II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Akar Wangi (*Vetiveria zizanioides* Stapf)

1. Taksonomi Tanaman Akar Wangi

Klasifikasi Akar Wangi (*V. zizanioides* Stapf*)* menurut Tjitrosoepomo (1993) sebagai berikut :

Regnum	:	Plantae
Divisio	:	Spermatophyta
Sub Divisio	:	Angiospermae
Class	:	Monocotyledone
Ordo	:	Graminales
Family	:	Graminae
Genus	:	*Vetiveria*
Species	:	*Vetiveria zizanioides* Stapf

2. Deskripsi Tanaman Akar Wangi

Tanaman akar wangi adalah tanaman rumput menahun yang membentuk rumpun yang besar, padat dengan arah tumbuh tegak lurus, kompak, beraroma, bercabang-cabang, memiliki rimpang dan sistem akar serabut yang dalam. Rumpun tumbuh hingga mencapai tinggi 1-1,5 m, berdiameter 2-8 mm. Daun berbentuk garis,

pipih, kaku dan permukaan bawah daun licin. Perbungaan malai (tandan majemuk) terminal, tiap tandan memiliki panjang mencapai 10 cm; ruas yang terbentuk antara tandan dengan tangkai bunga berbentuk benang, namun di bagian apeksnya tampak menebal (Anonim, 2009).

Tanaman ini merupakan salah satu tanaman penghasil minyak atsiri yang biasa disebut *vetiver oil*. Minyak ini banyak digunakan dalam pembuatan parfum, kosmetik, pewangi sabun, obat-obatan, serta pembasmi dan pencegah serangga. Minyak vetiver mempunyai aroma yang lembut dan halus karena ester dari asam vetinenat dan adanya senyawa vetivenol (Departemen Pertanian, 1989).

(a)

(b)

Gambar 1. (a) Tanaman akar wangi (*V. zizanioides* Stapf)
(b) Akar tanaman akar wangi (*V. zizanioides* Stapf)

3. Kandungan Kimia Tanaman Akar Wangi

Senyawa kimia dari akar *V. zizanioides* Stapf sangat kompleks, mengandung sekitar 100 jenis senyawa seskuiterpena dan turunannya. Komposisi utama senyawa kimia dari akar *V. zizanioides* Stapf antara lain seskuiterpenahidrokarbon

seperti, *cadenene, clovene, amorphine, aromadendrine, junipene*; senyawa turunan alkohol vetiverols seperti, khusimol, epiglobulol, spathulenol, khusinol; senyawa turunan karbonil - vetivons (keton) seperti, α-vetivon, β-vetivon, khusimon; dan senyawa turunan ester seperti, khusinol asetat (Akhila and Rani, 2002). Tiga senyawa karbonil, α-vetivon, β-vetivon dan khusimon, merupakan komponen utama yang mempengaruhi aroma dari *vetiver oil* (Lavania, 2003).

α-vetivon β-vetivon vetivol

Gambar 2. Beberapa senyawa organik hasil isolasi dari akar *V. zizanioides* Stapf (Chauhan and Raina, 2005)

B. Terpenoid

Terpenoid merupakan salah satu produk metabolisme sekunder dan dalam tumbuhan dapat ditemukan pada bagian akar, batang, kulit kayu, ranting, biji/buah dan daun (Achmad, 1986). Terpena adalah senyawa yang mengandung gabungan kepala ke ekor dari satuan-satuan kerangka isopren. Terpena disebut juga isoprenoid. Terpena dapat mengandung dua, tiga, atau lebih satuan isopren. Molekul-molekulnya dapat berupa rantai-terbuka atau siklik. Senyawa ini dapat mengandung ikatan rangkap, gugus hidroksil, gugus karbonil, atau gugus fungsional lain. Struktur mirip terpena yang mengandung unsur-unsur lain disamping C dan H disebut terpenoid (Fessenden dan Fessenden, 1982).

Senyawa ini merupakan komponen aktif dalam tumbuhan obat yang telah digunakan untuk penyakit, termasuk diabetes, gangguan menstruasi, gangguan kulit dan malaria. Beberapa senyawa memiliki nilai ekologi bagi tumbuhan yang mengandungnya karena senyawa ini bekerja sebagai antifungi, insektisida, *antifeedant* atau menstimulir serangga untuk bertelur (Robinson, 1995).

Minyak atsiri merupakan golongan terpenoid yang paling mudah menguap. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa sebagian besar komponen minyak atsiri adalah senyawa yang mengandung karbon dan hidrogen atau karbon hidrogen dan oksigen yang tidak bersifat aromatik (Achmad, 1986).

kepala ekor

isopren unit isopren

Gambar 3. Struktur isopren

Tabel 1. Golongan Utama Senyawa Terpenoid

Golongan Terpenoid	∑ karbon	∑ isopren	Sumber/contoh
Hemiterpenoid	5	1	Minyak, prenol
Monoterpenoid	10	2	Minyak atsiri, iridoid-iridoid,
Seskuiterpenoid	15	3	Minyak atsiri, zat-zat pahit
Diterpenoid	20	4	Resin pinus, vit A, giberelin, Vit A
Sesterterpenoid	25	5	Jarang ditemukan
Triterpenoid	30	6	Damar, sterol, steroid, saponin
Tetraterpenoid	40	8	Karotenoid-karotenoid
Politerpenoid	>40	>8	Karet alam, gula

Sumber: (Harborne, 1996 dan Dewick, 2002)

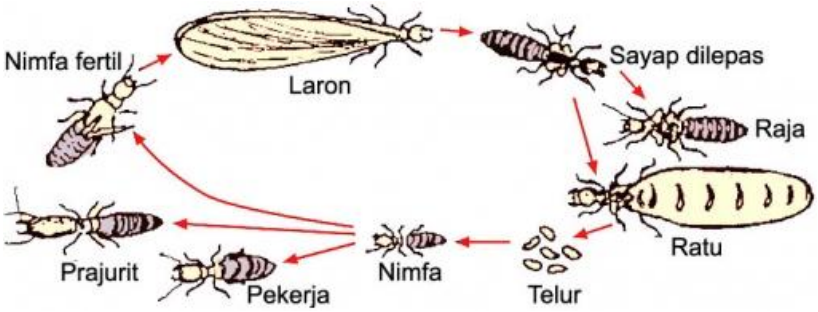
C. Hama Serangga Rayap Kayu (*Cyrptotermes* sp.)

Taksonomi atau penggolongan jenis-jenis rayap merupakan salah satu misteri dunia insekta karena tingginya tingkat kemiripan antar jenis rayap dalam masing-masing famili. Rayap kayu, hidup dalam kayu mati yang telah kering. Hama ini umumnya terdapat di rumah-rumah dan perabotan seperti meja dan kursi. Tanda serangannya adalah terdapatnya butir-butir ekskremen kecil berwarna kecoklatan yang sering berjatuhan di lantai atau di sekitar kayu yang diserang. Rayap ini juga tidak berhubungan dengan tanah, karena habitatnya kering (Tarumingkeng, 2001).

Sampai saat ini, dalam pengendalian serangan rayap skala lapangan, sebagian besar memakai bahan kimia yang sangat beracun dan tidak ramah lingkungan, seperti asam borak, CCB (*Copper-Chrome-Boron*), CCA (*Copper-Chrome-Arsen*), dan CCF (*Copper-Chrome-Flour*). Ini akan merusak lingkungan jika tidak diantisipasi karena bahan tersebut sukar dirombak oleh alam. Ada juga metode pengendalian secara biologi dalam skala laboratorium dengan nematoda (cacing), bakteri, dan jamur yang diumpankan ke rayap sehingga akan mengganggu sistem pencernaan rayap (Prasetyo, 2009).

Gambar 4. Hama serangga rayap (*Cyrptotermes* sp.)

Rayap merupakan serangga yang hidup berkoloni, di dalam koloni tersebut terdapat beberapa kasta individu yang wujudnya berbeda, yaitu: kasta reproduktif, kasta prajurit dan kasta pekerja. Kasta reproduktif terdiri atas individu-individu seksual yaitu betina (abdomennya lebih besar) yang tugasnya bertelur dan jantan (raja) yang tugasnya membuahi betina. Kasta prajurit, ditandai dengan bentuk tubuh yang kekar karena penebalan (*sklerotisasi)* kulitnya agar mampu melawan musuh untuk mempertahankan kelangsungan hidup koloninya. Sedangkan kasta pekerja, membentuk sebagian besar koloni rayap. Tidak kurang dari 80 % populasi dalam koloni merupakan individu-individu pekerja. Tugasnya hanya bekerja tanpa berhenti hilir mudik di habitatnya untuk mencari makanan dan mengangkutnya ke sarang, membuat terowongan-terowongan, membersihkan telur-telur, dan membunuh serta memakan rayap-rayap yang tidak produktif lagi (karena sakit, sudah tua dan malas) (Tarumingkeng, 2001). Siklus hidup koloni rayap dapat dilihat pada gambar 5.



Gambar 5. Siklus hidup hama serangga rayap (*Cyrptotermes* sp.) (Marshall, 2009*)*

D. Ekstraksi Senyawa Bahan Alam

Isolasi suatu senyawa bahan alam dilakukan melalui proses ekstraksi. Proses ini adalah proses penarikan komponen / zat aktif suatu simplisia dengan menggunakan pelarut tertentu. Prinsip ekstraksi didasarkan pada distribusi zat terlarut dengan perbandingan tertentu antara dua pelarut yang tidak saling bercampur (Khopkar, 2002). Ekstraksi digolongkan ke dalam dua bagian besar berdasarkan bentuk fase yang diekstraksi yaitu ekstraksi cair-cair dan ekstraksi cair-padat. Untuk ekstraksi cair-cair dapat menggunakan corong pisah, sedangkan ekstraksi cair-padat terdiri dari beberapa cara yaitu maserasi, perkolasi dan sokletasi (Harborne, 1996).

Perkolasi merupakan proses ekstraksi dengan cara melewatkan pelarut organik pada sampel secara terus menerus sehingga pelarut akan membawa senyawa organik (Alfiani, 2002). Proses ini sangat baik untuk senyawa organik yang sangat mudah larut dalam pelarut yang digunakan (Harborne, 1996).

Maserasi merupakan proses ekstraksi dengan cara perendaman sampel menggunakan pelarut organik pada suhu ruang. Proses ini sangat menguntungkan dalam proses isolasi senyawa organik bahan alam karena dengan perendaman sampel akan terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan di dalam dan di luar sel sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik serta struktur senyawa tidak akan mudah rusak. Sokletasi merupakan metode ekstraksi dengan cara pemanasan dan terjadi sirkulasi pelarut yang selalu membasahi sampel. Akan tetapi proses ini

hanya cocok untuk senyawa organik yang tidak dipengaruhi oleh suhu atau bersifat tahan panas (Harborne, 1996).

E. Uji Bioaktifitas

Sebelum melakukan isolasi bahan aktif dilakukan uji pendahuluan (*screening* fitokimia) untuk mengetahui ada atau tidaknya senyawa bioaktif yang akan diisolasi pada sampel. Selanjutnya untuk mengetahui keaktifan senyawa tersebut terhadap organisme maka dilakukan uji aktifitas biologi. Uji ini dilakukan pada sampel awal (*crude extract)* maupun hasil pemurnian. Keaktifan suatu senyawa dapat bersifat sebagai obat, racun (toksik), penarik (atraktan), penstimulir dan penolak (*repellent)* (Kardinan, 2002)

Repellent merupakan daya tolak terhadap serangga yang ditimbulkan dari senyawa kimia hasil metabolit sekunder (Kardinan, 2007). Senyawa kimia yang telah diketahui sebagai *repellent insect* adalah *eugenol, tymol, cyneol* atau *estragole* (Gbolade and Soremekun, 1998).

Uji bioaktifitas dilakukan pada ekstrak kasar dan fraksi hasil tahapan pemurnian yaitu hama uji diberi pilihan makan dengan dan tanpa ekstrak. Pada cawan petri diletakkan bahan tanpa perlakuan (kontrol) pada salah satu sisi dan bahan yang dicampur dengan ekstrak atau senyawa dengan konsentrasi tertentu sebagai bahan uji. Pada setiap cawan tersebut kemudian diberikan 10 ekor hama uji yang dipuasakan terlebih dahulu selama 12 jam. Selanjutnya diamati kecenderungan gerak dari hama tersebut selama 24 jam. Apabila hama cenderung bergerak menjauhi bahan uji maka disebut uji positif *repellent* dan dihitung indeks ketertarikan ekstrak atau senyawa (Syahputra, 2001).

F. Pemisahan Senyawa Secara Kromatografi

Kromatografi adalah suatu teknik pemisahan dua atau lebih senyawa yang terdistribusi antara dua fase yaitu fase diam dan fase gerak. Kromatografi dapat dibedakan berdasarkan kedua fase tersebut, yaitu kromatografi padat-cair (Kromatografi Lapis Tipis, Kromatografi Kertas, Kromatografi Kolom), kromatografi cair-cair dan kromatografi gas-cair (Hostettman *et al.*, 1995)

Tabel 2. Penggolongan kromatografi berdasarkan fase diam dan fase gerak

Fase diam	Fase gerak	Sistem kromatografi
Padat	Cair	Cair – adsorpsi
Padat	Gas	Gas – adsorpsi
Cair	Cair	Cair – partisi
Cair	Gas	Gas – partisi

Sumber: Johnson and Stevenson (1991)

Hampir setiap campuran kimia, mulai dari bobot molekul rendah sampai tinggi, dapat dipisahkan menjadi komponen-komponennya dengan beberapa metode kromatografi (Gritter *et al*., 1991). Pada penelitian ini akan digunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT), Kromatografi Cair Vakum (KCV), dan Kromatografi Kolom Gravitasi (KKG).

1. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) adalah salah satu kromatografi yang fase diamnya direkatkan pada lempengan tipis alumunium atau kaca. KLT digunakan untuk mengidentifikasi komponen dan mendapatkan eluen yang tepat untuk kromatografi kolom dan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) (*Hostettman et al.*, 1995). KLT dikenal juga sebagai kromatografi kolom terbuka. Metode ini sederhana, cepat dalam pemisahan dan sensitif (Khopkar, 2002). Kelebihan KLT terletak pada pemakaian pelarut yang jumlahnya sedikit sehingga memerlukan

biaya yang relatif murah, selain itu peralatan yang digunakan sederhana dan waktu yang diperlukan untuk mengerjakan metode ini relatif singkat (Gritter *et al*.,1991).

Pada umumnya sebagai fase diam digunakan silika gel. Dalam perdagangan, silika gel yang biasa digunakan untuk kromatografi kolom mempunyai ukuran 230-400 mesh. Ukuran ini terutama mempengaruhi kecepatan alir dan kualitas pemisahan (Sastrohamidjojo, 1991). Karena sebagian besar silika gel bersifat sedikit asam, maka asam akan lebih mudah dipisahkan, jadi meminimalisir reaksi asam-basa antara penjerap dan senyawa yang dipisahkan (Gritter *et al*., 1991). Lapisan tipis sering mengandung indikator fluoresensi yang ditambahkan untuk membantu penampakan bercak tak berwarna pada lapisan yang telah dikembangkan. Indikator fluoresensi adalah senyawa yang memancarkan sinar tampak jika disinari dengan sinar berpanjang gelombang lain, biasanya sinar ultraviolet. Jika senyawa pada bercak yang akan ditampakkan mengandung ikatan rangkap terkonjugasi atau cincin aromatik jenis apa saja , sinar UV yang mengeksitasi tidak dapat mencapai indikator fluoresensi , dan tidak ada cahaya yang dipancarkan. Hasilnya adalah bercak gelap dengan latar belakang yang bersinar (Gritter *et al.*, 1991). Hasil dapat diamati dengan menghitung harga perbandingan antara jarak pergerakan fraksi sampel yang dibawa oleh pelarut (spot) dengan jarak pergerakan pelarut, yang dikenal dengan harga Rf (Moenandar, 2000)

2. Kromatografi Kolom

Kromatografi kolom digunakan untuk pemisahan campuran beberapa senyawa yang diperoleh dari hasil isolasi. Terjadinya pemisahan komponen-komponen suatu zat dalam eluen yang bergerak melalui fase diam sebagai adsorben, karena adanya perbedaan daya adsorpsi pada komponen-komponen tersebut. Fase diam diisikan ke dalam kolom gelas, sedangkan eluennya disesuaikan dengan sampel yang akan dipisahkan. Metode elusi dapat dilakukan dengan elusi isokratik atau elusi landaian. Elusi isokratik adalah adanya penggunaan eluen yang tidak berubah selama proses pemisahan berlangsung. Elusi landaian adalah kebalikan dari isokratik, dimana terjadi pergantian eluen yang dipakai saat proses pemisahan berlangsung (Johnson and Stevenson, 1991).

Pada dasarnya, cara ini meliputi penempatan sampel di atas kolom yang berisi serbuk penjerap (seperti selulosa, silika atau poliamida), dilanjutkan dengan elusi beruntun setiap komponen memakai pelarut yang cocok. Kolom berupa tabung kaca yang dilengkapi dengan keran pada salah satu ujung, dan ukurannya sedemikian rupa sehingga nisbah garis tengah terhadap panjang kolom dalam rentang 1:10 sampai 1:30 (Markham, 1988). Terdapat dua sifat senyawa yang dimanfaatkan dalam metode pemisahan ini, yaitu sifat penjerap yang cenderung menempel pada permukaan fase diam dan sifat kelarutannya dalam fase gerak (Gritter *et al.*, 1991).

Tabel 3. Deret eluotropi beberapa pelarut organik (semakin besar harga eluotropi semakin naik kepolarannya)

Pelarut	Eluotropi(ε^o)	Pelarut	Eluotropi(ε^o)
n-pentana	0.00	Metilen klorida	0.42
isooktana	0.01	Tetrahidrofuran	0.45
n-heksana	0.04	Aseton	0.56
CCl_4	0.18	Etil asetat	0.58
Xilena	0.26	Anilin	0.62
Toluene	0.29	Asetonitril	0.65
Benzene	0.32	i-propanol	0.82
dietil eter	0.38	etanol	0.88
Kloroform	0.40	metanol	0.95

Sumber: (Gritter *et al.*, 1991)

3. Kromatografi Cair Vakum

Teknik KCV dilakukan dengan suatu sistem yang bekerja pada kondisi vakum secara terus-menerus sehingga diperoleh kerapatan kemasan yang maksimum atau menggunakan tekanan rendah untuk meningkatkan laju alir fase gerak. Pada kromatografi cair, susunan eluen atau fase gerak merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi pemisahan. Urutan eluen yang digunakan dalam kromatografi cair diawali dari eluen yang mempunyai tingkat kepolaran rendah kemudian kepolarannya ditingkatkan secara perlahan-lahan (Hostettman *et al.*, 1995).

G. Identifikasi Secara Spektroskopi

Spektroskopi merupakan studi yang mempelajari antaraksi antara materi dan energi cahaya dengan menyerap energi berupa panjang gelombang. Setiap senyawa organik memiliki serapan yang berbeda, sehingga spektroskopi dapat digunakan untuk melakukan identifikasi struktur senyawa organik (Noerdin, 1987).

1. Spektroskopi Massa

Pada spektrofotometer massa, suatu contoh diubah menjadi keadaan gas dibombardir dengan elektron yang berenergi cukup untuk mengalahkan potensial ionisasi pertama senyawa tersebut (Silverstein, 1986). Tabrakan antara sebuah molekul organik dan salah satu elektron berenergi tinggi menyebabkan lepasnya sebuah elektron dari molekul itu dan terbentuknya suatu ion organik. Ion organik yang dihasilkan oleh pemborbardiran elektron berenergi tinggi ini tidak stabil, dan pecah menjadi fragmen kecil, baik berbentuk radikal bebas maupun ion-ion lain. Spektrum massa adalah alur kelimpahan muatan (*m/e* atau *m/z*) dari fragmen-fragmen itu. Puncak tertinggi dalam suatu spektrum, disebut puncak dasar (*base peak*), dan diberi nilai intensitas sebesar 100% (Fessenden&Fessenden, 1982). Jika puncak ion molekul terlihat pada spektrum maka letaknya pada bagian paling kanan (Sudjadi, 1986). Informasi yang kita dapatkan dari spektroskopi massa berupa berat molekul dari senyawa (Silverstein, 1986).

Dalam penentuan rumus molekul suatu senyawa, aturan nitrogen dapat dimanfaatkan. Aturan nitrogen menyatakan bahwa suatu senyawa yang memiliki berat molekul genap, maka senyawa tersebut tidak mengandung atom nitrogen atau mengandung sejumlah nitrogen dalam jumlah genap. Sedangkan senyawa organik dengan berat molekul ganjil akan mengandung atom nitrogen dalam jumlah ganjil (Khopkar,2002).

2. Spektroskopi Inframerah

Pada umumnya pancaran inframerah untuk analisis organik digunakan daerah antara 4000-600 cm^{-1}. Spektroskopi inframerah memberikan informasi tentang gugus fungsi pada senyawa yang diidentifikasi. Gugus fungsi ini dapat dikenal dari vibrasi yang berada pada frekuensi tertentu. Dengan mengetahui frekuensi vibrasi pada spektrum inframerah, maka dapat diketahui gugus fungsi yang ada dalam molekul karena umumnya frekuensi vibrasi dari gugus fungsi tertentu akan menghasilkan frekuensi yang spesifik. Daerah sidik jari merupakan daerah yang sangat penting dalam spektrum inframerah karena perbedaan sedikit saja dalam struktur molekul akan memberikan perubahan yang mencolok pada distribusi puncak serapannya (Sastrohamidjojo, 1991). Daerah sidik jari berada pada daerah antara 1400-700 cm^{-1} (Fessenden dan Fessenden, 1982). Daerah serapan gugus fungsi senyawa organik dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Daerah serapan gugus fungsi senyawa organik.

Jenis ikatan	Daerah serapan v (cm^{-1})
Regang OH, NH	3750-3000
Regang CH (C≡CH, C=CH, Ar–H)	3300-2900
Regang CH (CH3, CH2, -CH)	3000-2700
Regang C≡C, C≡N	2400-2100
Regang C=O	1900-1650
Regang C=C	1675-1500
Lentur ≡CH	1475-1300
Lentur C=CH, Ar-H (luar bidang)	1000-650

Sumber : (Creswell *et al.*, 1982)