)

Hadits tersebut memperkuat bahwa Allah SWT telah menyiapkan segala obatnya, sehingga manusia harus selalu berusaha untuk menemukan obat tersebut. Seperti dalam ekstrak kulit jeruk purut yang ternyata bermanfaat sebagai larvasida karena kandungan senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid, saponin, tannin, terpenoid serta atsiri yang dapat membunuh larva nyamuk yang dianggap sebagai sumber wabah penyakit. Selain sebagai larvasida bahkan kulit jeruk purut juga dapat digunakan sebagai anti mikroba, anti alergi, anti virus, anti jamur, anti bakteri dan sitotoksik lain. Hal tersebut disebabkan karena banyaknya senyawa bermanfaat yang terkandung dalam kulit jeruk purut.

Nikmat-nikmat dari keagungan Allah SWT tidak pernah habis bagi hambaNya. Alam semesta telah dibuat dengan segala perannya masing-masing.

Hendaknya kita sebagai manusia yang berakal mensyukuri segala nikmat tersebut. Sebagaiman yang telah dituliskan dalam Al Quran surah Al-Jasiyah ayat 13:

Artinya: "Dan Dia telah menundukkan untukmu apa yang di langit dan apa yang di bumi semuanya, (sebagai rahmat) daripada-Nya. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang berfikir".

Allah SWT telah menurunkan ayat yang menyadarkan kita bahwa alam seisinya merupakan keagunganNya yang nyata. Kalimat "bagi kaum yang berfikir" menunjukkan bahwa manusia harus selalu menggali kekayaan alam semesta agar selalu mengingat kebesaran Allah SWT. Manusia yang telah diberi akal untuk berfikir sepatutnya selalu taat dan bersyukur terhadap karunia yang telah Allah berikan. Allah telah menuliskan dalam Al Quran surah Shad ayat 29:

Artinya: "Ini adalah sebuah kitab yang Kami turunkan kepadamu penuh dengan berkah supaya mereka memperhatikan ayat-ayatnya dan supaya mendapat pelajaran orang-orang yang mempunyai fikiran".

Ayat tersebut menegaskan bahwa sebagai manusia yang berakal, kita harus memperhatikan serta mempelajari kelimpahan nikmat yang ternyata telah Allah tuliskan dalam kitab yang Ia turunkan. Setiap ayat yang Allah SWT turunkan mempunyai manfaat bagi kehidupan hambaNya. Kalimat "supaya mendapat pelajaran orang-orang yang mempunyai fikiran" menunjukkan bahwa Allah mau hambaNya terus belajar dan menggali kebesaran Allah sebagaimana yang telah Ia tuliskan disetiap ayatNya. Kebesaran tersebut nyata adanya dalam kehidupan di alam semesta ini.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

- 1. Uji aktivitas larvasida terhadap nyamuk *Culex* sp. dengan hasil terbaik adalah ekstrak kental kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C.) menggunakan pelarut nheksana mulai dari konsentrasi 1% sampai 9% dengan nilai LC₅₀ tertinggi yaitu bernilai mutlak (0 mg/KgBB) dan mortalitas 100%.
- 2. Hasil analisis yang terkandung dalam ekstrak kental kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D. C.) menggunakan pelarut n-heksana dalam uji fitokimia adalah ekstrak menggandung triterpenoid dan berdasarkan identifikasi GC-MS mengandung senyawa golongan monoterpene seskuiterpen serta ester dan puncak tertinggi yaitu δ-*Cadinene* yang tergolong dalam senyawa siskuiterpen.

5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaplikasian ekstrak kental saat perlakuan uji larvasida agar ekstrak dapat menyebar secara merata sehingga bekerja dengan maksimal. Penggunaan pengemulsi yang lebih baik agar ekstrak dapat lebih menyatu dengan media air serta proses untuk menghilangkan bau, warna dan rasa ketika pengaplikasian. Purlu dilakukan upaya khusus untuk penyimpanan ekstrak sehingga meminimalisir kerusakan senyawa pada ekstrak. Serta perlu dilakukan uji larvasida dengan ekstrak kental pelarut n-heksana berkonsentrasi kurang dari 1% untuk mengetahui batas minimum penggunaan ekstrak.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad S.A., 1986. Kimia Organik Bahan Alam. Penerbit Karunika, Jakarta.
- Adhiksana, A. (2017). Perbandingan Metode Konvensional Ekstraksi Pektin dari Kulit buah Pisang dengan Metode Ultrasonik. *Journal of Research and Technology*, 3(2).
- Adnan, M. 1997. *Teknik Kromatografi Untuk Analisis Bahan Makanan*. Yogyakarta: Penerbit Andi.
- Adrianto, H., Yotopranooto, S., Hamidah. 2014. Efektifitas Ekstrak Daun Jeruk Purut (*Cytrus hystrix*), Jeruk Limau (*Citrus amblycarpa*), dan Jeruk Bali (*Citrus maxima*) Terhadap Larva *Aedes aegypti*. *Aspirator*. *Vol* 6 (1): 1-6.
- Albrigo, LG dan Carter, RD. 1977. Structure of Citrus Fruits In Relation to Processing. Connecticut: The AVI Publishing Compny inc.
- Ariani, Anidya. 2013. Saponin Akasia (*Acacia auriculiformis* A.cunn) sebagai Pembusa Alami dan Agensia Antibakteri dalam Sabun Cair. *Skripsi*. Universitas Kristen Satya Wacana.
- Astuti, M.A.W., 2011, Uji Daya Ekstrak Bunuh Bunga Kecombrang (*Nicolaia speciosa* (Blume) Horan.) Terhadap Larva Nyamuk *Culex* quinquefasciatus Say. *Skripsi*. Fakultas Teknobiologi, Universitas Atmajaya Yogyakarta.
- Atta, R. V., dkk. 2001. *Bioassay Techniques For Drug Development*. Harvard Academic Publishers. Singapore. 223 hal.
- Chappell, joe dan Robert M. Coates. 2010. Comprehensive Natural Products II, 1.16 Sesquiterpenes. Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering. Chemistry and Biology, Volume 1,
- Damanik D.A, dkk. 2019. Ekstraksi Pektin dari Limbah Kulit Jeruk dengan Metode Ekstraksi Gelombang Ultrasonik Menggunakan Pelarut Asam Klorida (HCL). *Jurnal Teknik Kimia USU 8*(2): 85-89.
- Damayanti, 2018, Patogenitas dan Gejala Klinis Kelas Insecta (Nyamuk Culex sp).https://www.academia.edu/36723903/Patogenitas_dan_Gejala_Klinis_K elas_Insecta_Nyamuk_Culex_Sp. Diakses tanggal 26 April 2021.
- Darmapatni, K.A.G, dkk. 2016. Pengembangan Metode GC-MS untuk Penetapan Kadar *Acetaminophen* pada Spesimen Rambut Manusia. *Jurnal Biosains Pascasarjana Vol. 18*.

- Daswi, Dwi Rachmawaty, Megawati, Tahir Ahmad. 2019. Aktivitas Larvasida Ekstrak Kulit Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D.C.) terhadap Larva Nyamuk. (*Anopheles aconitus*). *Media Farmasi p.issn 0216-2083. Vol. XV No. 2.*
- Defiarti, dkk. 2021. Identifikasi Golongan Senyawa Metabolit Sekunder yang Menentukan Toksisitas Ekstrak Kulit Batang Lansium domesticum Varietas Langsat terhadap Larva Artemia salina Leach. Jurnal Ilmu Kimia dan Pendidikan Kimia Volume 10, Edisi 2.
- Departemen Agama Republik Indonesia. 1982. *Al-Quran dan Terjemahannya*. Jakarta: Widya Cahaya.
- Departemen Agama RI. 2011. al-Qur'an dan Tafsirnya Vol. 10. Jakarta: Widya Cahaya.
- Effendi MI. 1979. Metode Biologi Perikanan. Yayasan Dewi Sri. Bogor
- Fessenden, R.J. and Fessenden, J.S., 1982, *Kimia Organik*, diterjemahkan oleh Pudjaatmakan, A. H., Edisi Ketiga, Jilid 1, 237-239. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Fuadi, Anwar. 2012. Ultrasonik sebagai Alat Bantu Ekstraksi Oleoresin Jahe. Jurnal Teknologi. 12(1):14-21.
- Gandjar, I.G. dan Rohman, A. 2012. *Analisis Obat Secara Spektrofotometri dan Kromatografi*. Pustaka Pelajar. Yogyakarta.
- Garcia J.L.L., Castro M.D.L., 2004. Ultrasound-assisted soxhlet extraction: an expeditive approach for solid sample treatment. Application to the extraction of Total Fat from oleaginous seeds. *Journal of Chromatography A, Ed. 1034*. 237-242
- G.Svehla. (1990). Vogel (Buku Teks Analisis Anorganik Kualitatif Makro dan Semimiko). Penerjemah: L.Setiono, A. Hadyana Pudjaatmaka. Jakarta: PT. Kalman Media Pusaka.
- Gunawan dan Mulyani. 2004. Ilmu Obat Alam, Jilid 1. Jakarta: Penerbit Swadaya.
- Halimah, N. 2010. Uji Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Tanaman AntingAnting (Acalypha indica Linn.) terhadap Larva Udang Artemia salina Leach. *Skripsi* Diterbitkan. Malang: Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Haryanto, Brian Yulistiawan dan Vicky Kristanto. 2018. Optimasi Ekstraksi Senyawa Fenolik Kulit Jeruk Purut Dengan Metode *Ultrasound-Assisted Extraction. Skripsi.* Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.
- Hayana, dkk. 2020. Uji Efektivitas Ekstrak Daun Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) dalam Menghambat Pertumbuhan Larva Nyamuk *Aedes Aegypti. MENARA Ilmu LPPM UMSB Vol. XIV No.02*.

- Hayati, E.K, dan Halimah, N., 2010, Phytochemical Test and Braine Shript Lethaly Test Again Artemia salia Leach of Anting-anting (*Acalypha indica* L.) Plant Extract. *Alchemy*. 1, 2, 53-103.
- Hayati, Inayah dan Kurniawan, I Putu Pebri. 2017. Efektifitas Ekstrak Kulit Buah Jeruk Purut (*Citrus Hystrix* D.C) terhadap Larva *Aedes Aegypti* L. *Journal of Nursing and Public Health, Volume 5 No. 1*.
- Hayati N. 2008.Uji Efikasi Larvasida Nabati dari Perasan Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC) Terhadap Kematian Larva *Aedes aegypti* di Laboratorium B2V2VRP. *Skripsi*. Semarang: Universitas Muhammadiyah Semarang.
- Hermanto. 2008. Aplikasi Alat HPTLC dan GC-MS, Jakarta.
- Ismanto, Andrian Evan dan Rendy Wilianto. 2010. Prarencana Pabrik Limonene Dari Limbah Kulit Jeruk Kapasitas 15 Ton/Hari. *Skripsi*. Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.
- Irawan, C. 2010. Studi Komponen Bioaktif Daun Sirih Merah (Piper cf. arcuatum Blume). *Skripsi*. Universitas Indonesia, Fakultas MIPA, Depok.
- Istianto M, dkk. 2001. Pengaruh Senyawa Limonen Terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Panonychus Citri Mc. (Acarina: Tetranychidae) Pada Kondisi Laboratorium. *Journal Agrosains*. 14 (1): 45-57.
- Jenova, R. 2009. Uji Toksisitas Akut Yang Diukur Dengan Penentuan LD50 Ekstrak Herba Putri Malu (*Mimosa pudica* L.) Terhadap Mencit BALB/C, *Skripsi*. Universitas Diponegoro, Semarang.
- Joko S. 2010. Bertani jeruk purut. Yogyakarta:Pustaka baru press.
- Jones, W.P., Kinghorn, A.D. 2006. *Extraction of Plant Secondary Metabolites. In: Sharker, S.D. Latif Z., Gray A.L, eds. Natural Product Isolation.* 2nd edition. Humana Press. New Jersey.
- Julianto, Tatang Shabur. 2019. *Fitokimia Tinjauan Metabolit Sekunder dan Skrining Fitokimia*. Yogyakarta: Universitas Islam Indonesia.
- Kardinan, Agus. 2000. *Pestisida Nabati, Ramuan dan Aplikasinya*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Kasi, Pauline Destinugrainy. 2012. Pemanfaatan Ekstrak Daun Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) Sebagai Insektisida Nabati Terhadap Hama Walang Sangit (*Leptocorisa oratorius*) Pada Tanaman Padi. *Jurnal Dinamika 03*(1): halaman 12-18.
- Ketaren, S. 2005. *Minyak Dan Lemak Pangan*. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia.

- Koswara, S. 2009. *Menyuling dan Menepungkan Minyak Asiri Daun Jeruk Purut* http://www.ebookpangan.com/ARTIKEL/MENYULINGDANMENEPUN GKANMINYAKATSIRI.pdf. Diakses tanggal 30 April 2020.
- Lestari, Titik. 2016. Pemanfaatan Jeruk Purut (*Citrus hystrix*) Sebagai Biolarvasida. *Kebidanan Dan Kesehatan Tradisional, Volume 1, No 2.* Hlm 100-144.
- Liew, S. S., et al. (2018). 'Phytochemical Composition and In Vitro Antioxidant Activities of Citrus sinensis Peel Extract'. *PeerJ Journal*, 6 (1),
- Mariana, dkk. 2013. Analisis Senyawa Flavonoid Hasil Fraksinasi Ekstrak Diklorometana Daun Keluwih. *IPA Univeristas Mataram*, 6(2), 50–55.
- Marjoni, R. 2016. Dasar-Dasar Fitokimia. CV. Trans Info Media. Jakarta.
- Marliana, S. D., V. Suryanti, dan Suyono. 2005. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (Sechium edule Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol. *Biofarmasi*, *3* (1). Pp. 26-31.
- Maryanti, E., Marta, R. D., Hamidy, M.Y. 2011, Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC) Sebagai Larvasida Nyamuk *Aedes aegypti, JIK, Jilid 5, No.* 2.
- Mason, TJ. 1990. Sonochemistry: The Use of Ultrasonic in Chemistry. Volume ke-1. Cambridge (UK): Royal Society of Chemistry.
- Menegristek Bidang Pendayagunaan dan Pemasyarakatan Ilmu Pengetahuan dan Teknologi. 2010. *Minyak Kulit Jeruk*. http://opensource.telkomspeedy.com/repo/abba/v12/artikel/pangan/DIPPTI/minyak_kulit_jeruk.pdf. Diakses tanggal 19 Mei 2021.
- Muthmainnah, B. 2017. Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Dari Ekstrak Etanol Buah Delima (*Punica Granatum* L.) Dengan Metode Uji Warna. *Media Farmasi Vol. XIII No.* 2.
- Ningsih, Dian Riana, dkk. 2016. Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Serta Uji Aktivitas Ekstrak Daun Sirsak Sebagai Antibakteri. *Molekul, Vol. 11*. No. 1.
- Noverita, Jayuska A, Alimuddin AH. 2014. Uji Aktivitas Antirayap Minyak Atsiri Kulit Jeruk Purut (*Cytrus hystric D.C*) Terhadap Rayap Tanah (*Coptotermes Sp*). *Jurnal Kimia Khatulistiwa Vol. 3. No.* 2. Universitas Tanjungpura.
- Nurhaifah, D., dan Sukesi, T. W. 2015. Efektivitas Air Perasan Kulit Jeruk Manis sebagai Larvasida Nyamuk *Aedes aegypti. Kesmas: National Public Health Journal*, 9(3), 207.
- Oktaviani, Nila, dkk. 2012. Jumlah Densitas Larva dan Pupa Nyamuk *Aedes Aegypti* Di Desa Bebel Di Kecamatan Wonokerto. *Jurnal Pena. Vol.* 22 no. 1

- Pedro, M. Gutierrez, Aubrey N A, Bryle Adrian L. Eugenio, Santos MFL. 2014. Larvicidal Activity of Selected Plant Extracts against the Dengue vector *Aedes aegypti* Mosquito. *Int. Res. J. Biological Sci*, 3(4).
- Pertiwi, Mega, dkk. 2014. Isolasi Saponin Daun Petai Cina (*Leucaena leucocephala* (Lam.) De Wit.) dan Aplikasinya Sebagai Pembusa Alami serta Agensia Antibakteri dalam Shampo. *Skripsi*. Universitas Kristen Satya Wacana.
- Poerwanto, Roedhy, dkk. 2019. *Kajian Produksi, Mutu dan Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut (Citrus hystrix DC.) dengan Perbedaan Teknik Budidaya dan Pasca Panen.* http://repository.ipb.ac.id/handle/123456789/99989. Bogor: IPB (Bogor Agricultural University).
- Prahasiwi, Masitoh Suryaning. 2022. Pengaruh Jenis Asam dan Suhu Ekstraksi Berbantu Gelombang Ultrasonik Terhadap Karakteristik Pektin Kulit Buah Jeruk Purut (*Citrus Hystrix* Dc). *Artikel*. Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Yayasan Pharmasi Semarang.
- Prasetyowati, Heni. 2007. Kehidupan Nyamuk *Culex. P2B2 Depkes R.I Vol. II, No.* 02.
- Pratiwi, et al. 2020. Mortalitas Larva Nyamuk Aedes Aegypti dari Lima Kelurahan di Kota Balikpapan terhadap Temefos dan Bacillus thuringiensis var. israelensis. Jurnal Pro-Life Volume 7 Nomor 1.
- Prayudo, dkk. 2015. Koefisien Transfer Massa Kurkumin dari Temulawak. *Jurbal Ilmiah Widya Teknik Volume 14 nomor 01*.
- Prijono, D. 1998. Insecticidal Activity of Meliaceous Seed Extracts Againts Crocidolomia binotalis Zeller. *Buletin Hama dan Penyakit Tumbuhan.10 (1):* 1-7.
- Prijono, D. 2008. *Insektisida nabati: Prinsip, pemanfaatan, dan pengembangan. Departemen Proteksi Tanaman*. Fakultas Pertanian. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Purwatresna. E. 2012. Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Air dan Daun Sirsak Secara Vitro Melalui Inhibisi Etanol In Enzim A-Glukosidase. Skripsi. Institut Pertanian Bogor.
- Rafsanjani, Mukhamad Kabul dan Widya Dwi Rukmi Putr. 2015. Karakterisasi Ekstrak Kulit Jeruk Balimenggunakan Metode *Ultrasonic Bath* (Kajian Perbedaan Pelarut Dan Lama Ekstraksi). *Jurnal Pangan Danagroindustri Vol. 3* No 4 P.1473-1480.
- Rahmah, R. 2014. Isolasi Dan Uji Efektivitas Antimalaria Isolat Senyawa Alkaloid Tanaman Anting-Anting (Acalypha indica Linn.) Secara *In Vivo* Mencit Jantan. *Skripsi*. UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.

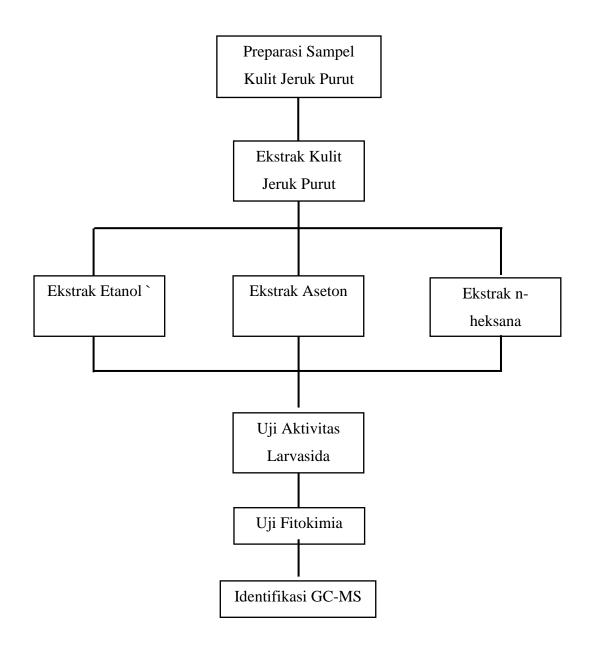
- Rahmani, Akmalia, dkk. 2014. Uji Toksisitas Ekstrak *Selaginella willdenowii* terhadap Kelangsungan Hidup Juvenil Ikan Mas (*Cyprinus* sp.). *Jurnal Ilmiah: Biologi Eksperimen dan Keanekaragaman Hayati Vol.* 2 No. 1.
- Rahmayanti, R., dkk. 2016. Uji Potensi Kulit Bawang Bombay (*Allium cepa*) Sebagai Larvasida Terhadap Kematian Larva Nyamuk *Aedes aegypti. Jurnal Edukasi dan Sains Biologi*, 5(1):18-22
- Ramadhani, T. 2009. Komposisi Spesies dan Dominasi Nyamuk *Culex* Di Daerah Endemis Filariasis Limfatik Di Kelurahan Pabean Kota Pekalongan. *Balaba*. *5*(2), pp.7-11
- Riskullah, Faiz dan Savira Noviah Isnani. 2016. Ekstraksi Minyak Jeruk Dari Kulit Jeruk Manis (*Citrus Aurantium*) Dengan Metode *Microwave Ultrasonic Steam Diffusion* sebagai Alternatif Bahan Pengusir Nyamuk. *Skripsi*. Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya.
- Robinson, T. 1985. Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi. ITB Press. Bandung.
- Rosyidah, Kholifatu. 2011. Isolasi Dan Uji Sitotoksik Senyawa Limonen Dari Kulit Batang Kasturi (*Mangifera casturi*). *BIOSCIENTIAE Volume 8*, Nomor 2.
- Rumagit, Hanna M, dkk. 2015. Uji Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Etanol Spons *Lamellodysidea herbacea*. *Jurnal Ilmiah Farmasi UNSRAT Vol. 4 No. 3*.
- Rumengan, A. P. 2010. Uji Larvasida Nyamuk (*Aedes aegypti*) Dari Ascidian (*Didemnum molle*). *Jurnal Perikanan dan Kelautan*, 6(2), 83-86.
- Salsabilla, Mutiara. 2021. Kajian Literatur Uji Biolarvasida Ekstrak Kulit Jeruk Manis (*Citrus sinensis*) Terhadap Larva *Aedes aegypti. Skripsi.* Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Sangi, M.; Runtuwene, M.R.J.; Simbala, H.E.I. dan Makang, V.M.A. 2008. Analisis Fitokimia Tumbuhan Obat di Kabupaten Minahasa Utara. *Chemistry Progress.* 1,47-53.
- Sarwono, 2001. *Khasiat dan manfaat jeruk nipis: Mengenal jeruk nipis.* Jakarta: Agro Media Pustaka.
- Savova, M., T. Kolusheva, A. Stourza, and I. Seikova. 2007. "The Use of Group Contribution Method for Predicting The Solubility of Seed Polypehenol of Vitis Vinifera L. in Solvent Mixtures". *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy* 42 (3): 295–300.
- Sekarsari, S., dkk. 2019. Pengaruh Suhu Dan Waktu Ekstraksi Dengan Gelombang Ultrasonik Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.). *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, 8(3), 267-277.

- Septiana, Aisyah Tri dan Ari Asnani. 2012. Kajian Sifat Fisikokimia Ekstrak Rumput Laut Coklat *Sargassum Duplicatum* Menggunakan Berbagai Pelarut Dan Metode Ekstraksi. *AGROINTEK Volume 6*, No.1
- Setyowati, W.A.E, dkk. 2014. Skrining Fitokimia dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Durian (*Durio zibethinus Murr.*) Varietas Petruk. *Jurnal Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia VI*. ISBN (979363175-0): 271-280.
- Siadi, K. (2012). Ekstrak Bungkil Biji Jarak Pagar (*Jatropha Curcas*) Sebagai Biopestisida Yang Efektif Dengan Penambahan Larutan Nacl. *Jurnal Mipa*, 35(1).
- Soegijanto, S., 2006. *Epidemiologi Demam Berdarah Dengue*. Surabaya: Airlangga University Press
- Sparkman, O. D., Z. E. Penton, dan F. G. Kitson. 2011. *Gas Chromatography and Mass Spectrometry: A Practical Guide 2nd edition*. Oxford: Elsevier Inc.
- Sriwahyuni, I. 2010. Uji Fitokimia Ekstrak Tanaman Anting-Anting (Acalypha indica Linn) dengan Variasi Pelarut dan Uji Toksisitas Menggunakan Brine Shrimp (Artemia salina Leach). Skripsi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang
- Sulistyarini, Indah, dkk. 2020. Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Batang Buah Naga (*Hylocereus polyrhizus*). *Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta*.
- Suryanita, dkk. 2019. Identifikasi Senyawa Kimia Dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Bali (*Citrus maxima* Merr.). *MFF 23(1):*16-20.
- Suryanto, Edi dan Mercy R.I. Taroreh. 2019. *Ultrasound-Assisted Extraction* Antioksidan Serat Pangan Dari Tongkol Jagung (*Zea Mays L.*). *Chem. Prog. Vol. 12*. No. 2
- Susilo, Bambang, dkk. 2016. Pengaruh Pretreatment dan Lama Waktu Ekstraksi terhadap Karakteristik Ekstrak Kulit Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D.C) Menggunakan Ultrasonic Assisted Extraction (UAE). *Jurnal Keteknikan Pertanian Tropis dan Biosistem Vol. 4 No. 3*.
- Ullmann, *Ullmann's Encyclopedia of Chemistry Industry 5 th ed. Vol. A 11.* 1988, Weinheim Germany: VCH MBH
- Utami, Novi Fajar, dkk. 2020. Pengaruh Berbagai Metode Ekstraksi Pada Penentuan Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol Daun Iler (*Plectranthus Scutellarioides*). Fitofarmaka Jurnal Ilmiah Farmasi Vol.10, No.1.00
- Verdiana, Melia, dkk. 2018. Pengaruh Jenis Pelarut pada Ekstraksi Menggunakan Gelombang Ultrasonik terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Buah Lemon (*Citrus limon* (Linn.) Burm F.). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan Vol.* 7, No.4, 213-222.

- Wati, F. A. 2010. Pengaruh Air Perasan Kulit Jeruk Manis (*Citrus aurantium* sub spesies sinensis) terhadap Tingkat Kematian Larva Aedes aegypti Instar III In Vitro *Skripsi*.
- WHO. 2005. *Guidelines for Laboratory and Field Testing of Mosquito Larvicides*. World Health Organization, 1–41.
- WHO, 2013. Global Programe To Eliminate Lymphatic Filariasis:Practical Entomologi. Geneva.
- Wibaldus, Jayuska A dan Puji Ardiningsih. 2016. Bioaktivitas minyak atsiri kulit buah jeruk nipis (citrus aurantifolia) terhadap rayap tanah (coptotermes sp.). *JKK Vol 5(1)*, halaman 44-51. Fakultas MIPA: Universitas Tanjungpura.
- Widyasari, A, R. 2008. Karakterisasi dan Uji Antibakteri Senyawa Kimia Fraksi n-Heksana dari Kulit Batang Pohon Angsret (Spathoda campanulata Beauv). *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Brawijaya.
- Widyastuti, Lucia Maria Santoso, Riyanto. 2017. Pengaruh Ekstrak Kulit Jeruk Purut (*Citrus hystrix* Dc.) terhadap penurunan Kadar Asam Urat Mencit Jantan (*Mus musculus*l.) Yang Diinduksi Kalium Bromat dan Sumbangannya Pada Pembelajaran Biologi Sma. *Jurnal Pembelajaran Biologi, Volume 4, Nomor 1.*
- Wiradnyani, Ni Ketut, dkk. 2014. Komposisi Senyawa Penyusun Minuman Sinom (curcuma domestica val.- tamarindus indica l.). Media Ilmiah Teknologi Pangan. Vol. 1, No. 1, 10 23.
- Wuri et al. 2019. Jenis dan Morfologi Vektor Filariasis Asal Kabupaten Malaka. Prosiding Seminar Nasional VII FKH Undana Swiss Bel-inn Kristal Kupang.
- Yunita, E.A.N.H., dkk. 2009. Ekstrak Daun Teklan (*Eupatorium riparium*) terhadap Mortalitas dan Perkemabangan Larva *Aedes aegegypri. Bioma Vol 11*(1): 11-17.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan penelitian



Lampiran 2. Diagram alir

L2.1 Preparasi Sampel

Sampel

- ditimbang 8 kg buah jeruk purut
- dicuci dengan air bersih
- dipisahkan bagian kulit dengan buahnya
- dipotong kecil-kecil ±3 cm x 3 cm
- dikeringkan dalam oven dengan suhu 55°C selama 42 jam.
- dihaluskan menggunakan blender
- diayak dengan ukuran 60 mesh

Hasil

L2.2 Ekstraksi Ultrasonik

Sampel

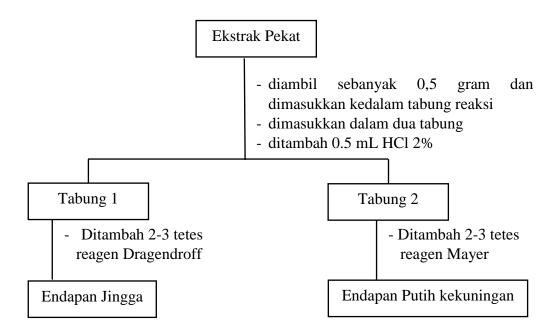
- ditimbang 50 gram dan dimasukkan ke Erlenmeyer
- ditambahkan 500 mL pelarut
- diekstraksi menggunakan ultrasonik selama 60 menit pada suhu kamar dengan frekuensi 47 KHz
- disaring hasil ekstraksi
- dipekatkan sampel menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 40°C
- ditimbang rendemen
- dihitung rendemen

Hasil

Catatan: dilakukan perlakuan yang sama menggunakan pelarut etanol, aseton dan n-heksana

L2.3 Uji Fitokimia

L2.3.1 Uji Alkaloid



L2.3.2 Uji Flavonoid

Ekstrak Pekat

- diambil sebanyak 0,5 gram
- dimasukkan kedalam tabung reaksi
- dilarutkan dalam 1-2 mL pelarut
- ditambah serbuk magnesium
- ditambah 4-5 tetes HCl pekat

Warna Merah, Kuning atau Jingga

L2.3.3 Uji Saponin

Ekstrak Pekat

- diambil sebanyak 0,5 gram
- dimasukkan kedalam tabung reaksi
- ditambahkan aquades 1 mL
- dikocok kuat 1 menit
- ditambah 2-3 tetes HCl 1N apabila menimbulkan busa

Busa Stabil

L2.3.4 Uji Tanin

Ekstrak Pekat

- diambil sebanyak 0,5 gram
- dimasukkan kedalam tabung reaksi
- ditambah 2-3 tetes FeCl₃ 1%

Warna hijau kehitaman atau biru kehitaman

L2.3.5 Uji Terpenoid

Ekstrak Pekat

- diambil sebanyak 0,5 gram
- dimasukkan kedalam tabung reaksi
- ditambah 0,5 mL Kloroform
- ditambahkan 0,5 mL asetat anhidrat
- didinginkan
- ditambah 1-2 mL H₂SO₄ pekat

Cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut menandakan adanya triterpenoid Warna hijau kebiruan menandakan adanya steroid

L2.4 Uji Aktivitas Larvasida

L2.4.1 Persiapan Gelas Uji

Peraiapan Gelas Uji

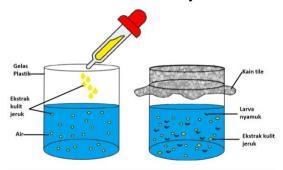
- Gelas uji terbuat dari plastik berbentuk silinder volume ±150 mL
- Dicuci hingga bersih
- Dimasukkan 90 mL aquades

Hasil

L2.4.2 Uji Aktivitas Ekstrak Kulit Jeruk Purut (Citrus hystrix D. C.)

Ekstrak Pekat

- Dibuat pelarut dengan konsentrasi 1%, 3%, 5%, 7%, 9%, kontrol(-) berupa aquades dan kontrol (+) abate
- Diambil 5 mL dan dimasukkan kedalam gelas uji
- Dilakukan secara duplo
- Dimasukkan 10 ekor larva nyamuk dan ditutup dengan kain tile



- Disimpan dengan suhu ruang dan udara terbuka selama 24 jam
- Dihitung jumlah larva yang mati

Hasil

L2.5 Identifikasi Ekstrak Kulit Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D.C.) Menggunakan GC-MS

Ekstrak Pekat

- Diambil 0.5 ml
- Diinjeksikan menggunakan syringe ke dalam tempat GC-MS
- Diidentifikasi menggunakan GC-MS

Hasil

L2.6 Analisis Data

Data Mortalitas

- Dibuat data larva hasil uji aktivitas larvasida dalam bentuk tabel dan grafik.
- Dilakukan uji LC_{50} untuk mengetahui nilai LC_{50} (konsentrasi yang menyebabkan kematian sebanyak 50% dari larva uji) menggunakan analisis probit pada program SPSS24

Hasil

Lampiran 3. Perhitungan

L3.1 Perhitungan rendemen sampel

Rendemen(%) =
$$\frac{A}{B}$$
 x 100%

Keterangan:

A = Berat ekstrak

B = Berat sampel

a. Ekstrak etanol : Rendemen(%) =
$$\frac{10,5814g}{50g}$$
 x 100%

b. Ekstrak aseton : Rendemen(%) =
$$\frac{11,7986g}{50g}$$
 x 100%

c. Ekstrak n-heksana : Rendemen(%) =
$$\frac{1,8841g}{50g}$$
 x 100%

$$= 3,7682\%$$

L3.2 Perhitungan konsentrasi

L3.2.1 Persen massa-volume (%W/V)

$$c = \frac{w}{v} \times 100\%$$

Keterangan:

w = Berat ekstrak (g)

v = volume yang akan dibuat (mL)

c = konsentrasi (%)

a. Konsentrasi 9% : $9\% = \frac{w}{25} \times 100\%$

$$w = \frac{9\% \times 25}{100\%}$$

$$= 2,25g$$

Konsentrasi 9% dibuat dengan 2,25g ekstrak yang dilarutkan dalam 25 mL aquades, kemudian dilakukan pengenceran untuk konsentrasi lebih rendah.

L3.2.2 Pengenceran

$$C_1V_1=C_2V_2$$

$$V1 = \frac{C2V2}{C1}$$

Keterangan:

 V_1 = volume larutan asal (mL)

 $C_1 = \text{konsentrasi awal (\%)}$

 V_2 = volume yang akan dibuat (mL)

 C_2 = konsentrasi akhir (%)

a. Konsentrasi 7% : V1 =
$$\frac{7\% \times 10 \text{mL}}{9\%}$$

$$= 7.7 \text{mL}$$

b. Konsentrasi 5% :
$$V1 = \frac{5\% \times 10mL}{9\%}$$

$$=5.5mL$$

c. Konsentrasi 3% : V1 =
$$\frac{3\% \times 10 \text{mL}}{9\%}$$

$$= 3.3 \text{mL}$$

d. Konsentrasi 1%: V1 =
$$\frac{1\% \times 10 \text{mL}}{9\%}$$

$$= 1.1 \text{mL}$$

Lampiran 4. Data Hasil Uji Aktivitas Larvasida

L4.1 Data Perhitungan Mortalitas

Mortalitas (%) =
$$\frac{A}{B}$$
 x 100%

Keterangan:

A = Jumlah individu larva nyamuk yang mati

B = Total individu larva nyamuk mula-mula

a. Mortalitas larva pada ekstrak etanol

Data mortalitas ekstrak etanol							
Konsentrasi	P1	P2	Rata-rata kematian	Mortalitas (%)			
0% (Kontrol negatif)	0	0	0	0			
1%	7	7	7	70			
3%	8	9	8,5	85			
5%	10	10	10	100			
7%	10	10	10	100			
9%	10	10	10	100			
Abate (Kontrol positif)	10	10	10	100			

Keterangan: P1: pengulangan 1

P2: pengulangan 2

b. Mortalitas larva pada ekstrak aseton

Data mortalitas ekstrak aseton							
Konsentrasi	P1	P2	Rata-rata kematian	Mortalitas (%)			
0% (Kontrol negatif)	0	0	0	0			
1%	4	5	4,5	45			
3%	6	7	6,5	65			
5%	9	9	9	90			
7%	9	9	9	90			
9%	7	8	7,5	75			
Abate (Kontrol positif)	10	10	10	100			

Keterangan: P1: pengulangan 1

P2: pengulangan 2

c. Mortalitas larva pada ekstrak n-heksana

Data mortalitas ekstrak n-heksana							
Konsentrasi	P1	P2	Rata-rata kematian	Mortalitas (%)			
0% (Kontrol negatif)	0	0	0	0			
1%	10	10	10	100			
3%	10	10	10	100			
5%	10	10	10	100			
7%	10	10	10	100			
9%	10	10	10	100			
Abate (Kontrol positif)	10	10	10	100			

Keterangan: P1: pengulangan 1

P2: pengulangan 2

L4.2 Data Perhitungan Mortalitas dan LC50 dengan SPSS dan Ms.Excel

L4.2.1 Data Mortalitas

Kematian Ekstrak Etanol

			Subset for alpha = 0.05			
	Konsentrasi	N	1	2	3	4
Tukey HSD ^a	0%	2	.00			
	1%	2		7.00		
	3%	2			8.50	
	5%	2				10.00
	7%	2				10.00
	9%	2				10.00
	abate	2				10.00
	Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2,000.

Kematian Ekstrak Aseton

				Subse	t for alpha	= 0.05	
	Konsentrasi	N	1	2	3	4	5
Tukey HSD ^a	0%	2	.00				
,	1%	2		4.50			
	3%	2			6.50		
	9%	2			7.50	7.50	
	5%	2				9.00	9.00
	7%	2				9.00	9.00
	abate	2					10.00
	Sig.		1.000	1.000	.412	.118	.412

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2,000.

Kematian Ekstrak N-heksana

			Sub	set
	Konsentrasi	N	1	2
Tukey HSD ^{a,b}	0%	2	.00	
	1%	2		10.00
	3%	2		10.00
	5%	2		10.00
	7%	2		10.00
	9%	2		10.00
	abate	2		10.00
	Sig.		1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 9,02E-031.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2,000.

b. Alpha = ,05.

	Descr	iptive Stat	tistics	
Dependent Va	riable: Mortali	tas		
Konsentrasi	Pelarut	Mean	Std. Deviation	N
1	Etanol	70.00	.000	2
	Aseton	45.00	7.071	2
	N-heksan	100.00	.000	2
	Total	71.67	24.833	6
3	Etanol	85.00	7.071	2
	Aseton	65.00	7.071	2
	N-heksan	100.00	.000	2
	Total	83.33	16.330	6
5	Etanol	100.00	.000	2
	Aseton	90.00	.000	2
	N-heksan	100.00	.000	2
	Total	96.67	5.164	6
7	Etanol	100.00	.000	2
	Aseton	90.00	.000	2
	N-heksan	100.00	.000	2
	Total	96.67	5.164	6
9	Etanol	100.00	.000	2
	Aseton	75.00	7.071	2
	N-heksan	100.00	.000	2
	Total	91.67	13.292	6
Total	Etanol	91.00	12.867	10
	Aseton	73.00	18.288	10
	N-heksan	100.00	.000	10
	Total	88.00	16.897	30

1. Konsentrasi							
Dependent Variable: Mortalitas							
Konsentrasi	Mean	Std.	95% Confidence Interval				
		Error	Lower Bound	Upper Bound			
1	71.667	1.491	68.489	74.844			
3	83.333	1.491	80.156	86.511			
5	96.667	1.491	93.489	99.844			
7	96.667	1.491	93.489	99.844			
9	91.667	1.491	88.489	94.844			

2. Pelarut								
Dependent Variable: Mortalitas								
Pelarut	Mean	Std.	95% Confidence Interval					
		Error	Lower Bound	Upper Bound				
Etanol	91.000	1.155	88.539	93.461				
Aseton	73.000	1.155	70.539	75.461				
N-heksan	100.000	1.155	97.539	102.461				

Tests of Between-Subjects Effects								
Dependent Variable: Mortalitas								
Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.			
Corrected Model	8080.000ª	14	577.143	43.286	.000			
Intercept	232320.000	1	232320.000	17424.000	.000			
Konsentrasi	2713.333	4	678.333	50.875	.000			
Pelarut	3780.000	2	1890.000	141.750	.000			
Konsentrasi * Pelarut	1586.667	8	198.333	14.875	.000			
Error	200.000	15	13.333					
Total	240600.000	30						
Corrected Total	8280.000	29						
a. R Squared = ,976 (Adjusted R Squared = ,953)								

	Multiple Comparisons								
Depende	Dependent Variable: Mortalitas								
	(I)	(J)	Mean	Std.	Sig.	95% Co	nfidence		
	Konsen	Konsen	Difference	Error		Inte	rval		
	trasi	trasi	(I-J)			Lower	Upper		
						Bound	Bound		
Tukey	1	3	-11.67 [*]	2.108	.000	-18.18	-5.16		
HSD		5	-25.00 [*]	2.108	.000	-31.51	-18.49		
		7	-25.00*	2.108	.000	-31.51	-18.49		
		9	-20.00*	2.108	.000	-26.51	-13.49		
	3	1	11.67*	2.108	.000	5.16	18.18		
		5	-13.33 [*]	2.108	.000	-19.84	-6.82		
		7	-13.33*	2.108	.000	-19.84	-6.82		
		9	-8.33 [*]	2.108	.010	-14.84	-1.82		

	5	1	25.00 [*]	2.108	.000	18.49	31.51
		3	13.33 [*]	2.108	.000	6.82	19.84
		7	.00	2.108	1.000	-6.51	6.51
		9	5.00	2.108	.177	-1.51	11.51
	7	1	25.00 [*]	2.108	.000	18.49	31.51
		3	13.33 [*]	2.108	.000	6.82	19.84
		5	.00	2.108	1.000	-6.51	6.51
		9	5.00	2.108	.177	-1.51	11.51
	9	1	20.00*	2.108	.000	13.49	26.51
		3	8.33 [*]	2.108	.010	1.82	14.84
		5	-5.00	2.108	.177	-11.51	1.51
		7	-5.00	2.108	.177	-11.51	1.51
LSD	1	3	-11.67*	2.108	.000	-16.16	-7.17
		5	-25.00 [*]	2.108	.000	-29.49	-20.51
		7	-25.00 [*]	2.108	.000	-29.49	-20.51
		9	-20.00*	2.108	.000	-24.49	-15.51
	3	1	11.67 [*]	2.108	.000	7.17	16.16
		5	-13.33 [*]	2.108	.000	-17.83	-8.84
		7	-13.33 [*]	2.108	.000	-17.83	-8.84
		9	-8.33*	2.108	.001	-12.83	-3.84
	5	1	25.00 [*]	2.108	.000	20.51	29.49
		3	13.33 [*]	2.108	.000	8.84	17.83
		7	.00	2.108	1.000	-4.49	4.49
		9	5.00 [*]	2.108	.032	.51	9.49
	7	1	25.00 [*]	2.108	.000	20.51	29.49
		3	13.33 [*]	2.108	.000	8.84	17.83
		5	.00	2.108	1.000	-4.49	4.49
		9	5.00 [*]	2.108	.032	.51	9.49
	9	1	20.00 [*]	2.108	.000	15.51	24.49
		3	8.33 [*]	2.108	.001	3.84	12.83
		5	-5.00 [*]	2.108	.032	-9.49	51
		7	-5.00 [*]	2.108	.032	-9.49	51

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 13,333.

^{*.} The mean difference is significant at the ,05 level.

Mortalitas Konsentrasi

Tukey HSD^{a,b}

Konsentrasi	N	Subset				
		1	2	3		
1	6	71.67				
3	6		83.33			
9	6			91.67		
5	6			96.67		
7	6			96.67		
Sig.		1.000	1.000	.177		

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 13,333.

- a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6,000.
- b. Alpha = ,05.

	Multiple Comparisons						
Dependent Variable: Mortalitas							
	(1)	(J)	Mean	Std.	Sig.	95% Confidence	
	Pelarut	Pelarut	Differen	Error		Inte	rval
			ce (I-J)			Lower	Upper
						Bound	Bound
Tukey	Etanol	Aseton	18.00 [*]	1.633	.000	13.76	22.24
HSD		N-heksan	-9.00 [*]	1.633	.000	-13.24	-4.76
	Aseton	Etanol	-18.00 [*]	1.633	.000	-22.24	-13.76
		N-heksan	-27.00 [*]	1.633	.000	-31.24	-22.76
	N-	Etanol	9.00*	1.633	.000	4.76	13.24
	heksan	Aseton	27.00 [*]	1.633	.000	22.76	31.24
LSD	Etanol	Aseton	18.00 [*]	1.633	.000	14.52	21.48
		N-heksan	-9.00 [*]	1.633	.000	-12.48	-5.52
	Aseton	Etanol	-18.00 [*]	1.633	.000	-21.48	-14.52
		N-heksan	-27.00 [*]	1.633	.000	-30.48	-23.52
	N-	Etanol	9.00*	1.633	.000	5.52	12.48
	heksan	Aseton	27.00 [*]	1.633	.000	23.52	30.48

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 13,333.

^{*.} The mean difference is significant at the ,05 level.

Mortalitas Pelarut

Tukey HSD^{a,b}

Pelarut	N	Subset		
		1	2	3
Aseton	10	73.00		
Etanol	10		91.00	
N-heksan	10			100.00
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 13,333.

- a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 10,000.
- b. Alpha = ,05.

L4.2.2 Data LC50

Confidence Limits

Etanol

		Etanic	<u> </u>		
	Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound	
PROBIT	.010	.059	.001	.221	
	.020	.079	.001	.265	
	.030	.094	.002	.297	
	.040	.108	.002	.325	
	.050	.120	.003	.349	
	.060	.132	.004	.371	
	.070	.143	.004	.391	
	.080	.154	.005	.410	
	.090	.164	.006	.429	
	.100	.174	.007	.446	
	.150	.225	.012	.528	
	.200	.274	.019	.605	
	.250	.326	.028	.679	
	.300	.380	.040	.756	
	.350	.439	.056	.835	
	.400	.503	.075	.919	
	.450	.574	.101	1.010	
	.500	.653	.135	1.110	
	.550	.743	.179	1.224	
	.600	.848	.238	1.357	
	.650	.971	.319	1.518	

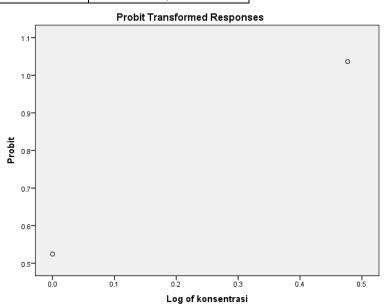
.700	1.121	.429	1.721
.750	1.308	.584	1.996
.800	1.554	.804	2.410
.850	1.899	1.120	3.133
.900	2.444	1.574	4.700
.910	2.598	1.689	5.245
.920	2.776	1.815	5.935
.930	2.985	1.956	6.828
.940	3.238	2.117	8.025
.950	3.553	2.305	9.696
.960	3.962	2.532	12.177
.970	4.531	2.826	16.211
.980	5.414	3.245	23.897
.990	7.169	3.990	44.561

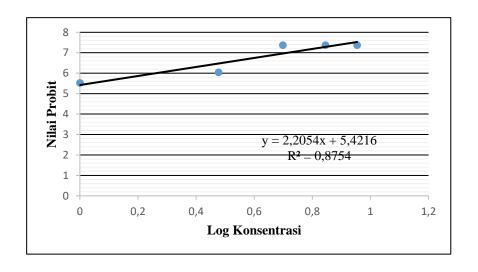
PERHITUNGAN LC50 ETANOL

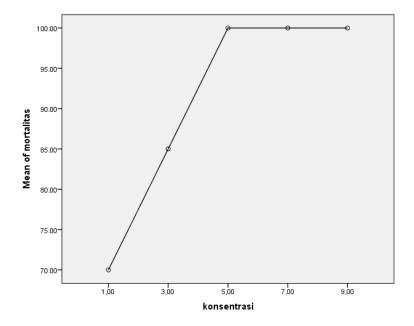
Konsent	Log	Jumlah	Jumlah Larva yang			Persen	Nilai
rasi (%)	Konsentrasi	Larva		M	ati	Mortali	Probit
		Uji	1	2	Rata-rata	tas (%)	
		(ekor)					
1	0	10	7	7	7	70	5,52
3	0,47712125	10	8	9	8,5	85	6,04
	5						
5	0,69897000	10	10	10	10	100	7,37
	4						
7	0,84509804	10	10	10	10	100	7,37
9	0,95424250	10	10	10	10	100	7,37
	9						
	$LC_{50} = 0,6439$						

formula Log konsentrasi =log(konsentrasi)
formula rata-rata =SUM(blok data)/pengulangan
formula % mortalitas =rata-rata/jumlah larva uji*100
y=(log konsentrasi 50%) y=5
x=(y-b)/a
Lc50=power(10;nilai x)

y=ax+b	5=2,2054x+5,4216
у	5
a	2,2054
b	5,4216
x=(y-b)/a	
X	-0,191167135
Lc ₅₀	0,643921409







Confidence Limits

Aseton

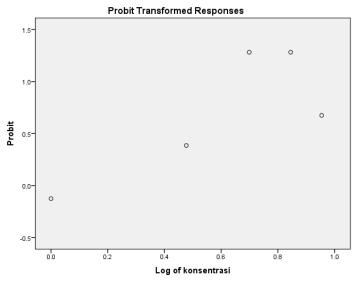
	Ascion							
	Probability	95% Cor	fidence Limits for	konsentrasi				
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound				
PROBIT	.010	.015	.000	.130				
	.020	.026	.000	.178				
	.030	.035	.000	.217				
	.040	.045	.000	.253				
	.050	.055	.000	.286				
	.060	.065	.000	.317				
	.070	.075	.000	.348				
	.080	.085	.000	.378				
	.090	.096	.000	.407				
	.100	.107	.000	.437				
	.150	.169	.001	.582				
	.200	.243	.002	.734				
	.250	.331	.006	.897				
	.300	.438	.012	1.076				
	.350	.567	.024	1.277				
	.400	.724	.045	1.508				
	.450	.918	.083	1.780				
	.500	1.159	.151	2.111				
	.550	1.463	.272	2.530				
	.600	1.855	.485	3.100				
	.650	2.370	.852	3.960				

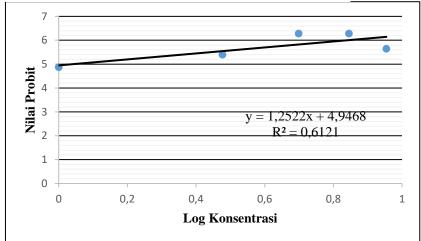
.700	3.068	1.444	5.478
.750	4.054	2.281	8.697
.800	5.529	3.324	16.618
.850	7.937	4.639	39.287
.900	12.511	6.577	124.417
.910	13.965	7.115	165.318
.920	15.736	7.736	225.483
.930	17.944	8.468	317.693
.940	20.778	9.354	466.633
.950	24.560	10.462	724.595
.960	29.891	11.911	1217.240
.970	38.058	13.943	2307.640
.980	52.468	17.151	5413.735
.990	87.031	23.677	20837.569

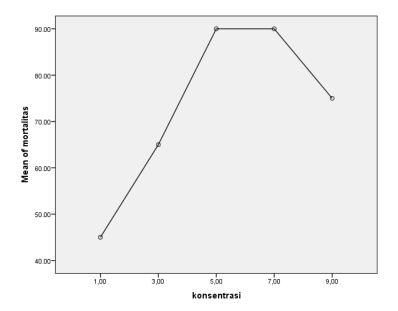
PERHITUNGAN LC₅₀ ASETON

Konse	Log	Jumlah	Jumlah Larva yang			Persen	Nilai		
ntrasi	Konsentr	Larva		M	1ati	Mortalitas	Probit		
(%)	asi	Uji	1 2 Rata-rata			(%)			
		(ekor)							
1	0	10	4	5	4,5	45	4,87		
3	0,477121	10	6	7	6,5	65	5,39		
5	0,69897	10	9	9	9	90	6,28		
7	0,845098	10	9	9	9	90	6,28		
9	0,954243	10	7 8 7,5		75	5,64			
	LC ₅₀ = 1,1027								

y=ax+b	5=1,2522x+4,94
	68
У	5
а	1,2522
b	4,9468
x=(y-	
b)/a	
Х	0,042485
Lc50=po	wer(10;nilai x)
LC ₅₀	1,102771







N-heksan

Warnings

No statistics are computed because the ratios of response counts to subject counts are the same, i.e. the slope is zero.

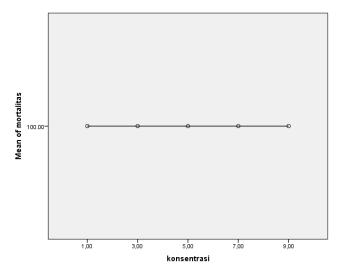
Data Information

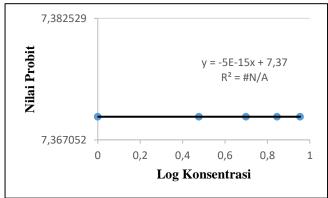
		N of Cases
Valid		5
Rejected	Missing	0
	LOG Transform Cannot be Done	0
	Number of Responses > Number of	0
	Subjects	
Control Gro	up	0

PERHITUNGAN LC50 N-HEKSAN

Konsentrasi	Log	Jumlah	Jumlah Larva yang			Persen	Nilai		
(%)	Konsentrasi	Larva Uji		Ma	ıti	Mortalitas	Probit		
		(ekor)	1 2 Rata-			(%)			
					rata				
1	0	10	10	10	10	100	7,37		
3	0,477121	10	10	10	10	100	7,37		
5	0,69897	10	10	10	10	100	7,37		
7	0,845098	10	10	10	10	100	7,37		
9	0,954243	10	10	10	10	100	7,37		
LC ₅₀ = 0									

y=ax+b	5=-5E-15x+7,37
У	5
а	-5,00E-15
b	7,37
x=(y-b)/a	
х	4,74E+14
LC ₅₀	#NUM!





Tabel Nilai Probit

Table 3.2 Transformation of percentages to probits

%	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0		2.67	2.95	3.12	3.25	3.36	3.45	3.52	3.59	3.66
10	3.72	3.77	3.82	3.87	3.92	3.96	4.01	4.05	4.08	4.12
20	4.16	4.19	4.23	4.26	4.29	4.33	4.36	4.39	4.42	4.45
30	4.48	4.50	4.53	4.56	4.59	4.61	4.64	4.67	4.69	4.72
40	4.75	4.77	4.80	4.82	4.85	4.87	4.90	4.92	4.95	4.97
50	5.00	5.03	5.05	5.08	5.10	5.13	5.15	5.18	5.20	5.23
60	5.25	5.28	5.31	5.33	5.36	5.39	5.41	5.44	5.47	5.50
70	5.52	5.55	5.58	5.61	5.64	5.67	5.71	5.74	5.77	5.81
80	5.84	5.88	5.92	5.95	5.99	6.04	6.08	6.13	6.18	6.23
90	6.28	6.34	6.41	6.48	6.55	6.64	6.75	6.88	7.05	7.33
_	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
99	7.33	7.37	7.41	7.46	7.51	7.58	7.65	7.75	7.88	8.09

Lampiran 5. Dokumentasi



L5.1 Preparasi sampel (a) pencucian



L5.1 Preparasi sampel (b) pengeringan



L5.2 Ekstraksi ultrasonic bath



L5.3 Proses penyaringan



L5.4 Penguapan pelarut dengan rotary evaporator



L5.5 Proses penimbangan ekstrak



L5.6 Proses pembuatan konsentrasi



L5.7 Proses pembuatan konsentrasi (pengenceran)



L5.8 Preparasi hewan uji larva nyamuk



L5.9 Preparasi media uji larvasida

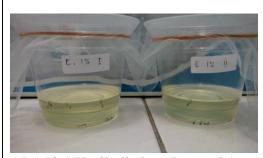


L5.10 Proses pemasukan larva ke media uji larvasida

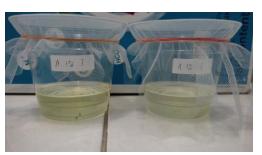


L5.11 Proses uji larvasida

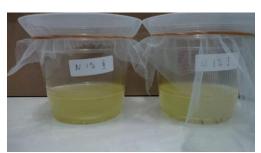
L5.12 Hasil uji larvasida



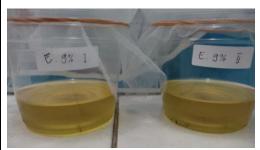
L5.12.1 Hasil uji ekstrak etanol 1%



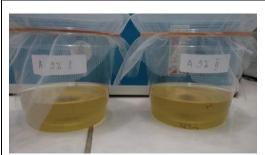
L5.12.2 Hasil uji ekstrak aseton 1%



L5.12.3 Hasil uji ekstrak n-heksana 1%



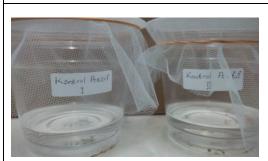
L5.12.4 Hasil uji ekstrak etanol 9%



L5.12.5 Hasil uji ekstrak aseton 9%



L5.12.6 Hasil uji ekstrak n-heksana



L5.12.7 Hasil uji kontrol positif



L5.12.3 Hasil uji kontrol negatif

L5.13 Proses uji fitokimia







Lampiran 6. Hasil GC-MS

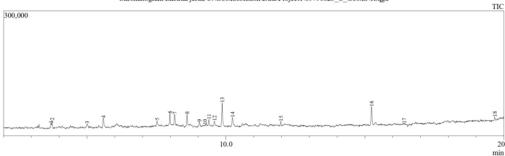
L6.1 Hasil Kromatogram GC

Sample Information

Analyzed by Analyzed Sample Name Sample ID Vial # Injection Volume Tuning File : Admin : 11/08/2023 08.56.51 : Ekstrak jeruk

: 0.50 : C:\GCMSsolution\System\Tune1\11_07_2023.qgt

Chromatogram Ekstrak jeruk C:\GCMSsolution\Data\Project1\09790823_C_GCMS\1i.qgd

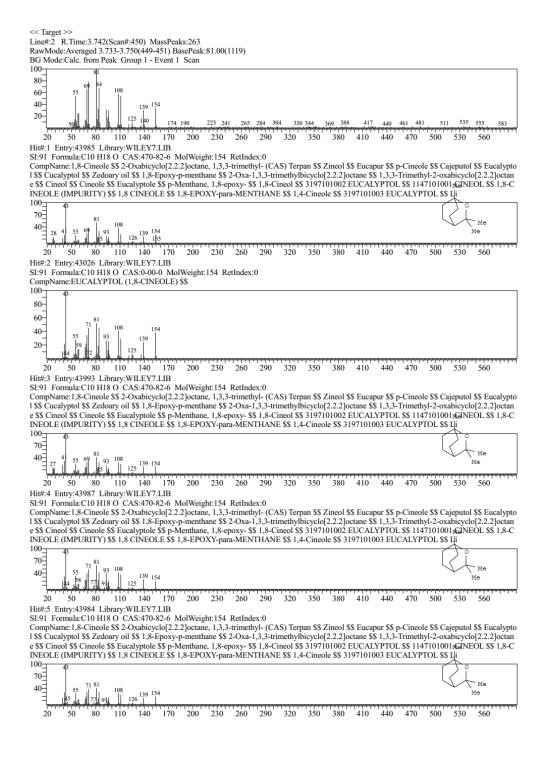


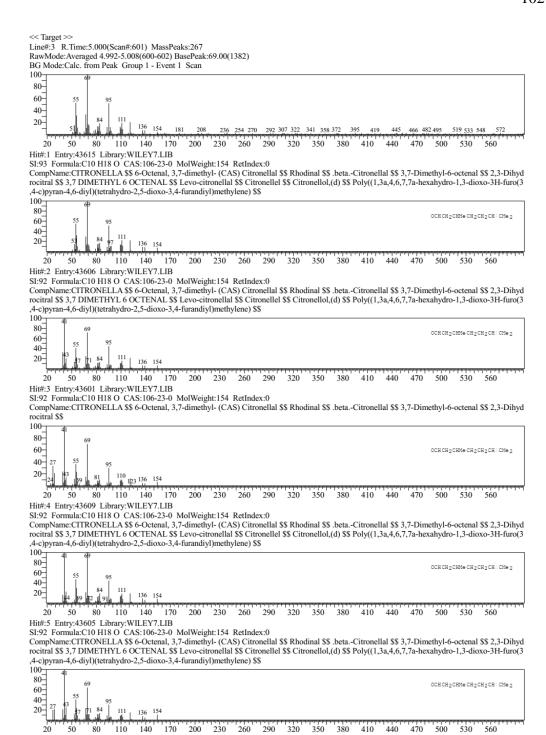
					Peak Re	port TIC
Peak#	R.Time	I.Time	F.Time	Area	Area%	
1	3.700	3.683	3.725	20401	2.65	
2	3.742	3.725	3.817	29780	3.87	
3	5.004	4.975	5.075	25528	3.32	
4	5.588	5.550	5.658	58781	7.64	
5	7.519	7.483	7.567	28967	3.76	
6	7.983	7.950	8.025	44085	5.73	
7	8.153	8.117	8.242	62245	8.09	
8	8.600	8.567	8.650	54160	7.04	
9	9.042	9.008	9.092	25172	3.27	
10	9.242	9.225	9.350	17328	2.25	
11	9.388	9.350	9.433	32507	4.22	
12	9.584	9.433	9.633	26735	3.47	
13	9.864	9.817	9.933	131028	17.02	
14	10.233	10.200	10.283	45811	5.95	
15	11.973	11.933	12.008	19954	2.59	
16	15.237	15.192	15.300	103862	13.49	
17	16.419	16.400	16.533	24215	3.15	
18	19.669	19.642	19.717	19235	2.50	
				769794	100.00	

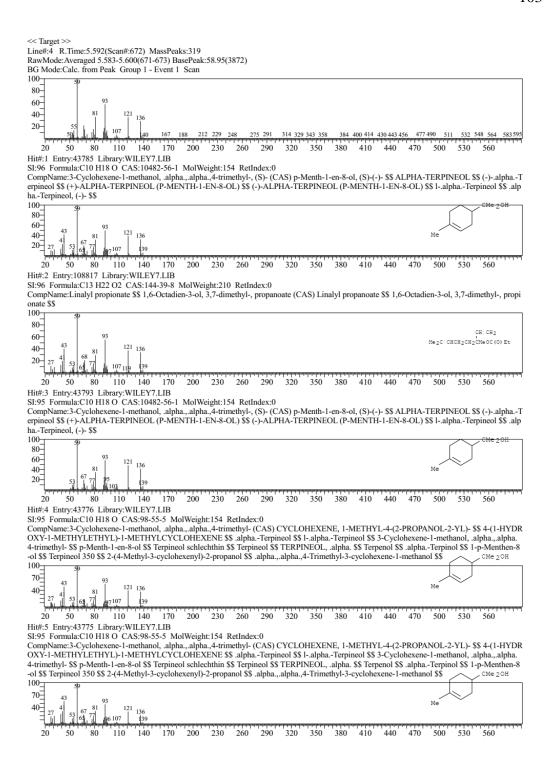
L6.2 Hasil Spektra MS

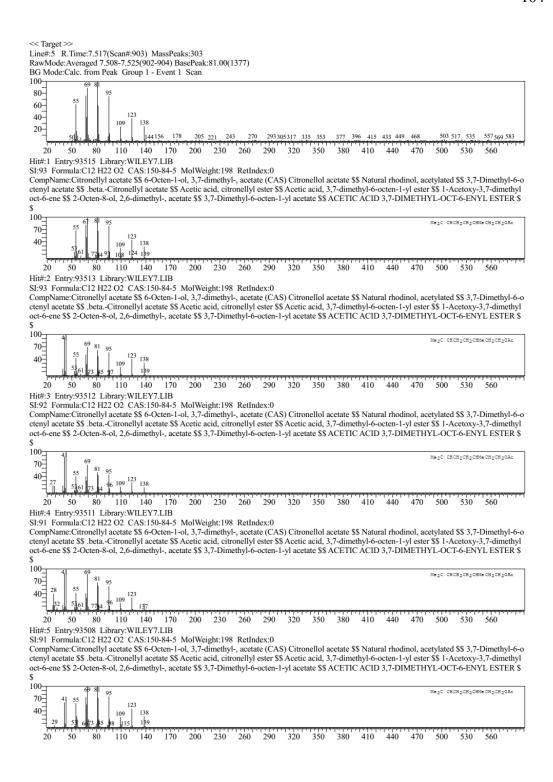
```
C:\GCMSsolution\Data\Project1\09790823_C_GCMS\1i.qgd
  Similarity Search Result
 << Target >>
Line#:1 R.Time:3.700(Scan#:445) MassPeaks:283
 RawMode:Averaged 3.692-3.708(444-446) BasePeak:67.95(1231) BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan
  100-
     80-
     60-
      40-
      20-
                                                                                                                                                                                                                                                                     242 261 277 296 315
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      345
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   372 388 404
                                                                                                                                                                                  170
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          350
                                                      50
                                                                                     80
                                                                                                                  110
                                                                                                                                                     140
                                                                                                                                                                                                                    200
                                                                                                                                                                                                                                                     230
                                                                                                                                                                                                                                                                                     260
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       290
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          320
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          380
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        410
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          440
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               470
 Hit#:1 Entry:26325 Library:WILEY7.LIB
SI:88 Formula:C10 H16 CAS:5989-54-8 MolWeight:136 RetIndex:0
 CompName: I-Limonene $$ Cyclohexene, 1-methyl-4(1-methylethenyl)-, (S)- (CAS) $ (-)-Limonene $$ p-Mentha-1,8-diene, (S)-(-)-$$ (-)-Limonene $$ Limonene $$ (-)-(S)-Limonene $$ (S)-Limonene $$
  100-
     80-
     60-
      40-
                                                                                                                     107 121 136
      20-
                                                   50
                                                                                   80
                                                                                                                                                  140
                                                                                                                                                                                    170
                                                                                                                                                                                                                                                       230
                                                                                                                                                                                                                                                                                        260
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        290
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          320
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           350
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             380
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             410
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               440
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                470
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  500
                                                                                                                  110
                                                                                                                                                                                                                     200
  Hit#:2 Entry:26312 Library:WILEY7.LIB
  SI:86 Formula:C10 H16 CAS:138-86-3 MolWeight:136 RetIndex:0
SI:86 Formula:C10 H16 CAS:138-86-3 MolWeight:136 RetIndex:0
CompName:dl-Limonene $$ Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)- (CAS) 1-P-MENTHA-1,8-DIENE $$ Limonene $Cnien $$ Nesol $$ Cinen $$ Limonene $$ Limonene $$ Dipenten $$ Cajeputen $$ Limonene $$ p-Mentha-1,8-diene $$ 4-Isopropenyl-1-methyl-1-cyclohexene $$ 1.Methyl-4-(1-methylethenyl)cyclohexene $$ 1.Methyl-4-(1-methylethenyl)cyclohexene $$ 1-Methyl-4-(1-methylethenyl)cyclohexene $$ 1-Methyl-
  100-
     70-
      40_
                                           41 53
                                                                                                 92 107 121 136
123
                                                                                                                                              140
                   20
                                                   50
                                                                                   80
                                                                                                                  110
                                                                                                                                                                                    170
                                                                                                                                                                                                                    200
                                                                                                                                                                                                                                                     230
                                                                                                                                                                                                                                                                                     260
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          320
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          350
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            380
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             410
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             440
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                470
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  500
  Hit#:3 Entry:26305 Library:WILEY7.LIB
  SI:86 Formula:C10 H16 CAS:138-86-3 MolWeight:136 RetIndex:0
CompName:dl-Limonene $$ Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)- (CAS) 1-P-MENTHA-1,8-DIENE $$ Limonene $Cinen $$ Nesol $$ Cinen
 e SS Limonen SS Eulimen SS Dipenten SS Cajeputen SS Kautschin SS Cajeputen SS alpha-Limonene SS p-Mentha-1,8-diene SS 4-Isopropenyl-1-methylcyclohexene SS 1,8-p-Menthadiene SS 4-Isopropenyl-1-methyl-1-cyclohexene SS 1-Methyl-4-(1-methylethenyl)cyclohexene SS 1-Methyl-4-(i-methylethenyl)cyclohexene SS 1-Methyl-4-(i-methyl-1-cyclohexene SS p-Mentha-1,8(9)-diene SS 1-Methyl-4-(i-methyl-1-cyclohexene SS p-Mentha-1,8(9)-diene SS 1-Methyl-4-(i-methyl-1-cyclohexene SS p-Mentha-1,8(9)-diene SS 1-Methyl-4-(i-methyl-1-cyclohexene SS p-Mentha-1,8(0)-diene SS 1-Methyl-4-(i-methyl-1-cyclohexene SS p-Men
  100-
      70-
      40-
                                                                                                                     107 121 136
                                                   50
                                                                                                                                                                                                                                                       230
                   20
                                                                                   80
                                                                                                                  110
                                                                                                                                                  140
                                                                                                                                                                                    170
                                                                                                                                                                                                                     200
                                                                                                                                                                                                                                                                                        260
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        290
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          320
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           350
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             380
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             410
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               440
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                470
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  500
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  530
  Hit#:4 Entry:26311 Library:WILEY7.LIB
 SI:86 Formula:C10 H16 CAS:138-86-3 MolWeight:136 RetIndex:0
CompName:dl-Limonene $$ Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)- (CAS) 1-P-MENTHA-1,8-DIENE $$ Limonene $Cinen $$ Nesol $$ Cinen
 e SS Limonen SS Dipenten SS Cajeputen SS Cajeputen SS Cajeputen SS .alpha-Limonene SS p-Mentha-1,8-diene SS 4-Isopropenyl-1-methylcyclohexene SS 1,8-p-Menthadiene SS 4-Isopropenyl-1-methyl-1-cyclohexene SS 1-Methyl-4-(1-methylethenyl)cyclohexene SS 1-Methyl-4-isop ropenylcyclohexene SS Limonene SS Dipentene SS Carvene SS Cinen SS Limonene SDipentene SS p-Mentha-1,8(9)-diene S
  100-
      70
      40
                                                                                                        10009
                   20
                                                                                   80
                                                                                                               110
                                                                                                                                                  140
                                                                                                                                                                                                                    200
                                                                                                                                                                                                                                                     230
                                                                                                                                                                                                                                                                                       260
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        290
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          320
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          350
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            380
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             410
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             440
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                470
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  500
  Hit#:5 Entry:26298 Library:WILEY7.LIB
Stafe Carlo CompName: Clothic CAst:5989-27-5 MolWeight:136 RetIndex:0

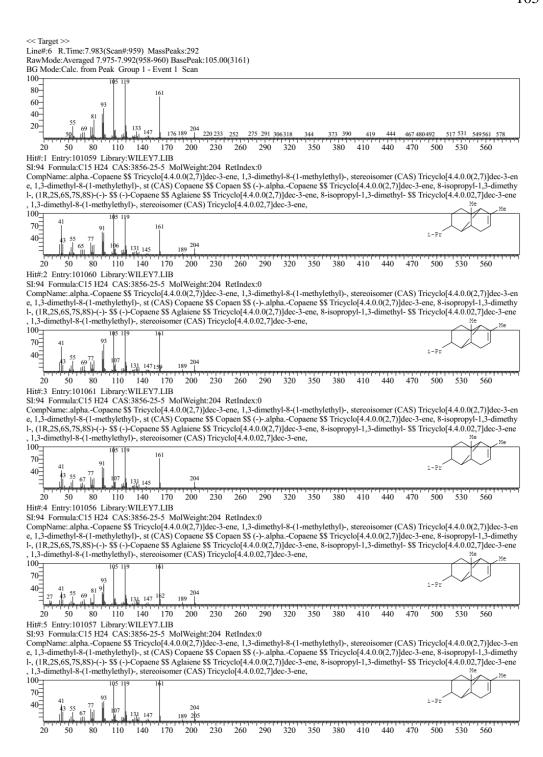
CompName: Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-, (R)- (CAS) D-1,8(9)-P-MENTHADIENE, (D-1-METHYL-4-ISOPROPENYLCYCLOHEX ENE SS d-Limonene SS (+)-Limonene SS D-(+)-Limonene SS Limonene, (+)- SS (+)-(R)-Limonene SS (R)-(+)-Limonene SS (+)-(4R)-Limonene SS (-)-(4R)-Limonene SS (-)-(4R)-Limonene
      80
     60-
      40
                              27 41 53
32 42
                                                                                                                   107 121 136
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  Me
                                                   50
                                                                                   80
                                                                                                                     110
                                                                                                                                                     140
                                                                                                                                                                                     170
                                                                                                                                                                                                                       200
                                                                                                                                                                                                                                                       230
                                                                                                                                                                                                                                                                                        260
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        290
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          320
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           350
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             380
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             410
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               440
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                470
                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  500
```

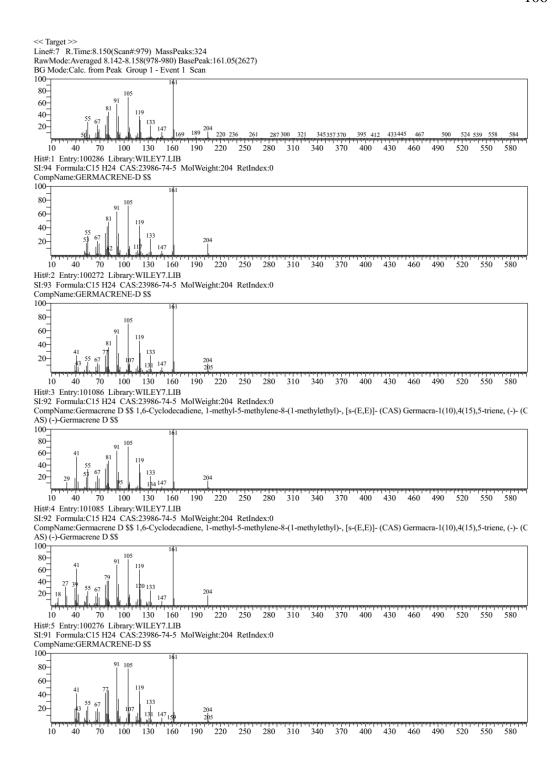


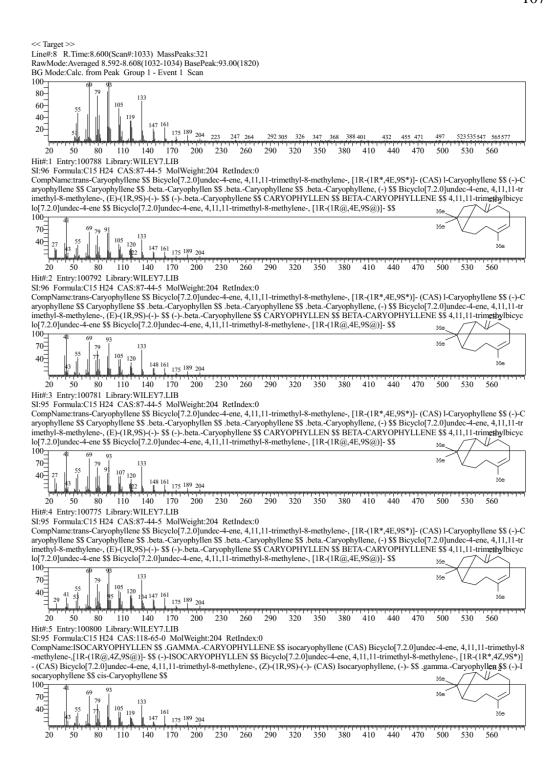


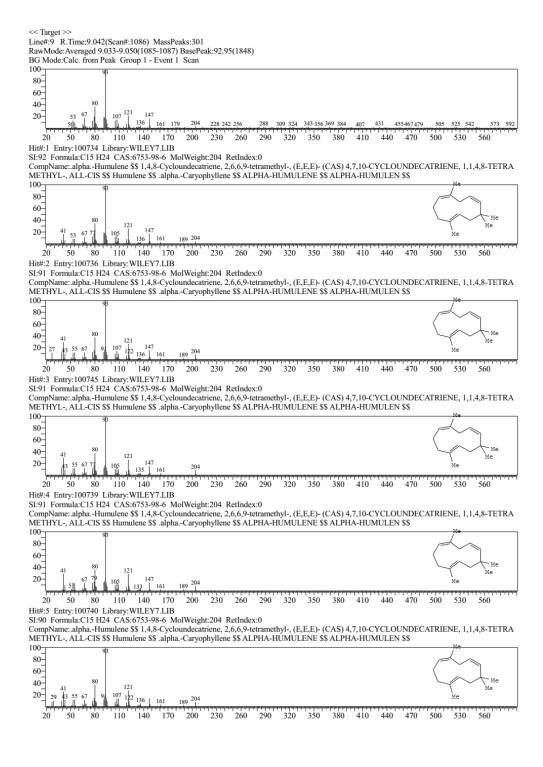


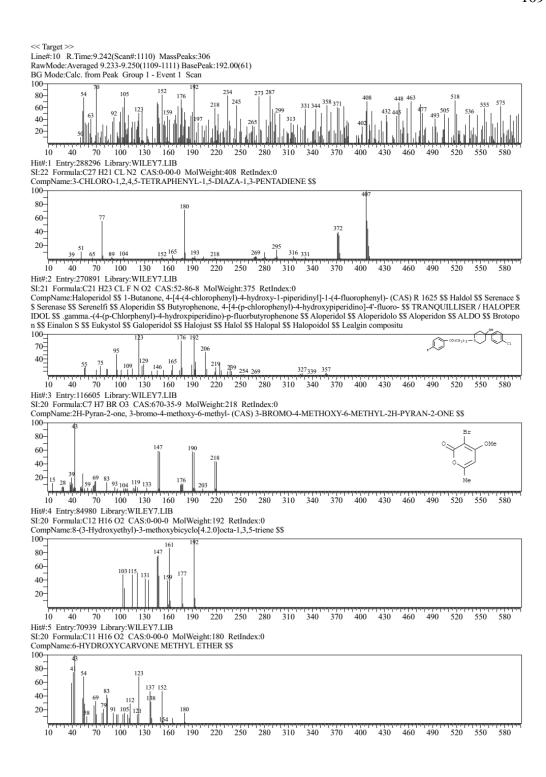




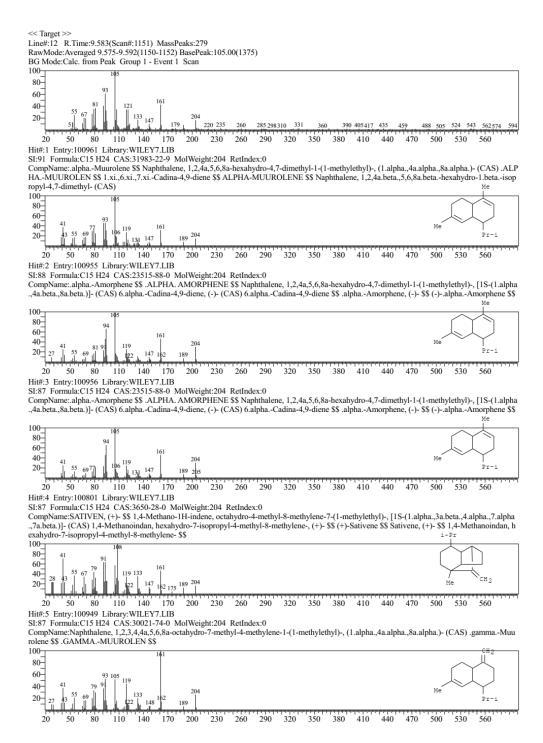


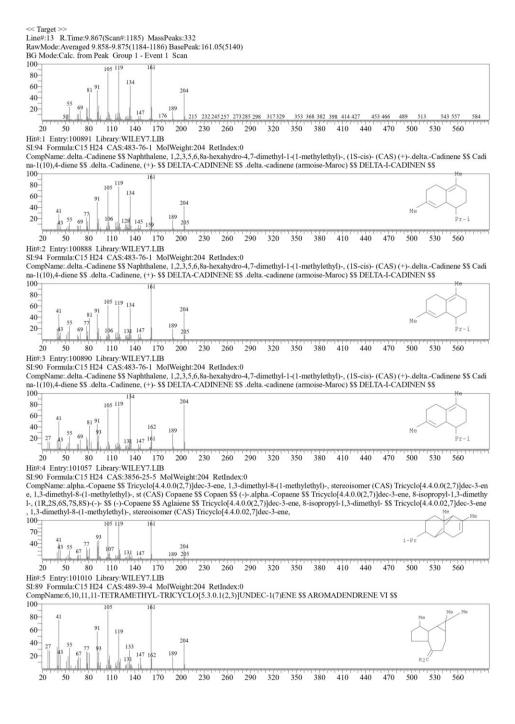




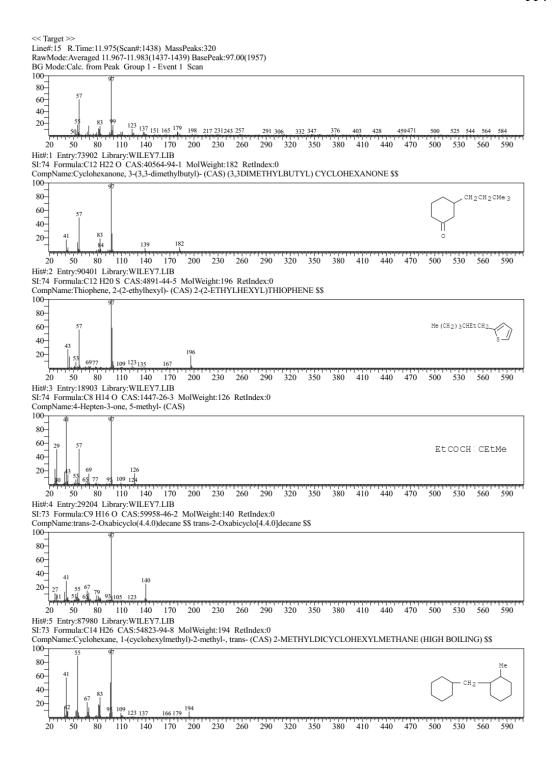


```
<< Target >>
Line#:11 R.Time:9.392(Scan#:1128) MassPeaks:308
RawMode:Averaged 9.383-9.400(1127-1129) BasePeak:161.00(1312)
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan
100-
 80-
 60-
 40-
 20-
                                                                              328 344
                                                                                           377 398 413
                                                     220 250 280
                                                                          310
                                                                                 340
                                                                                         370
                                                                                                400
                                                                                                      430 460
                                                                                                                     490
                                                                                                                            520
    10
                         100
                                130
                                       160
                                              190
Hit#:1 Entry:100276 Library:WILEY7.LIB
SI:92 Formula:C15 H24 CAS:23986-74-5 MolWeight:204 RetIndex:0
CompName:GERMACRENE-D $$
 80-
 60-
 40-
 20-
                                                            250
                                                                   280
                                                                           310
                                                                                  340
                                                                                         370
                                                                                                400
                                                                                                       430
                                                                                                              460
                                                                                                                     490
                                                                                                                             520
                         100
                                130
                                       160
                                               190
Hit#:2 Entry:100286 Library:WILEY7.LIB
SI:92 Formula:C15 H24 CAS:23986-74-5 MolWeight:204 RetIndex:0
CompName:GERMACRENE-D $$
100-
 80-
 60-
 40-
 20-
           40
                  70
                         100
                                130
                                      160
                                              190
                                                     220
                                                            250
                                                                   280
                                                                           310
                                                                                  340
                                                                                         370
                                                                                                400
                                                                                                       430
                                                                                                              460
                                                                                                                     490
                                                                                                                             520
Hit#:3 Entry:101086 Library:WILEY7.LIB
SI:91 Formula:C15 H24 CAS:23986-74-5 MolWeight:204 RetIndex:0
CompName:Germacrene D $$ 1,6-Cyclodecadiene, 1-methyl-5-methylene-8-(1-methylethyl)-, [s-(E,E)]- (CAS) Germacra-1(10),4(15),5-triene, (-)- (CAS) (-)-Germacrene D $$
 80-
 60-
 40-
 20-
                         100
                                130
                                       160
                                              190
                                                     220
                                                            250
                                                                   280
                                                                           310
                                                                                  340
                                                                                                       430
Hit#:4 Entry:101085 Library:WILEY7.LIB
AS) (-)-Germacrene D $$
 80-
 60-
 40-
 20-
                                                                           310
                                                                                  340
                  70
                                              190
                                                     220
                                                            250
                                                                   280
                                                                                         370
                                                                                                400
                                                                                                       430
                                                                                                              460
                                                                                                                     490
                                                                                                                             520
    10
           40
                         100
                                130
                                       160
Hit#:5 Entry:101087 Library:WILEY7.LIB
SI:90 Formula:C15 H24 CAS:23986-74-5 MolWeight:204 RetIndex:0
CompName:Germacrene D $$ 1,6-Cyclodecadiene, 1-methyl-5-methylene-8-(1-methylethyl)-, [s-(E,E)]- (CAS) Germacra-1(10),4(15),5-triene, (-)- (C
AS) (-)-Germacrene D $$
100-
 80-
 60-
 40-
 20-
                                              190
                                                             250
                                                                           310
                                                                                  340
                                                                                         370
                                                                                                400
                                                                                                       430
                                                                                                                      490
                                                                                                                             520
                                       160
                                                     220
                                                                    280
                                                                                                              460
```



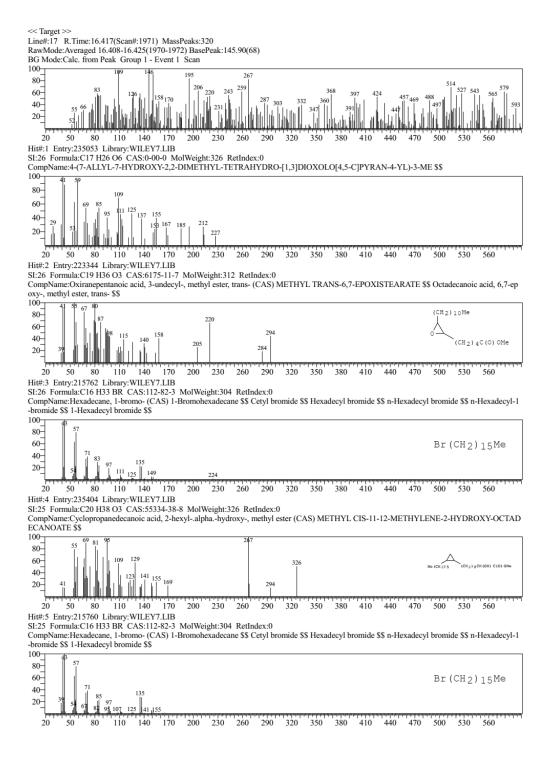


<< Target >> Line#:14 R.Time:10.233(Scan#:1229) MassPeaks:275 RawMode:Averaged 10.225-10.242(1228-1230) BasePeak:58.95(2135) BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan 100-80-60-40-20-Hit#:1 Entry:123949 Library:WILEY7.LIB SI:95 Formula:C15 H26 O CAS:639-99-6 MolWeight:222 RetIndex:0 CompName:Elemol \$\$ Cyclohexanemethanol, 4-ethenyl- alpha,,alpha,,4-trimethyl-3-(1-methylethenyl)-, [1R-(1.alpha,,3.alpha,,4.beta.)]- (CAS) o-M enth-8-ene-4-methanol, alpha,,alpha,-dimethyl-1-vinyl-, (1S,2S,4R)-(-)- \$\$ 80-60-40-20-Hit#:2 Entry:123953 Library:WILEY7.LIB SI:94 Formula:C15 H26 O CAS:639-99-6 MolWeight:222 RetIndex:0 CompName:Elemol \$\$ Cyclohexanemethanol, 4-ethenyl-.alpha.,.alpha.,4-trimethyl-3-(1-methylethenyl)-, [1R-(1.alpha.,3.alpha.,4.beta.)]- (CAS) o-M enth-8-ene-4-methanol, .alpha.,.alpha.,-dimethyl-1-vinyl-, (1S,2S,4R)-(-)- \$\$ 80-CH: CH₂ Me 60-40-20-Hit#:3 Entry:123957 Library:WILEY7.LIB SI:93 Formula:C15 H26 O CAS:21657-90-9 MolWeight:222 RetIndex:0 CompName:HEDYCARYOL \$\$ 100-80-60-40-20-Hit#:4 Entry:123956 Library:WILEY7.LIB SI:93 Formula:C15 H26 O CAS:21657-90-9 MolWeight:222 RetIndex:0 CompName:HEDYCARYOL \$\$ 100-CMe 20H 60-40-20-Hit#:5 Entry:123952 Library:WILEY7.LIB SI:92 Formula:C15 H26 O CAS:639-99-6 MolWeight:222 RetIndex:0 CompName:Elemol \$\$ Cyclohexanemethanol, 4-ethenyl-alpha,,alpha,,4-trimethyl-3-(1-methylethenyl)-, [1R-(1.alpha,,3.alpha,,4.beta.)]- (CAS) o-M enth-8-ene-4-methanol, alpha,,alpha,-dimethyl-1-vinyl-, (1S,2S,4R)-(-)-\$\$ CH: CH₂ - Me 80-60-40-20-



```
<< Target >>
Line#:16 R.Time:15.233(Scan#:1829) MassPeaks:345
RawMode:Averaged 15.225-15.242(1828-1830) BasePeak:69.00(4822)
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan
100
 80-
  60-
  40-
  20-
                                          140
                                                   170
                                                                     230
                                                                               260
                                                                                                 320
                                                                                                           350
                                                                                                                    380
                                                                                                                             410
                                                                                                                                                                   530
Hit#:1 Entry:296966 Library:WILEY7.LIB
SI:83 Formula:C30 H52 O CAS:0-00-0 MolWeight:428 RetIndex:0
CompName:2,2,4-TRIMETHYL-3-(3,8,12,16-TETRAMETHYL-HEPTADECA-3,7,11,15-TETRAENYL)-CYCLOHEX $$
 80-
 60-
  40-
                                     123 136
119 147 161 175 189
  20-
                                                  170
                                                                                        290
                                                                                                 320
                                                                                                           350
                                                                                                                    380
                                                                                                                                       440
                                                                                                                                                470
                                                                                                                                                         500
              50
                                110
                                         140
                                                                     230
                                                                               260
                                                                                                                             410
                                                                                                                                                                   530
     20
                       80
Hit#:2 Entry:240920 Library:WILEY7.LIB
SI:83 Formula:C22 H36 O2 CAS:61691-98-3 MolWeight:332 RetIndex:0 CompName:ACETIC ACID 3,7,11,15-TETRAMETHYL-HEXADECA-2,6,10,14-TETRAENYL ESTER $$ 2,6,10,14-HEXADECATETRAEN, 1-A
CETOXY-3,7,11,15-TETRAMETHYL-, (E,E,E)- $$ 2,6,10,14-HEXADECATÉTRAEN-1-OL, 3,7,11,15-TÉTRAMETHYL-, ACETATE, (E,E,É)- $
100
 80-
  60
  40-
  20-
              50
                                          140
                                                                                                           350
                                                                                                                    380
                                                                                                                                                470
     20
                       80
                                110
                                                   170
                                                            200
                                                                     230
                                                                               260
                                                                                        290
                                                                                                 320
                                                                                                                             410
Hit#:3 Entry:74006 Library:WILEY7.LIB
SI:83 Formula:C12 H22 O CAS:121959-70-4 MolWeight:182 RetIndex:0
CompName:CYCLOPROPANEMETHANOL, .ALPHA.,2-DIMETHYL-2-(4-METHYL-3-PENTENYL)-, [1.ALPHA.(R*) $$
100
  80-
 60-
  40-
  20-
                                                 170
                                          140
                                                            200
                                                                     230
                                                                               260
                                                                                                  320
                                                                                                           350
                                                                                                                    380
                                                                                                                             410
                                                                                                                                      440
                                                                                                                                                470
                                                                                                                                                         500
                                                                                                                                                                   530
Hit#:4 Entry:289265 Library:WILEY7.LIB
SI:83 Formula:C30 H50 CAS:7683-64-9 MolWeight:410 RetIndex:0
CompName: 2,6,10,14,18,22-Tetracosahexaene, 2,6,10,15,19,23-hexamethyl- (CAS) Squalene $$ Skvalen $$ Supraene $$ Spinacene $$ 2,6,10,15,19,23-HEXAMETHYL-2,6,10,14,18,22,-TETRACOSAHEXAENE $$ 2,6,10,14,18,22,-TETRACOSAHEXAEN, 2,6,10,15,19,23-HEXAMETHYL-$$
 100-
  80-
 60-
  40-
                                        135 149

161 177 191 203
  20-
                                                   170
                                                                                        290
              50
                       80
                                110
                                          140
                                                            200
                                                                     230
                                                                               260
                                                                                                 320
                                                                                                           350
                                                                                                                    380
                                                                                                                             410
                                                                                                                                       440
                                                                                                                                                470
                                                                                                                                                         500
                                                                                                                                                                   530
20 50 80 110 140 170 200 250 250 250 250 350 380 410 440 470 500 550 560 Hitti:5 Entry:127369 Library:WILEY7.LIB
SI:83 Formula:C12 Hl9 N O3 CAS:129967-65-3 MolWeight:225 RetIndex:0
CompName:rac-1,2,4-Trimethyl-3-nitrobicyclo[3.3.1]nonan-9-one $$BICYCLO[3.3.1]NONAN-9-ONE, 1,2,4-TRIMETHYL-3-NITRO-, (2-ENDO, 3-EXO,4-EXO)-(.+-.) $$Bicyclo[3.3.1]nonan-9-one, 1,2,4-trimethyl-3-nitro-, (2-endo,3-exo,4-exo)-(.+-.) (CAS)
100-
 80-
 60-
  40-
  20-
                                     121 151 179
1 135 | 161 179
     20
                                          140
                                                   170
                                                            200
                                                                     230
                                                                               260
                                                                                        290
                                                                                                  320
                                                                                                           350
                                                                                                                    380
                                                                                                                             410
                                                                                                                                       440
                                                                                                                                                470
                                                                                                                                                          500
                                                                                                                                                                   530
```



```
<< Target >>
Line#:18 R.Time:19.667(Scan#:2361) MassPeaks:326
RawMode:Averaged 19.658-19.675(2360-2362) BasePeak:81.00(725)
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan
 80-
 60
 40-
 20-
                                                                                        279, 298 315 328
     20
                                 110
                                           140
                                                    170
                                                                                                    320
                                                                                                              350
                                                                                                                       380
                                                                                                                                 410
                                                                                                                                           440
                                                                                                                                                    470
                        80
Hit#:1 Entry:111282 Library:WILEY7.LIB
SI:84 Formula:C13 H24 O2 CAS:141-14-0 MolWeight:212 RetIndex:0
CompName:Citronellyl propionate $$ 6-Octen-1-ol, 3,7-dimethyl-, propionate (CAS) 6-Octen-1-ol, 3,7-dimethyl-, propionate
te $$
100-
 80
 60
                                                                                                                                                             EtC(0) OCH2CH2CHMeCH2CH2CH:CMe2
 40-
 20-
     20
                                 110
                                           140
                                                    170
                                                              200
                                                                       230
                                                                                 260
                                                                                                     320
                                                                                                             350
                                                                                                                       380
                                                                                                                                 410
                                                                                                                                          440
Hit#:2 Entry:111285 Library:WILEY7.LIB
SI:83 Formula:C13 H24 O2 CAS:141-14-0 MolWeight:212 RetIndex:0
CompName:Citronellyl propionate $$ 6-Octen-1-ol, 3,7-dimethyl-, propionate (CAS) 6-Octen-1-ol, 3,7-dimethyl-, propionate $$ citronellyl propionate
te $$
100-
 80-
 60
                                                                                                                                                             EtC(0) OCH2CH2CHMe CH2CH2CH: CMe2
 40-
 20-
     20
                        80
                                 110
                                           140
                                                    170
                                                              200
                                                                       230
                                                                                 260
                                                                                                    320
                                                                                                              350
                                                                                                                       380
Hit#:3 Entry:111283 Library:WILEY7.LIB
SI:83 Formula:C13 H24 O2 CAS:141-14-0 MolWeight:212 RetIndex:0
CompName:Citronellyl propionate $$ 6-Octen-1-ol, 3,7-dimethyl-, propionate (CAS) 6-Octen-1-ol, 3,7-dimethyl-, propionate
te $$
100-
 80
 60-
                                                                                                                                                            \mathtt{EtC} \hspace{0.1cm} (\mathtt{O}) \hspace{0.1cm} \mathtt{OCH} \hspace{0.1cm}_{2} \mathtt{CH}_{2} \mathtt{CHMe} \hspace{0.1cm} \mathtt{CH}_{2} \mathtt{CH}_{2} \mathtt{CH} \hspace{0.1cm} \colon \mathtt{CMe} \hspace{0.1cm}_{2}
 40-
 20-
      20
                                 110
                                           140
                                                    170
                                                              200
                                                                       230
                                                                                 260
                                                                                          290
                                                                                                     320
                                                                                                              350
                                                                                                                       380
                                                                                                                                 410
                                                                                                                                          440
                                                                                                                                                    470
Hit#:4 Entry:111288 Library:WILEY7.LIB
SI:83 Formula:C13 H24 O2 CAS:141-14-0 MolWeight:212 RetIndex:0
CompName:Citronellyl propionate $$ 6-Octen-1-ol, 3,7-dimethyl-, propanoate (CAS) 6-Octen-1-ol, 3,7-dimethyl-, propionate $$ citronellyl propionate $$
100
 80-
 60-
  40-
  20-
     20
                                 110
                                           140
                                                    170
                                                                        230
                                                                                 260
                                                                                          290
                                                                                                     320
                                                                                                              350
                                                                                                                       380
                                                                                                                                 410
                                                                                                                                           440
                                                                                                                                                    470
Hi#:5 Entry:145670 Library:WILEY7.LIB
SI:82 Formula:C15 H28 O2 CAS:0-00-0 MolWeight:240 RetIndex:0
CompName:CITRONELLYL VALERATE $$
 100
 80-
 60-
  40-
  20-
     20
               50
                                 110
                                           140
                                                    170
                                                             200
                                                                        230
                                                                                 260
                                                                                           290
                                                                                                    320
                                                                                                              350
                                                                                                                       380
                                                                                                                                 410
                                                                                                                                           440
                                                                                                                                                    470
                                                                                                                                                              500
                                                                                                                                                                        530
                                                                                                                                                                                  560
```