



**UJI TOKSISITAS FRAKSI POLAR DAN NON POLAR EKSTRAK
RIMPANG DRINGO (*Acorus calamus* L.) TERHADAP
Hypothenemus hampei (Ferr.)**

SKRIPSI

Oleh

**Arminatul Jannah
NIM 101810401036**

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
2015**



**UJI TOKSISITAS FRAKSI POLAR DAN NON POLAR EKSTRAK
RIMPANG DRINGO (*Acorus calamus* L.) TERHADAP
Hypothenemus hampei (Ferr.)**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan
Program Studi Biologi (S1) Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
dan mencapai gelar Sarjana Sains

Oleh

**Arminatul Jannah
NIM 101810401036**

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
2015**

PERSEMBAHAN

Puji syukur peneliti panjatkan ke hadirat Allah Swt. yang senantiasa memberikan petunjuk dan ridho-Nya, serta Nabi Muhammad SAW yang selalu menjadi tauladan bagi umatnya. Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Ayahanda Santoso (almarhum) dan Ibunda Tri Winarsih yang tercinta, terima kasih atas kesetiaan doa yang senantiasa tercurah dalam mengiringi perjalanan hidup putri kalian, didikan, dan motivasi hingga tumbuh dan berdiri tegar sampai saat ini demi tercapainya harapan dan cita-cita masa depan;
2. Kakakku tercinta Nur Laili Fatmawati dan Adikku Reysma Hidayah, terima kasih atas doa dan dorongan semangat yang tidak henti-hentinya untuk menjadi kekuatan dalam hidup saudara kalian;
3. Almamater Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember dan seluruh dosen yang saya banggakan, serta guru-guru tercinta di TK Al Furqan, SD Al Furqan, SMPN 1 Jember, MAN 1 Jember, terima kasih telah mengantarkan saya menuju masa depan yang lebih cerah atas dedikasi dan ilmunya.

MOTO

Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya.
(terjemahan Surat *Al-Baqarah* ayat 286)^{*)}

Sesungguhnya Allah tidak mengubah keadaan suatu kaum sebelum mereka mengubah keadaan diri mereka sendiri.
(terjemahan Surat *Ar-Ra'd* ayat 11)^{*)}

Sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan.
(terjemahan Surat *Al-Insyirah* ayat 5)^{*)}

^{*)} Departemen Agama Republik Indonesia. 2010. *Al Qur'an* dan Terjemah. Bandung: Hilal

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

nama : Arminatul Jannah

NIM : 101810401036

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Uji Toksisitas Fraksi Polar dan Non Polar Ekstrak Rimpang Dringo (*Acorus calamus* L.) terhadap *Hypothenemus hampei* (Ferr.)” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi. Penelitian ini dibiayai program Hibah Riset dan Teknologi Toray Fondation atas nama Purwatiningsih, Ph.D.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, Maret 2015

Yang menyatakan,

Arminatul Jannah

NIM 101810401036

SKRIPSI

**UJI TOKSISITAS FRAKSI POLAR DAN NON POLAR EKSTRAK
RIMPANG DRINGO (*Acorus calamus* L.) TERHADAP
Hypothenemus hampei (Ferr.)**

Oleh

Arminatul Jannah
NIM 101810401036

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Purwatiningsih Ph.D

Dosen Pembimbing Anggota : Sri Mumpuni Wahyu Widajati S.Pd., M.Si

PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul “Uji Toksisitas Fraksi Polar dan Non Polar Ekstrak Rimpang Dringo (*Acorus calamus* L.) terhadap *Hypothenemus hampei* (Ferr.)” telah diuji dan disahkan pada :

hari, tanggal :

tempat : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember

Tim Penguji :

Ketua,

Sekretaris,

Purwatiningsih, Ph.D
NIP 197505052000032001

Sri Mumpuni W. W., S.Pd, M.Si
NIP 197105101999032002

Anggota I,

Anggota II,

Eva Tyas Utami, S.Si, M.Si
NIP 197306012000032001

Dra. Mahriani, M.Si
NIP 195703151987022001

Mengesahkan
Dekan,

Drs. Kusno DEA, Ph.D
NIP 19101081986021001

RINGKASAN

Uji Toksisitas Fraksi Polar dan Non Polar Ekstrak Rimpang Dringo (*Acorus calamus* L.) terhadap *Hypothenemus hampei* (Ferr.); Arminatul Jannah, 101810401036; 2015: 36 halaman; Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Rimpang dringo (*Acorus calamus* L.) mengandung senyawa aktif yang bersifat insektisida antara lain flavonoid, saponin, dan asaron. Karakter senyawa bioaktif pada rimpang dringo memiliki keragaman dalam hal kepolaran. Untuk memaksimalkan proses ekstraksi harus mempertimbangkan sifat dari senyawa bioaktif tersebut antara lain sifat kepolarannya. Efektifitas senyawa aktif dalam rimpang dringo dapat diketahui dengan uji toksisitas. Kajian toksisitas ekstrak rimpang dringo menggunakan fraksi metanol dan fraksi heksan perlu dilakukan terhadap hama penggerek buah kopi (*Hypothenemus hampei* Ferr.) yang bersifat menimbulkan kerusakan pada biji kopi. Tujuan penelitian untuk mengetahui toksisitas fraksi metanol dan heksan ekstrak rimpang dringo (*A. calamus*) terhadap *H. Hampei*.

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Zoologi Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember pada bulan Juni sampai Oktober 2014. Penelitian eksperimental laboratorik ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 ulangan. Uji toksisitas dilakukan secara *in vitro* menggunakan aplikasi racun kontak dengan metode residu. Kematian *H. hampei* digunakan untuk menentukan nilai LC_{50} dengan analisis probit, sedangkan efektifitas konsentrasi ekstrak terhadap kematian *H. hampei* dianalisis dengan ANAVA ($\alpha=5\%$) dan dilanjut dengan uji LSD 5%. Efektifitas fraksi metanol dan heksan ekstrak rimpang dringo dianalisis dengan uji *Independent T-test*.

Hasil analisis varian menunjukkan bahwa konsentrasi fraksi metanol dari ekstrak rimpang dringo (*A. calamus*) tidak berpengaruh terhadap kematian *H. hampei* sedangkan fraksi heksan dari ekstrak rimpang dringo (*A. calamus*) berpengaruh terhadap kematian *H. hampei*. Hal ini diduga pada fraksi heksan dari ekstrak rimpang dringo mengandung senyawa aktif yang bersifat toksik terhadap *H. hampei* secara kontak yaitu saponin dan asaron. Berdasarkan hasil analisis probit, perlakuan dengan fraksi metanol memiliki nilai LC_{50} pada konsentrasi 7,47%, sedangkan perlakuan dengan fraksi heksan memiliki nilai LC_{50} yang tidak terdefinisi karena pemberian ekstrak rimpang dringo pada konsentrasi terendah dengan fraksi heksan telah menyebabkan kematian *H. hampei* lebih dari 50%. Ekstrak rimpang dringo (*A. calamus*) dengan fraksi heksan memiliki efek toksik yang lebih besar terhadap *H. hampei* dibandingkan dengan fraksi metanol, hal ini terlihat dari persentase kematian *H. hampei* pada perlakuan dengan fraksi heksan lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan fraksi metanol.

PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah Swt. atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Uji Toksisitas Fraksi Polar dan Non Polar Ekstrak Rimpang Dringo (*Acorus calamus* L.) terhadap *Hypothenemus hampei* (Ferr.)”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Purwatiningsih, Ph.D, selaku Dosen Pembimbing Utama dan Sri Mumpuni W. W., S.Pd, M.Si., selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah memberi bimbingan, arahan, motivasi, dalam kesempurnaan skripsi;
2. Eva Tyas Utami, S.Si., M.Si. dan Dra. Mahriani, M.Si., selaku Dosen Penguji yang telah memberi banyak masukan dalam perbaikan skripsi ini;
3. Siswanto, M.Si., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing selama penulis menjadi mahasiswa;
4. karyawan di Perkebunan Durjo Kabupaten Jember dan Zainul Arifin yang telah memberi ijin dan membantu dalam penelitian ini;
5. seluruh dosen, staf, karyawan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember yang telah memberi dukungan selama pengerjaan skripsi ini;
6. seluruh mahasiswa Biologi Universitas Jember khususnya angkatan 2010 yang selalu memberikan dorongan dan semangat dalam penyelesaian skripsi, terutama para sahabat: Narita, Nika, Lusi, Laura, Riya, Wardah, dan Fragaria, terima kasih telah menjadi salah satu motivator terbaik sejak awal bertemu hingga saat ini dan telah memberikan arti indahnnya kebersamaan.
7. semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis juga mengharapkan segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, Maret 2015

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	2
1.3 Tujuan	2
1.4 Manfaat	2
1.5 Batasan Masalah	2
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1 Tanaman Dringo (<i>Acorus calamus</i> L.)	3
2.1.1 Taksonomi Tanaman Dringo (<i>A. calamus</i> L.)	3
2.1.2 Distribusi <i>A. calamus</i> di Indonesia	4
2.1.3 Senyawa Bioaktif yang Bersifat Insektisida pada <i>A. calamus</i>	5

2.2 Pemisahan Komponen Bioaktif dengan Ekstraksi dan Partisi	6
2.2.1 Pengertian Ekstraksi dan Partisi	6
2.2.2 Ekstraksi secara Maserasi dan Partisi Ekstrak	6
2.2.3 Pelarut yang digunakan dalam Proses Ekstraksi dan Partisi	7
2.3 Letal Konsentrasi 50 (LC₅₀)	9
2.3.1 Definisi Toksisitas	9
2.3.2 Perhitungan LC ₅₀	10
2.3.3 Metode Uji Toksisitas	12
2.4 Serangga Uji <i>Hypothenemus hampei</i> (Ferr.)	13
2.4.1 Taksonomi <i>H. hampei</i>	13
2.4.2 Siklus Hidup <i>H. hampei</i>	14
2.4.3 Serangan <i>H. hampei</i> di Kebun Kopi	16
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	18
3.1 Tempat dan Waktu	18
3.2 Alat dan Bahan	18
3.2.1 Alat	18
3.2.2 Bahan.....	18
3.3 Rancangan Penelitian	19
3.4 Persiapan Penelitian	19
3.4.1 Pembiakan <i>H. hampei</i>	19
3.4.2 Pengambilan dan Persiapan Ekstrak Rimpang <i>A. calamus</i>	20
3.4.3 Ekstraksi dan Partisi Rimpang <i>A. calamus</i>	20
3.5 Pelaksanaan Penelitian	21
3.5.1 Uji Pendahuluan	21
3.5.2 Uji Toksisitas Ekstrak Rimpang Dringo terhadap <i>H. hampei</i> (LC ₅₀)	22
3.6 Analisis Data	23

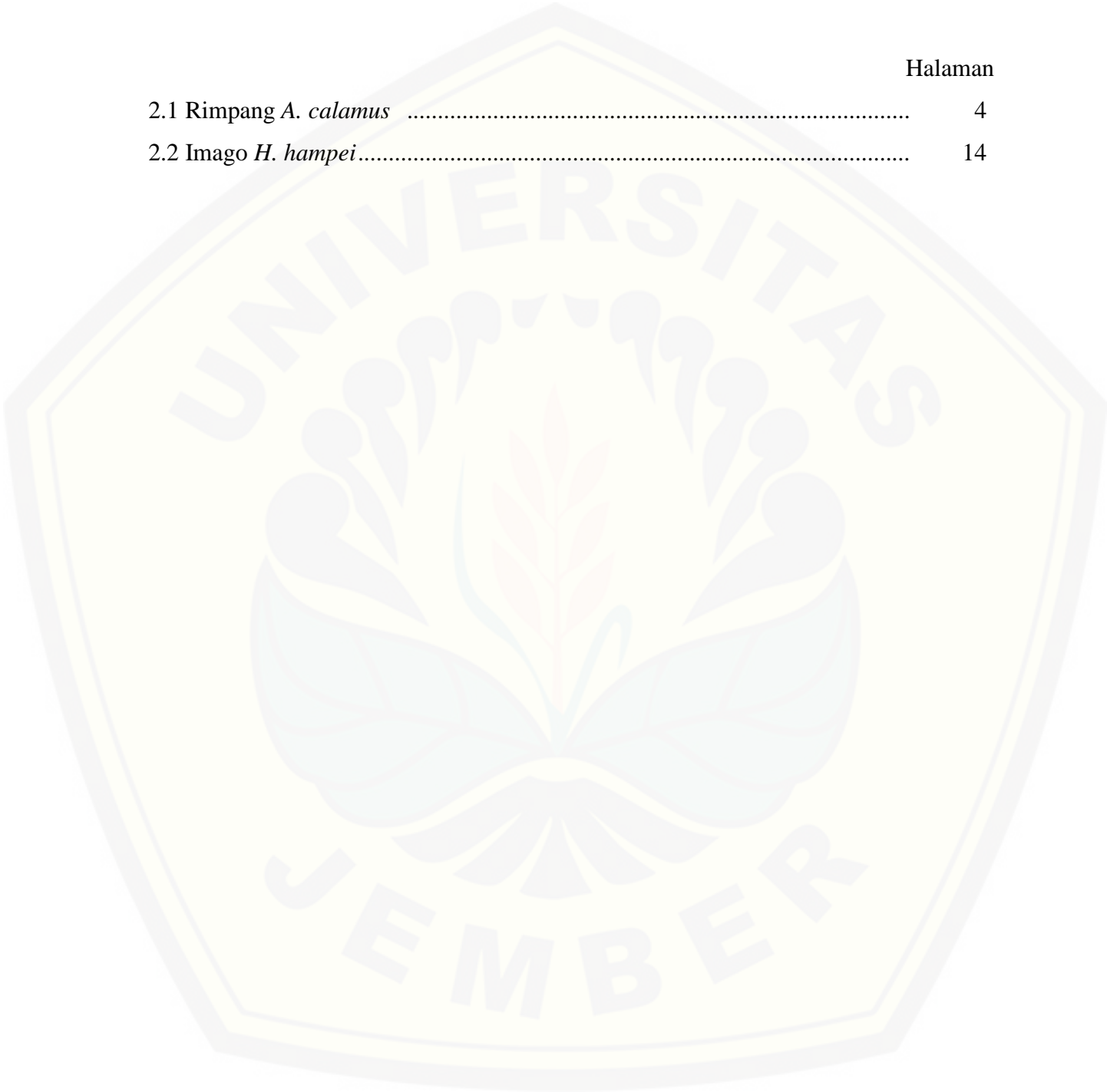
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	24
4.1 Pengaruh Fraksi Metanol dan Heksan Ekstrak Rimpang	
Dringo (<i>A. calamus</i>) terhadap <i>H. hampei</i> (Ferr.)	25
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	30
3.1 Kesimpulan	30
3.2 Saran	30
DAFTAR PUSTAKA	31
LAMPIRAN	37

DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Indeks Polaritas Pelarut	7
3.1 Konsentrasi Larutan Fraksi Metanol dan Heksan Ekstrak Rimpang <i>A. calamus</i> yang digunakan	22
4.1 Kematian <i>Hypothenemus hampei</i> 7 hari (168 Jam) setelah pemberian fraksi metanol dan heksan ekstrak Rimpang Dringo pada uji pendahuluan	24
4.2. Persentase kematian <i>H. hampei</i> setelah 7 hari (168 jam) dengan fraksi metanol dan heksan ekstrak Rimpang Dringo (<i>A. calamus</i>).....	25
4.3. Hasil analisis probit pada pengujian fraksi metanol dan heksan ekstrak Rimpang Dringo dengan terhadap <i>H. Hampei</i>	28

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Rimpang <i>A. calamus</i>	4
2.2 Imago <i>H. hampei</i>	14



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Perhitungan LC ₅₀ Fraksi Metanol dari Ekstrak Rimpang Dringo (<i>A. calamus</i>) menggunakan <i>Software Microsoft Excel</i> Regresi Linier	37
B. Perhitungan LC ₅₀ Fraksi Heksan dari Ekstrak Rimpang Dringo (<i>A. calamus</i>) menggunakan <i>Software Microsoft Excel</i> Regresi Linier	38
C. Hasil Analisis Varian (Anava) dengan <i>Software SPSS 16</i> pada Fraksi Metanol	39
D. Hasil Analisis Varian (Anava) dan Uji lanjut Duncan dengan <i>Software</i> <i>SPSS 16</i> pada Fraksi Heksan	40
E. Analisis <i>Independent T-Test</i> dengan menggunakan <i>Software SPSS 16.0</i>	42

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Dringo (*Acorus calamus* L.) merupakan tanaman herba yang mengandung senyawa aktif berupa saponin, flavonoid, dan minyak atsiri yang disebut *calamus oil* (Rustini, 2010). Senyawa aktif yang terkandung dalam rimpang dringo yang diperoleh dengan cara maserasi antara lain saponin, flavonoid, dan asaron (Park *et al.*, 2003; Muthuraman dan Singh, 2011).

Karakter senyawa bioaktif pada rimpang dringo memiliki keragaman dalam hal kepolaran. Untuk memaksimalkan penarikan senyawa aktif pada tanaman harus mempertimbangkan sifat dari senyawa bioaktif tersebut antara lain sifat kepolarannya. Senyawa organik pada tanaman yang bersifat polar mampu larut dalam pelarut polar, sedangkan senyawa organik non polar mampu larut dalam pelarut non polar (Asmaliyah *et al.*, 2010).

Beberapa penelitian telah dilakukan berdasarkan metode ekstraksi dengan mempertimbangkan polaritas pelarutnya. Pemberian ekstrak metanol (pelarut polar) rimpang dringo pada konsentrasi 3% mengakibatkan kematian larva *Spodoptera litura* sebesar 57,50% setelah 5 hari aplikasi (Hasnah *et al.*, 2012), *Sitophilus oryzae* sebesar 60% dengan dosis 3,5 mg/cm² setelah 2 hari perlakuan (Kim *et al.* 2003). Sementara itu pengekstrasian dengan menggunakan pelarut non polar seperti heksan pada rimpang *A. calamus* dengan konsentrasi 2%, 4%, 6%, 8%, dan 10% pada *Plutella xylostella* memiliki nilai LC₅₀ sebesar 8,43% (Purwatiningsih *et al.*, 2013).

Berdasarkan uraian diatas perlu dikaji efektifitas dari ekstrak rimpang dringo dengan pelarut polar dan non polar. Dalam penelitian ini pengkajian toksisitas ekstrak

rimpang dringo menggunakan pelarut metanol (polar) dan heksan (non polar) dilakukan terhadap hama penggerek buah kopi (*H. hampei*). Serangga ini dipilih sebagai hewan uji karena bersifat sangat merugikan dan mampu menimbulkan kerusakan pada biji kopi. Serangan kumbang ini terjadi pada buah kopi yang sedang terbentuk yaitu berkisar dari 8 minggu setelah berbunga hingga waktu panen (Direktorat Perlindungan Perkebunan, 2002). Selain itu *H. hampei* juga menyerang biji kopi yang berada di tempat penyimpanan (Irulandi *et al.*, 2007).

1.2 Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka dapat dirumuskan permasalahan yaitu apakah fraksi metanol dan heksan ekstrak rimpang dringo (*A. calamus*) memiliki efek toksik terhadap *H. hampei*.

1.3 Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui toksisitas fraksi metanol dan heksan ekstrak rimpang dringo (*A. calamus*) terhadap *H. hampei*.

1.4 Manfaat

Manfaat dari penelitian ini yaitu memberikan informasi kepada peneliti dan petani mengenai efektifitas fraksi polar dan non polar ekstrak rimpang dringo terhadap toksisitas *H. hampei* serta efektifitas pelarut dalam memaksimalkan penarikan senyawa bioaktif dalam rimpang dringo (*A. calamus*).

1.5 Batasan Masalah

Batasan masalah dari penelitian ini antara lain :

1. Pengukuran toksisitas fraksi metanol dan heksan ekstrak rimpang dringo (*A. calamus*) berdasarkan nilai LC_{50} .
2. Hewan uji yang digunakan adalah *H. hampei* pada stadia dewasa (imago).

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Dringo (*Acorus calamus* L.)

2.1.1 Taksonomi Tanaman Dringo (*A. calamus* L.)

Klasifikasi ilmiah tanaman dringo adalah sebagai berikut,

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Kelas	: Liliopsida
Bangsa	: Acorales
Suku	: Acoraceae
Genus	: <i>Acorus</i>
Spesies	: <i>Acorus calamus</i> L. (NCBI, 2015)

Tanaman ini memiliki tinggi ± 75 cm dengan sistem perakaran serabut berwarna coklat. Habitus tanaman ini berupa herba. Daunnya bertipe tunggal, bentuk lanset, ujung runcing, tepi rata, pangkalnya memeluk batang, panjang ± 60 cm, lebar ± 5 cm, pertulangan sejajar, dan berwarna hijau. Bunga majemuk berbentuk bongkol dan tumbuh diketiak daun dengan panjang 20-25 cm. Tangkai sari panjang $\pm 2,75$ mm, kepala sari panjang 0,5 mm, putik 1-1,5 mm, kepala putik meruncing, panjang $\pm 0,5$ mm, mahkota bulat panjang, panjang 1-1,5 mm (BPOM, 2008).

Batang *A. calamus* basah, pendek, membentuk rimpang, dan berwarna coklat dengan warna putih di dalamnya. Rimpang berukuran rata-rata sebesar kelingking orang dewasa ditunjukkan pada Gambar 2.1 dengan bagian dalam yang berwarna putih namun akan berubah menjadi merah muda apabila kering. Bagian rimpangnya memiliki aroma khas seperti rempah, terasa sedikit pedas tetapi tidak panas dan sedikit pahit (Tjitrosoepomo, 2010).



Gambar 2.1 Rimpang *A. calamus* (Sumber: dokumentasi pribadi, 2014)

2.1.2 Distribusi *A. calamus* di Indonesia

Tanaman dringo berasal dari daerah Asia yang beriklim sedang dan tumbuh di tanah yang berawa. Tanaman ini tumbuh di India, Filipina, dan Indonesia. Penyebaran tanaman dringo di Indonesia dapat ditemukan pada beberapa pulau tertentu yang tersebar dari tempat asal ke arah barat dan tenggara. *A. calamus* dikenal sebagai tumbuhan rawa yang menyukai tanah berpasir. Di Pulau Jawa tanaman ini tumbuh secara liar di sepanjang parit, kolam ikan, telaga, rawa, atau tempat yang berair/berlumpur, tepi danau, dan tepi sungai (Depkes RI, 1978).

Di Indonesia *A. calamus* dikenal dengan berbagai nama yang berbeda di masing-masing daerah antara lain dringo atau dringo (Jawa), daringo atau jaringao (Sunda), dlingo (Jawa Tengah), jharango (Madura), jangu (Bali), jeurunger (Aceh), jerango (Batak), jariangau atau jarianggu (Minangkabau), kaliraga (Flores), kareango (Makassar), daringu atau ai wahu (Ambon) (Rismunandar, 1988; Balitbang Depkes, 1991). Sinonim dari tanaman dringo antara lain calamus atau sweet flag (Inggris), vacha atau sadgrantha (Sansekerta), vashambu (Tamil) (Yende, 2008).

2.1.3 Senyawa Bioaktif yang Bersifat Insektisida pada *A. calamus*

Rimpang dan daun *A. calamus* mengandung saponin dan flavonoid serta mengandung bahan kimia aktif yaitu minyak atsiri yang biasa disebut *calamus oil* dan terdapat pada bagian rimpang. Rimpang *A. calamus* yang sudah kering mengandung senyawa folatil berupa *asarone, cholin, flavones, acoradin, galangin, acolamone, isocolamone* (Singh *et al.*, 2011).

Rimpang *A. calamus* pada beberapa negara memiliki manfaat sebagai insektisida. Di Malaysia tanaman dringo digunakan untuk membasmi rayap (Indo, 1972). Rimpang *A. calamus* bersifat insektisida terhadap serangga pengganggu seperti kutu beras (*S. oryzae*) dan hama kubis (*S. litura*). Bubuk dan ekstrak minyak rimpang bekerja sebagai racun perut dan racun kontak, *antifeedant*, dan *repellent*. Penelitian yang telah dilakukan oleh Schmidt *et al.* (1991) juga mengemukakan bahwa uap dari minyak rimpang *A. calamus* memiliki efek racun dan efek steril dalam melawan serangga pengganggu.

Senyawa asaron pada rimpang dringo memiliki 2 isomer yaitu *-asarone* yang bersifat sebagai *antifeedant* dan *-asarone* yang bersifat toksik (Koul dan Dhaliwal, 2005). *-asarone* dalam rimpang dringo memiliki sifat insektisida yang berperan sebagai racun kontak dengan cara masuk melalui kulit sehingga mengganggu sistem syaraf serangga dan racun perut yang masuk melalui alat mulut menuju sistem pencernaan sehingga merusak dinding usus serta mengakibatkan kematian (Hasnah *et al.*, 2012).

Hasan *et al.* (2006) dalam penelitiannya mengemukakan bahwa ekstrak heksan rimpang *A. calamus* pada dosis 30, 50, dan 70 μ l memiliki efek toksisitas terhadap *Trogoderma granarium*. Kematian *T. granarium* meningkat seiring dengan meningkatnya dosis ekstrak yang diberikan. Menurut Hasnah (2012), minyak atsiri yang terkandung dalam rimpang dringo terutama *-asarone* sangat mempengaruhi siklus hidup hama serangga. Gejala yang ditimbulkan adalah fekunditas dan fertilitas

rendah serta masa hidup serangga berkurang karena kegagalan mengumpulkan cadangan makanan.

2.2 Pemisahan Komponen Bioaktif dengan Ekstraksi dan Partisi

2.2.1 Pengertian Ekstraksi dan Partisi

Ekstraksi merupakan proses pengambilan senyawa tunggal maupun majemuk dari suatu bahan dengan menggunakan pelarut tertentu dalam mengekstraksinya (Hertika, 2011). Ekstraksi bahan alam bertujuan untuk menarik komponen atau kandungan kimia yang ada pada bahan alam. Prinsip dasar ekstraksi yaitu perpindahan masa komponen zat ke dalam pelarut. Perpindahan terjadi pada lapisan antarpermukaan kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut (Harborne, 1987). Ada beberapa cara ekstraksi yang biasa dilakukan yaitu maserasi, perkolasi, sokletasi, dan destilasi uap.

Partisi merupakan proses pemisahan senyawa dalam dua jenis zat pelarut yang tidak saling bercampur. Dasar pemisahan dengan cara partisi adalah perbedaan kelarutan dan syarat yang harus dipenuhi untuk melakukan hal ini adalah bahwa dua pelarut yang digunakan tidak saling bercampur. Partisi bertujuan untuk memisahkan senyawa aktif yang bercampur sehingga senyawa tertarik kedalam masing-masing pelarut berdasarkan tingkat kepolarannya (Rohman, 2007).

2.2.2 Ekstraksi secara Maserasi dan Partisi Ekstrak

Maserasi merupakan cara ekstraksi paling sederhana dan masih umum dilakukan karena teknik pengerjaan dan peralatanyang digunakan relatif sederhana serta mudah. Ekstraksi ini dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dengan cairan pengestraksi selama kurun waktu tertentu. Rendaman disimpan pada tempat yang terlindung dari sinar matahari langsung untuk mencegah reaksi yang dikatalisis cahaya atau perubahan warna. Saat perendaman, sampel akan mengalami pemecahan dinding sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel sehingga

metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik. Endapan yang diperoleh dipisahkan dan filtrat dipekatkan. Ekstrak yang diperoleh disebut sebagai ekstrak pekat.

Partisi ekstrak merupakan pemisahan senyawa yang bercampur berdasarkan perbedaan kepolaran dalam pelarut organik. Pemisahan dilakukan berulang kali sampai warna pelarut pada fraksi yang diinginkan bening dengan cara diaduk secara berkesinambungan. Pemisahan dilakukan dengan corong pisah sehingga diperoleh dua bagian yang sesuai dengan tingkat kepolarannya dengan perbandingan konsentrasi yang tetap. Filtrat yang berbeda selanjutnya dipekatkan sehingga didapatkan fraksi yang berbeda kepolarannya (Gu, 2000).

2.2.3 Pelarut yang digunakan Dalam Proses Ekstraksi dan Partisi

Komponen bioaktif yang terkandung dalam tanaman dapat diekstraksi dengan menggunakan pelarut polar dan non polar. Pelarut yang akan dipakai dalam proses ekstraksi harus memperhatikan sifat kandungan senyawa yang akan diisolasi. Sifat yang penting adalah polaritas dan gugus polar dari suatu senyawa. Pada prinsipnya suatu bahan akan mudah larut dalam pelarut yang sama polaritasnya (Sudarmaji *et al.*, 1989). Indeks polaritas pelarut yang digunakan dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Indeks Polaritas Pelarut

Pelarut	Indeks Polaritas (P)
Heksan (C ₆ H ₁₄)	0
Metanol (CH ₃ OH)	5,1
Etanol (C ₂ H ₅ OH)	5,2
Air (H ₂ O)	9,0

Sumber: Fessenden dan Fessenden (1997)

Beberapa contoh pelarut yang sering digunakan dalam proses ekstraksi dan partisi adalah:

a) Metanol

Metanol merupakan pelarut yang paling banyak digunakan dalam proses isolasi senyawa organik bahan alam. Metanol atau metil alkohol memiliki nama lain *wood alcohol* atau *spiritus* merupakan senyawa kimia dengan rumus kimia CH_3OH . Metanol tergolong senyawa polar yang disebut sebagai pelarut universal karena selain mampu mengekstrak komponen polar juga dapat mengekstrak komponen non polar seperti lilin dan lemak (Houghton dan Rahman, 1998 dalam Susanti, 2012).

Metanol ini tergolong bentuk alkohol paling sederhana. Pada keadaan atmosfer, metanol berbentuk cairan yang ringan, mudah menguap, tidak berwarna, mudah terbakar, dan beracun dengan bau yang khas. Metanol biasa digunakan sebagai pelarut, bahan bakar, bahan pendingin anti beku, dan sebagai bahan aditif bagi etanol industri. Larutan ini memiliki titik didih pada suhu $64,7^\circ\text{C}$ dan bersifat sangat larut dalam air (Hikmah dan Zuliyana, 2010).

b) Heksan

Heksana tergolong jenis pelarut non polar. Heksan merupakan senyawa hidrokarbon alkana dengan rumus kimia C_6H_{14} . Isomer utama n-heksana memiliki rumus molekul $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$. *Heks-* menunjukkan enam atom karbon yang terdapat pada heksana dan *-ana* berasal dari alkana yang merujuk pada ikatan tunggal yang menghubungkan atom-atom karbon tersebut. Pelarut heksan dikenal dengan nama lain *caproyl hydride* atau *hexyl hydride*. Titik didih pelarut ini adalah 69°C dan kelarutannya dalam air sebesar 0,014 pada suhu 15°C . Heksan merupakan pelarut yang paling ringan dalam mengangkat minyak yang terkandung dalam biji-bijian dan mudah menguap. Susanti (2012) dalam penelitiannya mengemukakan bahwa ekstraksi minyak bekatul menggunakan pelarut heksan memberikan hasil rendemen lebih besar, karena minyak bekatul yang bersifat non polar cenderung larut dalam pelarut yang bersifat non polar juga.

c) Etanol

Etanol sering digunakan sebagai pelarut dalam laboratorium karena mempunyai kelarutan yang relatif tinggi dan bersifat *inert* (tidak aktif) sehingga tidak bereaksi dengan komponen lainnya. Etanol memiliki titik didih yang rendah sehingga memudahkan pemisahan minyak dari pelarutnya dalam proses destilasi (Susanti, 2012). Etanol disebut juga etil-alkohol atau alkohol saja merupakan alkohol yang paling sering digunakan dalam kehidupan sehari-hari. Karena sifatnya yang tidak beracun bahan ini banyak dipakai sebagai pelarut dalam dunia farmasi dan industri makanan dan minuman.

Etanol merupakan jenis pelarut polar dengan rumus molekul C_2H_5OH dan titik didihnya pada suhu $78,4^{\circ}C$. Ekstraksi menggunakan pelarut etanol menghasilkan ekstrak yang lebih besar dibandingkan dengan menggunakan pelarut air. Pelarut etanol dapat melarutkan dengan baik dan mempunyai daya melarutkan yang tinggi terhadap zat yang diekstraksi (Parasetia *et al.*, 2012). Etanol merupakan pelarut organik yang dapat melarutkan hampir semua senyawa metabolit sekunder (Lailatul *et al.*, 2010).

2.3 Letal Konsentrasi 50 (LC₅₀)

2.3.1 Definisi Toksisitas

Toksisitas merupakan kemampuan suatu senyawa atau molekul kimia yang dapat menimbulkan kerusakan pada bagian yang peka di dalam maupun di luar tubuh makhluk hidup sehingga mematikan populasi serangga uji dalam jangka waktu tertentu (Pijono, 1988).

Uji toksisitas dilakukan untuk mempersempit kisaran dosis dan untuk mendapatkan persentase kematian. Besaran yang lebih spesifik dalam menyatakan kematian hewan uji umumnya menggunakan LD₅₀ (*lethal dose*) yang dinyatakan dalam satuan mg racun per kg berat badan hewan uji (mg/kg). Pada serangga, satuan yang lebih sering digunakan adalah konsentrasi sehingga kematian serangga uji

dinyatakan dengan LC_{50} (*lethal concentration*). Hal ini dikarenakan jumlah racun yang diberikan pada serangga uji tidak dapat diketahui dengan pasti dan insektisida yang digunakan hanya dinyatakan dalam satuan konsentrasi. Konsentrasi ini ditentukan melalui paparan sejumlah serangga dengan konsentrasi yang berbeda dari sampel pada makanan serangga target, menginkubasinya pada batas waktu tertentu, kemudian mencatat persen kematian pada masing-masing konsentrasi (Priyono, 1988).

2.3.2 Perhitungan LC_{50}

Efektifitas insektisida dalam membunuh serangga uji dinyatakan dalam satuan LC_{50} . Toksisitas insektisida (LC_{50}) dinyatakan sebagai konsentrasi insektisida yang dapat mematikan separuh dari populasi serangga uji setelah jangka waktu tertentu (Priyono, 1988). Analisis statistik yang umum digunakan untuk menghitung nilai LC_{50} adalah analisa probit dengan data mortalitas sebagai acuan penghitungan nilai LC_{50} (Finney, 1971). Menurut Priyono (1988), persentase kematian serangga dapat dihitung menggunakan rumus:

$$Po = \frac{r}{n} \times 100\%$$

keterangan:

Po : persentase kematian serangga uji

r : jumlah serangga uji yang mati

n : jumlah serangga uji secara keseluruhan (awal)

Apabila kematian pada perlakuan kontrol lebih dari 5% dan kurang dari 20% maka kematian serangga uji pada perlakuan dihitung menggunakan rumus Abbott yaitu:

$$P_t = \frac{P_o - P_c}{100 - P_c} \times 100\%$$

keterangan:

P_t : persentase kematian serangga setelah dikoreksi

P_o : persentase serangga uji yang mati pada perlakuan

P_c : persentase serangga uji yang mati pada kontrol

Grafik dibuat dengan log konsentrasi sebagai sumbu x terhadap mortalitas serangga uji sebagai sumbu y. Nilai LC_{50} merupakan konsentrasi dimana zat menyebabkan kematian sebesar 50% yang diperoleh dengan memakai persamaan regresi linier sebagai berikut:

$$y = a + bx$$

keterangan:

y : nilai probit mortalitas

a : konstanta (perpotongan garis regresi dengan sumbu y)

b : kemiringan garis regresi

x : logaritma konsentrasi bahan uji

Nilai LC_{50} diperoleh dari hasil anti log nilai uji m. Nilai m merupakan logaritma konsentrasi bahan toksik pada $y=5$, yaitu nilai probit 50% serangga uji, sehingga persamaan regresi menjadi:

$$m = \frac{5 - a}{b}$$

keterangan:

m : logaritma konsentrasi pada $y=5$

5 : probit untuk persen konsentrasi penyebab kematian 50% ($y_{50}=5$)

a : konstanta (perpotongan garis regresi dengan sumbu y)

b : kemiringan garis regresi

Nilai dari keefektifan larutan uji yang digunakan dalam membunuh 50% serangga uji diperoleh dari $LC_{50} = \text{antilog } m$. Nilai LC_{50} ditentukan dengan persamaan regresi probit dan interval kepercayaan 95%. Dalam hal ini beberapa program komputer telah digunakan untuk analisis probit. Salah satunya adalah program dalam *basic* yang dikembangkan oleh D. J. Finney.

2.3.3 Metode Uji Toksisitas

Metode pengujian toksisitas senyawa aktif terhadap serangga uji dapat dilakukan dengan menggunakan metode racun perut, racun pernafasan, dan racun kontak.

a) Racun Perut

Insektisida yang bekerja sebagai racun perut adalah insektisida yang membunuh serangga apabila insektisida tersebut termakan dan masuk ke dalam organ pencernaan serangga dan diserap oleh dinding saluran pencernaan. Selanjutnya dibawa dalam cairan tubuh serangga menuju tempat sasaran yang mematikan, misalnya ke susunan saraf serangga. Oleh karena itu, serangga harus memakan terlebih dahulu tanaman yang telah disemprot dengan insektisida dalam jumlah yang cukup untuk membunuhnya (Djojsumarto, 2000). Pengujian insektisida racun perut dapat dilakukan dengan cara menyemprotkan atau mencelupkan sumber makanan serangga dengan cairan insektisida. Kemudian sumber makanan diberikan pada serangga uji yang sebelumnya telah dipuaskan (Priyono, 1988).

b) Racun Pernafasan

Insektisida yang bekerja sebagai racun pernafasan merupakan jenis insektisida yang bekerja lewat saluran pernafasan. Jenis insektisida ini berupa gas, bila asalnya padat atau cair akan berubah maupun menghasilkan gas. Serangga akan mati jika menghirup insektisida ini (Djojsumarto, 2000).

c) Racun Kontak

Insektisida yang bekerja sebagai racun kontak akan masuk ke dalam tubuh serangga sasaran melalui kulit (kutikula) dan diedarkan ke bagian tubuh serangga tempat insektisida aktif bekerja. Sehingga serangga akan mati apabila bersinggungan secara langsung (kontak) dengan insektisida tersebut (Djojsumarto, 2000). Pengujian insektisida racun kontak dilakukan dengan melarutkan insektisida dalam pelarut yang mudah menguap dan diteteskan pada permukaan tubuh (Priyono, 1988).

Aplikasi insektisida racun kontak dapat dilakukan dengan berbagai metode seperti metode injeksi, metode celup, dan metode residu. Pada metode injeksi, insektisida disuntikkan pada bagian sternum. Metode celup dilakukan dengan menyelupkan serangga uji dalam larutan insektisida selama beberapa detik. Metode residu dilakukan dengan menyebar secara merata larutan insektisida pada permukaan substrat tertentu, misal kertas saring dan dimasukkan ke dalam wadah yang berisi bahan yang telah diberi perlakuan. Metode residu merupakan metode standar untuk pengujian insektisida terhadap beberapa jenis serangga gudang seperti *H. hampei* (Priyono, 1988).

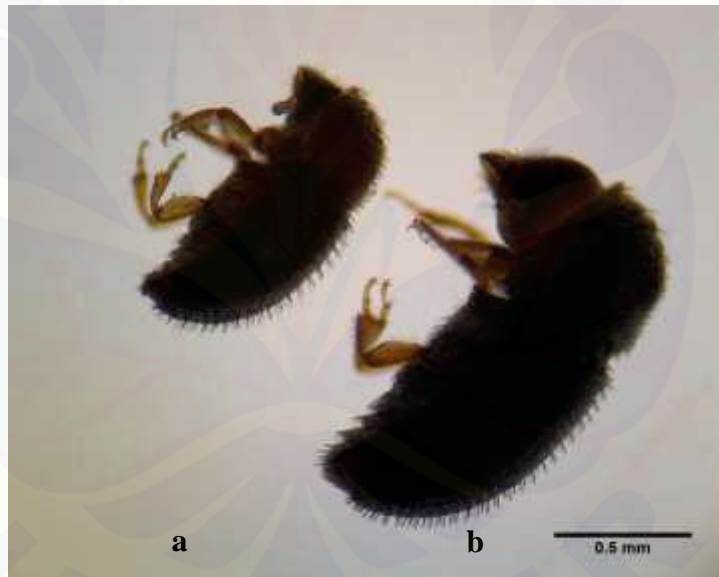
2.4 Serangga Uji *Hypothenemus hampei* (Ferr.)

2.4.1 Taksonomi *H. hampei*

Klasifikasi ilmiah dari hama penggerek buah kopi (*H. hampei*) yaitu sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Filum	: Arthropoda
Kelas	: Insekta
Ordo	: Coleoptera
Famili	: Scolytidae
Genus	: <i>Hypothenemus</i>
Spesies	: <i>H. hampei</i> (Kalshoven, 1981)

H. hampei atau hama penggerak buah kopi (PBKo) tergolong famili Scolytidae dan ordo Coleoptera. *H. hampei* merupakan kumbang yang berukuran kecil dengan warna tubuh hitam kecoklatan dan tungkainya berwarna lebih muda, badannya bulat dengan kepala berbentuk segitiga yang ditutupi oleh rambut-rambut halus. Ukuran tubuh kumbang betina dewasa lebih besar dibandingkan kumbang jantan yaitu dengan panjang tubuh 1,5 mm (gambar 2.2). Kumbang jantan memiliki panjang tubuh yang lebih kecil yaitu 1,0 mm dan tidak mampu terbang. Badan kumbang ini bulat pendek dengan pronotum sepertiga panjang badan yang menutupi kepala (Vijayalakshmi *et al*, 2013). Panjang antenna 0,4 mm, dengan kepala yang tidak terlihat dari atas karena tertutup oleh pronotum (Irulandi *et al*, 2007).



Gambar 2.2 Imago *H. hampei* (a) Jantan (b) Betina

(Sumber: dokumentasi pribadi,2014)

2.4.2 Siklus Hidup *H. hampei*

Kumbang betina yang telah berkopulasi akan membuat lubang gerakan dari permukaan kulit luar kopi (mesokarp) di bagian ujung buah dan akan meletakkan

telur jika buah sudah cukup matang (Baker *et al.*, 1992). Setiap induk selama hidupnya mampu bertelur maksimal sebanyak 74 butir dan mampu menghasilkan 2-3 butir telur perhari. Setelah bertelur kumbang betina akan meninggalkan pejantan yang bertugas menjaga telur dan mulai menggerek buah kopi yang lain. Seekor kumbang betina dalam 3-4 hari mampu menggerek 5-6 buah kopi. Kumbang betina bersayap mampu terbang dari buah kopi satu ke buah kopi yang lain, sedangkan kumbang jantan tetap tinggal pada lubang gerekkan hingga telur yang diletakkan menetas. Apabila telur yang diletakkan menjadi kumbang betina dewasa maka akan terjadi perkawinan di dalam lubang gerekkan (Irulandi *et al.*, 2007).

Telur yang diletakkan dalam biji kopi akan menetas setelah 5-6 hari menjadi larva. Larva memiliki bagian kepala yang jelas dan tidak bertungkai. Panjang larva sekitar 1,5 mm, berwarna putih, dan bagian alat mulut berwarna cokelat. Lamanya stadia larva yaitu 10-26 hari. Larva yang baru menetas berada pada lubang gerekkan akan memakan biji kopi sehingga menimbulkan kerusakan yang cukup parah (Irulandi *et al.*, 2007; Wiryadiputra, 2007). Larva akan mengalami masa istirahat (prepupa) selama 2 hari. Lama stadia pupa sekitar 4-9 hari. Pupa berwarna putih dengan panjang tubuh sekitar 1 mm. Perkembangan dari telur menjadi imago berlangsung hanya di dalam biji keras yang sudah matang. Siklus hidup *H. hampei* dari telur sampai dewasa adalah 24-49 hari, tergantung kondisi cuaca, terutama temperatur (Wiryadiputra, 2012).

Kumbang penggerek ini dapat mengalami kematian secara prematur pada biji di dalam endosperma jika tidak tersedia substrat yang dibutuhkan. Kumbang ini diperkirakan dapat bertahan hidup selama kurang lebih satu tahun pada biji kopi dalam kontainer tertutup (Kalshoven, 1981). *H. hampei* dapat berkembangbiak dan bertahan hidup selama 1 tahun dalam peti penyimpanan biji kopi yang tersimpan rapat. Saat tanaman kopi tidak berbuah, kumbang ini mampu bertahan hidup dengan menggerek kayu yang tidak keras atau tanaman stem, meskipun tidak dapat berkembang biak (Balfas, 2010). Dalam buah tua dan kering yang tertinggal setelah

panen, dapat ditemukan lebih dari 100 kumbang (Direktorat Perlindungan Perkebunan, 2002).

Menurut Khalsoven (1981) perbandingan jumlah serangga jantan dan betina yaitu 1: 20, namun seekor pejantan mampu mengawini 12 ekor kumbang betina dengan masing-masing betina mampu menghasilkan telur hingga 70 butir. Saat akhir panen kopi populasi serangga mulai turun karena terbatasnya makanan, populasi serangga hampir semuanya betina, karena serangga betina memiliki umur yang lebih panjang dibanding serangga jantan. Pada kondisi demikian perbandingan serangga betina dan jantan dapat mencapai 500:1 (Wiryadiputra, 2007).

Kumbang betina rata-rata umurnya mencapai 156 hari, sedangkan kumbang jantan lebih singkat yaitu 78-103 hari. Perkawinan terjadi di dalam lubang gerakan biji kopi. Setelah itu kumbang betina akan terbang mencari buah kopi lain untuk tempat bertelurnya (Direktorat Perlindungan Perkebunan, 2002).

2.4.3 Serangan *H. hampei* di Kebun Kopi

Serangga *H. hampei* diketahui menyukai tanaman kopi yang rimbun dengan naungan yang gelap. Kondisi demikian tampaknya berkaitan dengan daerah asal dari hama PBKo, yaitu Afrika dimana serangga PBKo menyerang tanaman kopi liar yang berada di bawah hutan tropis yang lembab. Kondisi serupa juga dijumpai di Brazil, dimana serangan berat hama PBKo biasanya terjadi pada pertanaman kopi dengan naungan berat dan berkabut sehingga kelembaban udara cukup tinggi (Wiryadiputra, 2007). Kumbang ini banyak ditemukan pada kebun kopi yang bernaungan, lebih lembab atau di perbatasan perkebunan (Direktorat Perlindungan Perkebunan, 2002). Umumnya hama ini menyerang buah kopi yang endospermnya mulai mengeras dengan cara membuat lubang gerakan dan hidup di dalamnya. Namun terkadang hama ini juga menyerang buah kopi yang bijinya belum mengeras. Buah kopi yang bijinya masih lunak umumnya diserang untuk mendapatkan makanan kemudian ditinggalkan. Buah demikian tidak berkembang, warnanya berubah menjadi kuning

kemerahan dan akhirnya gugur. Selain menyerang buah kopi yang ada di kebun, *H. hampei* juga menyerang buah kopi di tempat penyimpanan (Irulandi *et al.*, 2007).

Serangan hama ini terjadi maksimum pada kelembaban 90% dengan suhu berkisar antara 20-25°C. Kelembaban 90-100% dengan suhu <20-15 °C menunjukkan serangan hama rendah bahkan mati. Suhu di atas 25 °C tidak memicu peningkatan populasi hama (Baker *et al.*, 1992). Aktivitas kumbang ini terjadi pada pagi hingga sore hari. Wiryadiputra (2007) mengatakan bahwa serangga betina akan terbang mencari buah kopi baru pada sore hari yaitu sekitar pukul 16.00 sampai dengan 18.00.

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan dari bulan Juni-Oktober 2014 di Laboratorium Zoologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jember.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain *beaker glass*, timbangan, pisau, erlenmeyer, *rotary evaporator*, gelas ukur, corong, spatula, mesin penggiling, pipet tetes, mikrometer pipet ukuran 10-100 μ l, kontainer plastik pemeliharaan serangga, kuas, kain, karet gelang, mikroskop stereo, *cutter*, *stirrer*, corong pisah, dan cawan petri.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain imago *H. hampei* dari perkebunan kopi di Durjo, kertas saring, biji kopi kulit tanduk jenis robusta, etanol 96%, heksan, metanol 96%, $MgSO_4$, rimpang dringo dari daerah Gebang, akuades, tween 80, tisu, aluminium foil, *gloove*, gelas plastik, kertas karbon, dan kertas manila putih.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium yang dilakukan menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan faktor tunggal berupa konsentrasi formula fraksi metanol dan heksan dari ekstrak rimpang dringo (*A. calamus*). Hasil partisi ekstrak rimpang dringo dengan pelarut polar dan non polar diuji tingkat toksisitasnya terhadap *H. hampei*. Uji toksisitas fraksi metanol dan heksan dari ekstrak rimpang dringo (*A. calamus*) dilakukan secara *in vitro* terhadap *H. hampei* menggunakan metode kontak. Respon yang diamati adalah mortalitas *H. hampei*.

3.4 Persiapan Penelitian

Tahapan ini bertujuan untuk mempersiapkan bahan utama, dalam hal ini adalah penyediaan serangga uji (*H. hampei*) dan pembuatan ekstrak *A. calamus* dengan fraksi pelarut polar dan non polar.

3.4.1 Pembiakan *H. hampei*

H. hampei diperoleh dari perkebunan kopi di Perkebunan Durjo, Kabupaten Jember dengan ciri-ciri terdapat lubang di bagian ujung buah kopi. Buah kopi yang terserang hama PBKo dicuci bersih dengan air mengalir kemudian dikeringanginkan pada kertas manila putih selama semalam dengan suhu kamar. Setelah semalam, buah yang menghasilkan gerakan berupa bubuk berwarna putih hingga hitam disekitar lubang diambil untuk dikembangkan dalam kontainer.

Biji kopi berkulit tanduk dimasukkan dalam kontainer dan digunakan sebagai media pembiakan serta pakan bagi serangga uji. *H. hampei* betina yang telah kawin diperoleh dari buah kopi yang terserang dan dimasukkan dalam kontainer menggunakan kuas halus. Serbuk gerakan dibersihkan setiap tiga hari sekali (Sulistiyowati, 1999). Untuk mendapatkan serangga dengan umur yang seragam, setelah infestasi selama 25-30 hari maka biji dapat dibelah untuk mendapatkan imago. Kemudian imago siap digunakan untuk uji penelitian.

3.4.2 Pengambilan dan Persiapan Ekstrak Rimpang *A. calamus*

Sampel yang diperlukan untuk penelitian diperoleh dari daerah Gebang, Kecamatan Patrang, Kabupaten Jember yang diambil pada tahun 2014. Bagian yang akan digunakan adalah rimpang yang telah dicuci bersih, diiris tipis setebal 1-2 mm untuk mempercepat proses pengeringan dan dikeringanginkan pada udara terbuka sampai kering selama ± 10 hari dan tidak terkena cahaya matahari secara langsung (Ghosh *et al.*, 2011). Sampel kering tersebut kemudian digiling sampai berbentuk serbuk dan diekstrak dengan metode maserasi.

3.4.3 Ekstraksi dan Partisi Rimpang *A. calamus*

Serbuk dringo masing-masing sebanyak 100 gram direndam dengan 400 mL etanol 96% yang sebelumnya telah dicampur MgSO_4 (1 kg : 5 liter). Pemberian MgSO_4 berfungsi untuk mengikat kadar air dalam etanol 96%. Perendaman serbuk dan pelarut dilakukan dengan perbandingan 1:4. Maserasi dilakukan selama 24 jam dengan beberapa kali pengadukan pada suhu kamar. Proses maserasi diulang sebanyak 2 kali. Setelah 24 jam hasil rendaman disaring dengan corong, ampasnya dipisahkan dan filtrat yang diperoleh dipekatkan menggunakan *vacum rotary evaporator* pada suhu 50-55°C (Suhaendah *et al.*, 2006) dengan tekanan 250-300 mmHg hingga diperoleh ekstrak berwarna cokelat.

Hasil ekstrak rimpang dringo dipisahkan menggunakan pelarut organik yang berbeda kepolarannya yaitu metanol (polar) dan heksan (non polar). Ekstrak etanol rimpang dringo sebanyak 280 mL ditambah metanol 96% yang sebelumnya telah direndam dengan MgSO_4 hingga volumenya menjadi 450 mL. Campuran terus diaduk agar terpisah diatas *stirrer* dan ditambah 200 mL heksan secara berulang hingga tiga kali penambahan sehingga dihasilkan lapisan yang berbeda (Suhaendah *et al.*, 2006). Lapisan yang berbeda kemudian dipisahkan menggunakan corong pisah. Selanjutnya hasil partisi ekstrak rimpang dringo dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada

suhu 40-50 °C dengan tekanan 160-360 mmHg. Hasil pemekatan partisi ekstrak disebut fraksi metanol dan fraksi heksan, yang kemudian disimpan dalam lemari es (4°C) hingga saat digunakan.

3.5 Pelaksanaan Penelitian

3.5.1 Uji Pendahuluan

Uji pendahuluan dilakukan untuk mengetahui kisaran konsentrasi fraksi metanol dan heksan yang dapat mengakibatkan kematian serangga uji antara 0-100%. Menurut Prijono (1988), pembuatan larutan ekstrak dengan konsentrasi tertentu menggunakan rumus sebagai berikut:

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

keterangan:

V_1 : volume mula-mula

V_2 : volume kedua

N_1 : konsentrasi mula-mula

N_2 : konsentrasi kedua

Larutan uji dibuat dengan melarutkan fraksi metanol maupun heksan pada larutan emulsi tween 80 agar ekstrak dapat larut dalam air pada waktu pembuatan larutan (Anyaele dan Amusan, 2001). Setelah tercampur merata larutan stok diencerkan dengan akuades sesuai konsentrasi yang digunakan. Konsentrasi ekstrak yang digunakan adalah 0,25%; 0,5%; 1%; 2%; 4%; dan 0% akuades sebagai kontrol (Tabel 3.1).

Penelitian uji pendahuluan dilakukan dengan aplikasi racun kontak menggunakan metode residu. Aplikasi racun kontak dengan metode residu dilakukan dengan cara meneteskan larutan uji sebanyak 0,1 ml secara merata pada permukaan kertas saring. Penetesan dilakukan dengan gerakan spiral dari arah luar ke dalam dan

dikeringanginkan selama 2 menit. Setelah 2 menit, kertas saring diletakkan dalam gelas plastik yang bagian dindingnya telah dilapisi dengan minyak agar serangga tidak memanjat ke atas dan 10 ekor *H. hampei* dewasa diletakkan di atas kertas saring. Gelas ditutup dan diberi lubang agar udara dapat masuk ke dalam gelas. Pengujian dilakukan pada suhu kamar (24-25 °C) (Priyono, 1988).

Tabel 3.1 Konsentrasi larutan fraksi metanol dan fraksi heksan ekstrak rimpang *A. calamus* yang digunakan

Konsentrasi larutan (%)	ml ekstrak / ml emulsi / ml akuades
K (0%)	4 ml akuades
P ₁ (0,25%)	0,01 ml ekstrak + 0,01 ml tween + 3,98 ml akuades
P ₂ (0,5%)	0,02 ml ekstrak + 0,02 ml tween + 3,96 ml akuades
P ₃ (1%)	0,04 ml ekstrak + 0,04 ml tween + 3,92 ml akuades
P ₄ (2%)	0,08 ml ekstrak + 0,08 ml tween + 3,84 ml akuades
P ₅ (4%)	0,16 ml ekstrak + 0,16 ml tween + 3,68 ml akuades

Pengamatan dilakukan dengan menghitung persentase kematian serangga setiap jam yaitu jam ke-1, jam ke-2, jam ke-3, jam ke-4, kemudian pada jam ke-24. Setelah 24 jam pengujian, serangga dipindah ke dalam gelas baru dan diberi pakan berupa biji kopi berkulit tanduk. Pengamatan respon dan kematian serangga dicatat pula hingga hari ke tujuh. Uji pendahuluan dilakukan selama 7 hari (168 jam) dan mortalitas serangga selama seminggu dicatat. Pengamatan dilakukan di bawah mikroskop stereo, apabila serangga yang didorong-dorong dengan kuas tidak memberikan respon (tidak bergerak sama sekali) selama 2 menit maka serangga dianggap mati.

3.5.2 Uji Toksisitas Fraksi Metanol dan Heksan Ekstrak Rimpang Dringo terhadap *H. hampei* (LC₅₀)

Pengujian dilakukan dengan aplikasi racun kontak menggunakan metode residu. Langkah awal dari metode ini adalah persiapan formulasi ekstrak rimpang dringo (*A. calamus*) berdasarkan hasil uji pendahuluan. Kontrol menggunakan akuades. Fraksi metanol dan heksan ekstrak rimpang *A. calamus* sebanyak 0,1 ml

diteteskan secara merata pada kertas saring berdiameter 3 cm. Penetasan dilakukan dengan gerakan spiral dari arah luar ke dalam dan dikeringanginkan selama 2 menit. Sebanyak 10 ekor *H. hampei* dewasa diletakkan di atas kertas saring yang telah diberi perlakuan dalam gelas plastik kemudian ditutup. Serangga diperlakukan dengan senyawa aktif dari rimpang dringo selama 24 jam. Setelah 24 jam pemaparan, serangga dipindahkan pada gelas plastik baru dan diberi pakan kemudian diamati responnya selama 7 hari (168 jam). Serangga dinyatakan mati apabila anggota badannya sudah tidak bergerak lagi selama 2 menit dengan mendorongnya menggunakan kuas halus. Pada setiap konsentrasi perlakuan dilakukan 5 kali ulangan.

3.6 Analisis Data

Analisis data yang digunakan untuk menentukan nilai LC_{50} adalah analisis probit, sedangkan analisis yang digunakan untuk menentukan efektifitas konsentrasi fraksi metanol dan heksan ekstrak rimpang dringo (*A. calamus*) terhadap kematian *H. hampei* adalah ANAVA ($\alpha=5\%$). Apabila hasilnya bermakna ($p<0,05$) maka dilanjutkan dengan Uji Duncan 5%. Uji T dilakukan untuk membandingkan efektifitas antara fraksi metanol dan heksan ekstrak rimpang dringo (Agus, 2010).

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji pendahuluan dilakukan sebelum uji sesungguhnya untuk memperoleh kisaran konsentrasi fraksi metanol dan fraksi heksan ekstrak rimpang dringo yang dapat menyebabkan kematian pada *H. hampei* antara 0% hingga 100%. Hasil pengamatan berdasarkan uji pendahuluan, diperoleh persentase kematian *H. hampei* setelah 7 hari perlakuan (168 jam) (Tabel 4.1).

Tabel 4.1. Kematian *Hypothenemus hampei* 7 hari (168 jam) setelah pemberian fraksi metanol dan heksan ekstrak Rimpang Dringo pada uji pendahuluan

Konsentrasi (%)	Kematian (%)	
	Fraksi Metanol	Fraksi Heksan
0	0	0
0,25	10	80
0,5	10	70
1	30	90
2	30	100
4	60	100
6	60	100

Tabel 4.1 menunjukkan bahwa perlakuan dengan fraksi metanol ekstrak rimpang dringo (*A. calamus*) pada dua konsentrasi tertinggi yaitu 4% dan 6% mengakibatkan kematian *H. hampei* 60%, sedangkan konsentrasi terendah 0,25% fraksi heksan ekstrak rimpang dringo telah mengakibatkan kematian 80%. Fraksi metanol ekstrak rimpang dringo yang menyebabkan kematian serangga uji melebihi 50% tidak digunakan dalam penelitian sesungguhnya, sehingga batasan konsentrasi terendah untuk fraksi metanol maupun heksan ekstrak rimpang dringo yang digunakan dalam uji sesungguhnya adalah 0,1% dan konsentrasi tertinggi sebesar 3%.

Berdasarkan hasil uji pendahuluan tersebut maka kisaran konsentrasi yang digunakan pada uji sesungguhnya adalah 0,1%, 0,2%, 0,4%, 0,8%, 1%, 1,5%, 3%, dan kontrol.

4.1 Pengaruh Fraksi Metanol dan Heksan Ekstrak Rimpang Dringo (*A. calamus*) terhadap *H. hampei* (Ferr.)

Persentase kematian serangga *H. hampei* dalam berbagai konsentrasi perlakuan ekstrak rimpang dringo dengan fraksi metanol dan heksan ditunjukkan pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2. Persentase kematian *H. hampei* setelah 7 hari perlakuan (168 jam) dengan fraksi metanol dan heksan ekstrak rimpang dringo (*A. calamus*)

Konsentrasi (%)	Kematian (Rata-rata \pm SD) (%)	
	Fraksi Metanol	Fraksi Heksan
Kontrol	0 \pm 0.55	0 \pm 0.55 ^b
0.1	11.90 \pm 2.61	88.10 \pm 1.73 ^a
0.2	38.10 \pm 3.63	83.33 \pm 1.67 ^a
0.4	30.95 \pm 2.17	95.24 \pm 0.55 ^a
0.8	14.29 \pm 1.10	90.48 \pm 0.84 ^a
1	26.19 \pm 1.64	95.24 \pm 0.89 ^a
1.5	19.05 \pm 1.10	92.86 \pm 1.34 ^a
3	30.95 \pm 2.49	97.62 \pm 0.45 ^a

Keterangan: Huruf *superscrip* yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan nilai yang berbeda nyata (Uji ANAVA, dilanjutkan Uji Duncan pada $\alpha=5\%$)

Pada Tabel 4.2 dapat dilihat persentase rata-rata kematian \pm SD (*standart deviasi*) *H. hampei* pada fraksi metanol pada konsentrasi 0,1%, 0,2%, 0,4%, 0,8%, 1%, 1,5%, dan 3% berturut-turut adalah 11,90% \pm 2.61, 38,10% \pm 3.63, 30,95% \pm 2.17, 14,29% \pm 1.10, 26,19% \pm 1.64, 19,05% \pm 1.10, dan 30,95% \pm 2.49. Sedangkan rata-rata kematian \pm SD *H. hampei* pada fraksi heksan dengan konsentrasi 0,1%, 0,2%, 0,4%, 0,8%, 1%, 1,5%, dan 3% secara berturut-turut adalah 88,10% \pm 1.73, 83,33% \pm 1.67, 95,24% \pm 0.55, 90,48% \pm 0.84, 95,24% \pm 0.89, 92,86% \pm 1.34, dan 97,62% \pm 0.45.

Berdasarkan hasil analisis varian fraksi metanol ($\alpha=5\%$) diperoleh nilai ($P=0,326$) $> 0,05$ (Lampiran C). Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak rimpang dringo (*A. calamus*) dengan fraksi metanol tidak berpengaruh terhadap kematian *H. hampei*. Pelarut metanol adalah pelarut dengan rumus kimia CH_3OH yang bersifat polar dan digunakan untuk menarik senyawa aktif yang bersifat polar pada tanaman. Senyawa aktif yang bersifat polar dalam ekstrak rimpang dringo adalah flavonoid. Senyawa flavonoid umumnya bersifat sebagai racun perut dengan cara menghambat aktivitas makan (*antifeedant*) pada serangga (Ambarningrum *et al.*, 2007). Senyawa ini berpengaruh dalam menurunkan aktivitas enzim protease dan amilase sehingga kemampuan mencerna makanan pada serangga akan menurun. Apabila proses pencernaan menurun akan mengakibatkan penyerapan nutrisi juga terhambat sehingga serangga akan mati karena nutrisi pada tubuhnya tidak terpenuhi (Shahabuddin dan Pasar, 2009). Flavonoid yang bersifat sebagai racun perut dalam pengujiannya harus masuk melalui mulut yaitu dengan memaparkannya pada sumber makanan. Hal ini diduga mengakibatkan konsentrasi ekstrak rimpang dringo (*A. calamus*) dengan fraksi metanol tidak berpengaruh terhadap kematian *H. hampei*.

Berdasarkan hasil analisis varian fraksi heksan ($\alpha=5\%$) diperoleh nilai ($P=0,00$) $< 0,05$ (Lampiran D), hal ini menunjukkan bahwa ekstrak rimpang dringo (*A. calamus*) dengan fraksi heksan berpengaruh terhadap persentase kematian *H. hampei*. Heksan merupakan senyawa hidrokarbon alkana dengan rumus kimia C_6H_{14} dan bersifat non polar. Heksan hanya memiliki gugus non polar ($-\text{CH}_3$) sehingga pelarut ini hanya mampu mengikat senyawa yang bersifat non polar selama proses ekstraksi (Thompson, 1990). Senyawa aktif yang bersifat non polar pada ekstrak rimpang dringo adalah saponin dan asaron (Muthuraman dan Singh, 2011; Park *et al.*, 2003). Menurut Park *et al.* (2003) hasil uji fitokimia ekstrak rimpang dringo dengan fraksi heksan menggunakan kromatografi gel silica dan HPLC menunjukkan adanya kandungan senyawa asaron yang bersifat toksik terhadap serangga sehingga menyebabkan kematian pada *Sitophilus oryzae*.

Menurut Hasnah (2012), ekstrak rimpang dringo mengandung senyawa aktif yaitu asaron yang bersifat toksik terhadap larva *Spodoptera litura*. asaron masuk ke dalam tubuh serangga melalui kulit dengan cara kontak atau bersentuhan secara langsung sehingga mengganggu sistem saraf dan mengakibatkan kematian. Hal ini sesuai dengan pernyataan Untung (2006) bahwa senyawa aktif yang diberikan secara kontak dapat terserap melalui kulit pada saat pemberian insektisida maupun terkena sisa insektisida (residu) beberapa waktu setelah perlakuan. Senyawa asaron menyerang enzim asetil-kolinesterase yang menyebabkan penumpukan asetil kolin pada sistem saraf serangga. Penumpukan asetil kolin ini akan menghambat hantaran impuls dari neuron ke sel otot sehingga menyebabkan otot serangga kejang dan terjadi kelumpuhan kemudian serangga akan mati (Tarumingkeng, 1992).

Saponin merupakan senyawa aktif non polar yang bersifat mirip deterjen dan memiliki efek menurunkan tegangan permukaan kulit sehingga merusak permukaan kulit. Sifat seperti deterjen ini dapat meningkatkan penetrasi senyawa toksik karena dapat melarutkan bahan-bahan lipofilik dengan air. Deterjen dapat mengganggu lapisan lipid dari epikutikula serta mengganggu lapisan protein endokutikula sehingga berakibat senyawa toksik dapat masuk dengan mudah ke dalam tubuh serangga (Tarumingkeng, 1992).

Hasil analisis varian fraksi heksan kemudian di uji lanjut dengan uji Duncan (Lampiran D), persentase kematian *H. hampei* pada konsentrasi 0,1%, 0,2%, 0,4%, 0,8%, 1%, 1,5%, dan 3% berbeda nyata dengan kontrol, namun antar perlakuan tidak berbeda nyata. Hal ini menunjukkan bahwa semua konsentrasi larutan uji memberikan pengaruh yang signifikan terhadap kematian *H. hampei*.

Untuk mengetahui efektifitas ekstrak rimpang dringo dengan menggunakan dua pelarut yang berbeda kepolarannya yaitu fraksi metanol (polar) dan fraksi heksan (non polar) maka dilakukan Uji T. Berdasarkan hasil *independent T-test* (lampiran E), diperoleh nilai $(P=0,000) < 0,05$ yang berarti terdapat perbedaan yang nyata antara penggunaan fraksi metanol dan fraksi heksan terhadap kematian *H. hampei*. Fraksi

heksan ekstrak rimpang dringo (*A. calamus*) mengandung senyawa non polar yang mudah masuk ke dalam membran sel melalui proses difusi sehingga menyebabkan sel lebih cepat mengalami kerusakan atau mati. Fraksi metanol mengandung senyawa polar yang tidak mudah berdifusi memasuki membran sel, hal ini mengakibatkan senyawa polar lebih sulit untuk masuk ke dalam membran sel sehingga nilai ketoksikan senyawa polar lebih rendah (Widya, 2013).

Data kematian *H. hampei* diolah dengan analisis probit yang disajikan pada Tabel 4.3 untuk menentukan hubungan konsentrasi dan kematian, termasuk menentukan LC_{50} .

Tabel 4.3. Hasil analisis probit pada pengujian fraksi metanol dan heksan ekstrak rimpang dringo terhadap *H. hampei*

Hasil Analisis Probit	Fraksi Metanol	Fraksi Heksan
Nilai LC_{50} (%)	7.47	Tidak terdefinisi
Persamaan Regresi	$Y = 17.635 + 4.335X$	$Y = 88.479 + 3.356X$
Limit Kepercayaan 95%	$-7.36801 < x < 16.03843$	$-0.72867 < x < 7.44217$

Setelah dilakukan pengolahan data menggunakan analisis probit (Lampiran A) diperoleh persamaan regresi untuk perlakuan dengan fraksi metanol yaitu $Y = 17,635 + 4,355X$ (Y adalah kematian dan X adalah konsentrasi). Persamaan tersebut menghasilkan nilai LC_{50} pada konsentrasi 7,47%, hasil ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak rimpang dringo pada konsentrasi 7,46% dengan fraksi metanol dapat menyebabkan kematian *H. hampei* sebesar 50%. Dari nilai regresi (lampiran a), diperoleh koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,12. Hal ini dapat diartikan bahwa hanya sebesar 12% senyawa aktif yang ada pada fraksi metanol menyebabkan kematian pada *H. hampei* sedangkan sisanya disebabkan oleh faktor lain.

Berdasarkan hasil analisis probit (Lampiran B), diperoleh persamaan regresi untuk perlakuan dengan fraksi heksan yaitu $Y = 88.479 + 3.356X$ (Y adalah kematian dan X adalah konsentrasi). Persamaan tersebut menghasilkan nilai LC_{50} yang tidak dapat didefinisikan, karena pada pemberian ekstrak rimpang dringo pada konsentrasi

terendah dengan fraksi heksan menyebabkan kematian *H. hampei* lebih dari 50%. Dari nilai regresi yang diperoleh koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,47. Hal ini dapat diartikan bahwa hanya sebesar 47% senyawa aktif yang ada pada fraksi heksan menyebabkan kematian pada *H. hampei* sedangkan sisanya disebabkan oleh faktor lain. Faktor lain yang mampu menyebabkan kematian pada serangga uji antara lain dari sifat morfologis dan fisiologis, serta sifat biokimia serangga. Sifat morfologis dan fisiologis ini seperti perbedaan tebal kutikula atau bulu dan perbedaan kecepatan dalam menguraikan insektisida di dalam tubuh serangga. Sedangkan sifat biokimia serangga yang mampu menyebabkan kematian seperti adanya enzim yang mampu melakukan proses inaktivasi zat aktif di dalam tubuh serangga (Natawigena, 1968).

Apabila suatu insektisida memiliki nilai LC_{50} pada konsentrasi tinggi maka toksisitas insektisida tersebut tergolong rendah. Namun sebaliknya, semakin rendah nilai konsentrasi insektisida yang memiliki LC_{50} maka semakin tinggi toksisitas insektisida tersebut (Atmoko dan Ma'ruf, 2009). Ekstrak rimpang dringo dengan fraksi heksan memiliki toksisitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak rimpang dringo menggunakan fraksi metanol. Hal ini dapat dilihat dari konsentrasi terendah pada fraksi heksan mampu menyebabkan kematian *H. hampei* lebih dari 50%.

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Ekstrak rimpang dringo (*A. calamus*) dengan fraksi heksan memiliki efek toksik yang lebih besar terhadap *H. hampei* dibandingkan dengan fraksi metanol, hal ini terlihat dari persentase kematian *H. hampei* pada perlakuan dengan fraksi heksan lebih besar dibandingkan dengan perlakuan fraksi metanol. Fraksi heksan dari ekstrak rimpang dringo yang diaplikasikan dengan metode kontak residu terbukti bersifat toksik terhadap *H. hampei* dan menyebabkan kematian lebih dari 50% pada konsentrasi 0,1%. Toksisitas *H. hampei* dengan fraksi heksan lebih tinggi dibandingkan dengan fraksi metanol, hal ini terkait dengan kandungan senyawa aktif yang bersifat toksik dan terlarut dalam senyawa non polar lebih besar dibandingkan senyawa aktif yang terlarut dalam pelarut polar.

5.2 Saran

Ekstrak rimpang dringo (*A. calamus*) dengan fraksi non polar yaitu heksan, memiliki potensi yang besar sebagai insektisida botani dalam mengendalikan populasi serangga hama kopi (*H. hampei*). Maka perlu dilakukan pengujian lebih lanjut tentang aplikasi ekstrak rimpang dringo dengan fraksi heksan di lapangan agar dapat digunakan sebagai alternatif pengganti insektisida kimia. Ekstrak rimpang dringo dengan fraksi metanol sebaiknya dilakukan dengan aplikasi racun perut yaitu dengan pemaparan senyawa aktif pada sumber makanan agar hasil pengujian lebih tepat.

DAFTAR PUSTAKA

- Agus, I. 2010. *Statistika Konsep, Dasar, Aplikasi, dan Pengembangannya*. Jakarta: Kencana Prenada Media Group
- Ambarningrum, T. B., Arthadi, Pratiknyo, H., dan Priyanto, S. 2007. Ekstrak Kulit Jengkol (*Pithecellobum lobatum*): Pengaruhnya sebagai Anti Makan dan terhadap Efisiensi Pemanfaatan Makanan Larva Instar V *Heliothis armigera*. *Journal Sains MIPA*. Vol. 13 (3): 165-170
- Anyaele, O. O. and Amusan, A. A. S. 2001. Toxicity of Hexalonic Extract of *Dennetia tripetala* (G. Baxer) on Larvae of *Aedes aegypti* (L.). *African Journal of Biomedical Research*. Vol. 6: 49-53
- Asmaliyah, Wati, Utami, Mulyadi, Yudhistira, dan Sari. 2010. *Pengenalan Tumbuhan Penghasil Pestisida Nabati dan Pemanfaatannya Secara Tradisional*. Palembang: Kementerian Kehutanan
- Asmaliyah, Sumardi, dan Musyafa. 2010. Uji Toksisitas Daun *Nicolaia atropurpurea* Val. Terhadap Serangga Hama *Spodoptera litura* Fabricus (Lepidoptera: Noctuidae). *Jurnal Penelitian Hutan Tanaman*. Vol. 7 (5): 253-263
- Atmoko, T. dan A. Ma'ruf. 2009. Uji Toksisitas dan Skrining Fitokimia Ekstrak Tumbuhan Sumber pakan Orangutan terhadap Larva *Artemia salina* L. *Jurnal Penelitian Hutan dan Konservasi Alam*. Vol. 4 (1): 37-45
- Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1991. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia
- Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. 2008. *Taksonomi Koleksi Tanaman Obat Kebun Tanaman Obat Citeureup*. Jakarta: Direktorat Obat Asli Indonesia

- Baker, P. S., Barrera, J. F. and Rivas, A. 1992. Life-history Studies Of The Coffee Berry Borer (*Hypothenemus hampei*, Scolytidae) On Coffee Tress In Southern Mexico. *Journal of Applied Ecology*. Vol. 29: 656-662
- Balfas, S. 2010. Pemanfaatan Model CLIMEX untuk Analisis Potensi Serangan Hama Penggerek Buah Kopi. *Skripsi*. Bogor: Departemen Geofisika dan Meteorologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1978. *Materia Medika Indonesia Volume II*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia
- Direktorat Perlindungan Perkebunan. 2002. *Musuh Alami, Hama, dan Penyakit Tanaman Kopi*. Jakarta: Direktorat Jenderal Bina Produksi Perkebunan Departemen Pertanian
- Djojosumarto, P. 2000. *Pestisida dan Aplikasinya*. Jakarta: Agromedia Pustaka
- Fessenden, R. J. & Fessenden, J. S. 1997. *Dasar-dasar Kimia Organik*. Jakarta: Bina Aksara
- Ghosh, Sharma, Kumar, Tiwari, Singh, Kumar, Paul, and Ray. 2011. In Vitro and In Vivo Efficacy of *Acorus calamus* Extract Against *Rhipicephalus* (Boophilus) *microplus*. *Parasitol Research*. Vol. 108: 361-370
- Gu, T. 2000. *Liquid-liquid Partitioning Methods for Bioseparations*. USA: Academic Press
- Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Mengekstraksi Tumbuhan*. Bandung: ITB
- Hasan, Sagheer, Ullah, Ahmad, and Wakil. 2006. Insecticidal Activity Of Different Doses Of *Acorus calamus* Oil Against *Trogoderma granarium* (Everts). *Journal Agricultural Science*. Vol. 43 (1-2): 55-58

- Hasnah, Husni, dan Fardhisa, A. 2012. Pengaruh Ekstrak Rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) terhadap Mortalitas Ulat Grayak *Spodoptera litura* F. *Journal Floratek*. Vol. 7: 115-124
- Hertika, C. 2011. Aktivitas Insektisida Minyak Atsiri Daun *Cinnamomum* spp. (Lauraceae) terhadap *Crocidolomia pavonana* dan Pengaruh Fitotoksisitas pada Bibit Brokoli. *Skripsi*. Bogor: Departemen Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor
- Hikmah, M. N. & Zuliyana. 2010. Pembuatan Metil Ester (Biodiesel) dari Minyak Dedak dan Metanol dengan Proses Esterifikasi dan Transesterifikasi. *Skripsi*. Semarang: Fakultas Teknik Universitas Diponegoro
- Indo, M. 1972. *Tanaman Djeringau (Acorus calamus LINN)*. Djakarta: Bharatara
- Irulandi, Rajendran, Chinniah, and Samuel. 2007. Influence Of Weather Factors On The Incidence Of Coffee Berry Borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Scolytidae: Coleoptera) in Pulney hills, Tamil Nadu. *Journal Madras Agricultural*. Vol. 94 (7-12): 218-231
- Kalshoven, L. G. E. 1981. *Pest of Crops In Indonesia*. Jakarta: PT. Ichtiar Baru-Van Hoeve
- Kim, Jung-Yeon, Do-Hyoung, Han-Seung, and Young-Joon. 2003. Insecticidal Activities of Aromatic Plant Extracts and Essential Oil Against *Sitophilus oryzae* and *Callosobruchus chinensis*. *Journal of Stored Products Research*. Vol. 39: 293-303
- Koul, O. and G. S. Dhaliwal. 2005. *Phytochemical Biopesticides*. Amsterdam: Harwood Academic Publishers
- Lailatul, Lela, Kadarohman, dan Eko. 2010. Efektivitas Biolarvasida Ekstrak Etanol Limbah Penyulingan Minyak Akar Wangi (*Vetiveria zizanoides*) terhadap Larva Nyamuk *Aedes aegypti*, *Culex sp.*, dan *Anopheles sundaicus*. *Jurnal Sains dan Teknologi Kimia*. Vol. 1 (1): 59-65

- Muthuraman, A. & Singh, N. 2011. Attenuating Effect of *Acorus calamus* Extract In Chronic Constriction Injury Induced Neuropathic Pain In Rats: An Evidence of Anti-Oxidative, Anti-Inflammatory, Neuroprotective, and Calcium Inhibitory Effects. *BMC Complementary and Alternative Medicine*: 1-14
- Natawigena, H. 1968. *Entomologi Pertanian*. Bandung: Orba Sakti UNPAD
- National Center for Biotechnology Information. 2015. Taxonomy Browser. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?id=4465> [17 Maret 2015]
- Parasetia, Eka, Ritaningsih, dan Purwanto. 2012. Pengambilan Zat Warna Alami dari Kayu Nangka. *Jurnal Teknologi Kimia dan Industri*. Vol. 1 (1): 502-507
- Park, C., Kim, S., and Ahn, Y. 2003. Insecticidal Activity of Asarones Identified in *Acorus gramineus* Rhizome Against Three Coleopteran Stored-product Insects. *Journal of Stored Products Research*. Vol. 39: 333-342
- Prijono, D. 1988. *Pengujian Insektisida: Penuntun Praktikum*. Bogor: Fakultas Pertanian IPB
- Purwatiningsih, Heather, N., and Hassan, E. 2013. Evaluation of The Insecticide Efficacy of *Acorus calamus* L., *Leptospermum Petersonii* FM Bailey and Other Essential Oil Formulation on *Plutella xylostella*. *Thesis*. Australia: University Queensland
- Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Jakarta: Pustaka Pelajar
- Rustini, N. L. 2010. Aktivitas Antijamur Minyak Atsiri Rimpang Dringo (*Acorus calamus* L.) Terhadap Jamur *Botrydiplodia theobromae* Penyebab Busuk Buah Pisang. *Jurnal Kimia*. Vol. 4 (2): 173-179
- Schmidt, G. H., Risha, E. M. and Nahal, A. K. M. E. 1991. Reduction of Progeny of Some Stored-Product Coleoptera by Vapours of *Acorus calamus* oil. *Journal of Stored Products Research*. Vol. 27 (2): 121-127

- Shahabuddin dan Pasaru, F. 2009. Pengujian Efek Penghambatan Ekstrak Daun Widuri terhadap Pertumbuhan Larva *Spodoptera exigua* Hubn. (Lepidoptera: Nocudae) dengan Menggunakan Indeks Pertumbuhan Relatif. *Jurnal Agroland*. Vol. 16 (2): 148-154
- Singh, Rupali, Sharma, and Malviya. 2011. Pharmacological Properties and Ayurvedic Value of Indian Buch Plant (*Acorus calamus*): A Short Review. *Advances in Biological Research*. Vol. 5 (3): 145-154
- Sudarmaji, B. H. & Suhardi. 1989. *Analisis untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta: Liberty
- Suhaendah, Dendang, Anggraeni, dan Darwiati. 2006. Potensi Ambalun sebagai Bahan Insektisida Botani. *Jurnal Penelitian Hutan dan Tanaman*. Vol. 3: 285-291
- Sulistyowati, E. 1999. *Metode Pembiakan Predator Kutu Hijau (Orchus janthinus Muls) dan Parasitoid Hama Penggerek Buah Kopi (PBKo) (Chephalonomia stephanoderis) di Laboratorium*. Jember: Pusat Penelitian Kopi dan Kakao
- Susanti, Ardiana, Gumelar, dan Bening. 2012. Polaritas Pelarut sebagai Pertimbangan dalam Pemilihan Pelarut untuk Ekstraksi Minyak Bekatul dari Bekatul Varietas Ketan (*Oriza sativa glatinosa*). *Simposium Nasional RAPI 11 FT UMS*: k8-k14
- Tarumingkeng, R. C. 1992. *Insektisida: Sifat, Mekanisme Kerja, dan Dampak Penggunaannya*. Jakarta: Universitas Kristen Krida Wacana
- Tjitrosoepomo, G. 2010. *Taksonomi Tumbuhan Obat-obatan*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press
- Thompson, E. B. 1990. *Drug Bioscreening Fundamentals of Drug Evaluation Techniques In Pharmacology*. New York: Graceway Publishing Company
- Untung, K. 2006. *Pengantar Pengelolaan Hama Terpadu*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press

- Vijayalakshmi, C. K., Tintumol, K., and Saibu, U. 2013. Coffee Berry Borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) : A Review. *International Journal of Innovative Research and Development*. Vol. 2: 358-361
- Widya, D. R. 2013. Aktivitas Antimikroba Ekstrak Biji Teratai (*Nymphaea pubescens* L) terhadap Bakteri *Aeromonas hydrophila*, *Streptococcus agalactae* dan Jamur *Saprolegnia sp.* *Skripsi*. Sumatera Utara: Program Studi Manajemen Sumberdaya Perairan Fakultas Pertanian
- Wiryadipta, S. 2007. Pengelolaan Hama Terpadu Pada Hama Penggerek Buah Kopi, *Hypothenemus hampei* (Ferr.) dengan Komponen Utama pada Penggunaan Perangkap Brocap Trap. *Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia Jember, Jawa Timur*.p.2-9
- Wiryadipta, S. 2012. Keefektifan Insektisida Cyantraniliprole terhadap Hama Penggerek Buah Kopi (*Hypothenemus hampei*) pada Kopi Arabika. *Pelita Perkebunan*. Vol. 28 (2): 100-110
- Yende, S. R. 2008. Pharmacological Profile of *Acorus calamus*: an Overview. *Pharmacognosy Reviews*. Vol. 2: 22-26

Lampiran A. Perhitungan LC₅₀ fraksi metanol dari ekstrak rimpang dringo (*A.calamus*) menggunakan *software Microsoft Excel* regresi linier

SUMMARY
OUTPUT

<i>Regression Statistics</i>	
Multiple R	0.347041147
R Square	0.120437557
Adjusted R Square	-
Standard Error	12.63162047
Observations	8

LC₅₀ 7.46555122

ANOVA

	<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>Significance F</i>
Regression	1	131.0885168	131.0885168	0.821573671	0.399656122
Residual	6	957.3470139	159.5578356		
Total	7	1088.435531			

	<i>Coefficients</i>	<i>Standard Error</i>	<i>t Stat</i>	<i>P-value</i>	<i>Lower 95%</i>	<i>Upper 95%</i>	<i>Lower 95.0%</i>	<i>Upper 95.0%</i>
Intercept	17.63526181	6.120369139	2.88140493	0.028006262	2.659258058	32.61126556	2.659258058	32.61126556
Konsentrasi	4.335210789	4.78285222	0.906407012	0.399656122	-7.368006969	16.03842855	-7.36800697	16.03842855

Lampiran B. Perhitungan LC₅₀ fraksi heksan dari ekstrak rimpang dringo (*Acorus calamus*) menggunakan *software Microsoft Excel* regresi linier

SUMMARY
OUTPUT

<i>Regression Statistics</i>	
Multiple R	0.686666942
R Square	0.471511489
Adjusted R Square	0.365813786
Standard Error	3.925282421
Observations	7

ANOVA					
	<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>Significance F</i>
Regression	1	68.73351456	68.73351	4.460944	0.08838683
Residual	5	77.03921041	15.40784		
Total	6	145.772725			

	<i>Coefficients</i>	<i>Standard Error</i>	<i>t Stat</i>	<i>P-value</i>	<i>Lower 95%</i>	<i>Upper 95%</i>	<i>Lower 95.0%</i>	<i>Upper 95.0%</i>
Intercept	88.47998293	2.174165598	40.69606	1.69E-07	82.89111233	94.06885352	82.89111233	94.06885352
Konsentrasi	3.356752787	1.589300397	2.112095	0.088387	-0.728673943	7.442179517	-0.72867394	7.442179517

Lampiran C. Hasil Analisis Varian (Anava) dengan *software* SPSS 16 pada fraksi metanol

Descriptives

kematian

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0	5	1.6000	.54772	.24495	.9199	2.2801	1.00	2.00
0.1	5	2.6000	2.60768	1.16619	-.6379	5.8379	.00	7.00
0.2	5	4.8000	3.63318	1.62481	.2888	9.3112	1.00	10.00
0.4	5	4.2000	2.16795	.96954	1.5081	6.8919	1.00	7.00
0.8	5	2.8000	1.09545	.48990	1.4398	4.1602	2.00	4.00
1	5	3.8000	1.64317	.73485	1.7597	5.8403	2.00	6.00
1.5	5	3.2000	1.09545	.48990	1.8398	4.5602	2.00	5.00
3	5	4.2000	2.48998	1.11355	1.1083	7.2917	1.00	8.00
Total	40	3.4000	2.16972	.34306	2.7061	4.0939	.00	10.00

ANOVA

kematian

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	38.400	7	5.486	1.209	.326
Within Groups	145.200	32	4.538		
Total	183.600	39			

Lampiran D. Hasil Analisis Varian (Anava) dan Uji lanjut Duncan dengan *software* SPSS 16 pada fraksi heksan

Descriptives

kematian

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0	5	1.6000	.54772	.24495	.9199	2.2801	1.00	2.00
0.1	5	9.0000	1.73205	.77460	6.8494	11.1506	6.00	10.00
0.2	5	8.6000	1.67332	.74833	6.5223	10.6777	6.00	10.00
0.4	5	9.6000	.54772	.24495	8.9199	10.2801	9.00	10.00
0.8	5	9.2000	.83666	.37417	8.1611	10.2389	8.00	10.00
1	5	9.6000	.89443	.40000	8.4894	10.7106	8.00	10.00
1.5	5	9.4000	1.34164	.60000	7.7341	11.0659	7.00	10.00
3	5	9.8000	.44721	.20000	9.2447	10.3553	9.00	10.00
Total	40	8.3500	2.79698	.44224	7.4555	9.2445	1.00	10.00

ANOVA

kematian

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	265.500	7	37.929	30.649	.000
Within Groups	39.600	32	1.238		
Total	305.100	39			

kematian

	konsentrasi	N	Subset for alpha = 0.05	
			1	2
Duncan ^a	0	5	1.6000	
	0.2	5		8.6000
	0.1	5		9.0000
	0.8	5		9.2000
	1.5	5		9.4000
	0.4	5		9.6000
	1	5		9.6000
	3	5		9.8000
	Sig.		1.000	.148

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Lampiran E. Analisis *Independent T-Test* dengan menggunakan *software* SPSS 16.0

Group Statistics

fraksi	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
kematian metanol	8	21.4286	12.46959	4.40867
heksan	8	80.3571	32.78830	11.59242

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
								Lower	Upper
kematian Equal variances assumed	1.219	.288	-4.751	14	.000	-58.92857	12.40244	-85.52916	-32.32799
Equal variances not assumed			-4.751	8.983	.001	-58.92857	12.40244	-86.99276	-30.86439