

**Isolasi dan Identifikasi Senyawa Aktif Antimakan Daun Nagasari
(*Calophyllum nagassarium* Burm.f.) terhadap
Larva Kepik (*Epilachna sparsa*)**

***Isolation and Identification of Antifeeding Active Compound of
Nagasari Leaf (*Calophyllum nagassarium* Burm.F.) to Ladybug
Larva (*Epilachna sparsa*)***

^{1*}Nurul Hidayah, ¹Sri Rahayu Santi, ¹I Wayan Gede Gunawan

¹Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana, Bali.
Email: nurullhidayah95@gmail.com

ABSTRAK

Hama *Epilachna sparsa* merupakan salah satu hama tanaman yang merusak lapisan epidermis di bawah daun, sehingga dapat mengakibatkan jaringan daun rusak dan hanya tersisa kerangka. Hama tersebut dapat diminimalisir keberadaannya menggunakan ekstrak tanaman yang memiliki nilai toksisitas yang tinggi, seperti tanaman nagasari. Oleh karena itu, dalam penelitian ini akan dicoba untuk mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa aktif antimakan daun nagasari dengan metode maserasi 1000 g serbuk daun nagasari menghasilkan 60 g ekstrak pekat etanol dengan aktivitas antimakan (27% pada 0,1% b/v). Partisi ekstrak pekat etanol menghasilkan 4,85 g ekstrak n-heksana (0,1% b/v sebesar 65%), 6 g ekstrak etil asetat (0,1% b/v sebesar 54%), 3 g ekstrak n-butanol (0,1% b/v sebesar 54%) dan 6,92 g ekstrak air (0,1% b/v sebesar 41%). Pemisahan ekstrak n-heksana dengan kromatografi kolom menghasilkan 2 fraksi, yang mana fraksi 1 bersifat paling aktif antimakan dengan aktivitas antimakan (28% pada 100 ppm). Hasil analisis dengan GC-MS, fraksi 1 mengandung minimal 7 senyawa, yaitu trans-Caryophyllene, alpha-Humulene (golongan sesquiterpen), asam Heksadekanoat metil ester (golongan asam lemak) serta senyawa dengan berat molekul 429, 443, 448 dan 175.

Kata Kunci: *Calophyllum nagassarium* Burm.f., antimakan, *Epilachna sparsa*.

ABSTRACT

Epilachna sparsa is one of the plant pests that damage the epidermis layer under the leaves, so it can lead to damaged leaf tissue and only remaining skeletal. These pests can be minimized by using plant extracts that have high toxicity values, such as nagasari plants. Therefore, in this study it will be attempted to isolate and identify the active compound antifeedant leaf nagasari with maceration method 1000 g of nagasari leaf powder yields 60 g of ethanol concentrated extract with antifeedant activity (27% at 0,1% w/v). The concentrated extract partition of ethanol yielded 4,85 g of n-hexane extract (0,1% w/v of 65%), 6 g of ethyl acetate extract (0,1% w/v by 54%), 3 g of n-butanol extract (0,1% w/v by 54%) and 6,92 g of water extract (0,1% w/v by 41%). Separation of n-hexane extracts by column chromatography yielded 2 fractions, which fraction 1 was most antifeedant with activity (28% at 100 ppm). The results of analysis with GC-MS, fraction 1 contained at least 7 compounds such as trans-Caryophyllene, alpha-Humulene (sesquiterpen group), Hexadecanoic acid methyl ester (fatty acid group) and molecular weight compounds 429, 443, 448 and 175.

Keywords: *Calophyllum nagassarium* Burm.f., antifeedant, *Epilachna sparsa*.

PENDAHULUAN

Serangan hama merupakan salah satu kendala utama dalam budidaya tanaman yang dapat menghambat pertumbuhan dan menurunkan nilai produktivitas tanaman yang menyebabkan kegagalan panen (Dadang, 2008). Untuk mengendalikan hama, petani menggunakan pestisida sintesis, namun jika digunakan dalam jangka waktu yang lama dan tidak sesuai dosis, akan memberikan dampak negatif terhadap kelestarian ekosistem pertanian seperti resistensi hama dan pencemaran lingkungan yang berdampak terhadap kesehatan manusia (Djojsumanto, 2008; Girsang, 2009).

Kerugian dan bahaya yang ditimbulkan dari pestisida sintesis menyebabkan para petani perlu mencari pestisida alternatif, seperti pestisida nabati (Kardinan, 2002). Pestisida nabati berdasarkan mekanisme kerjanya dibagi menjadi dua kelompok diantaranya sebagai kelompok pengendali pertumbuhan larva (*larva growth regulator*) yang dapat mengubah pertumbuhan, perkembangan serta reproduksi larva dan kelompok yang dapat mengubah perilaku larva meliputi penolak (*repellent*), penarik (*attractant*), pembunuh, pengusir, feromon, stimulant, penolakan peletakan telur (*oviposisi*) dan antimakan (*antifeedant*) (Ruslan, *et al.*, 1989).

Senyawa antimakan telah menjadi perhatian yang menarik sebagai salah satu alternatif dalam perlindungan tanaman pangan karena senyawa ini bersifat tidak membunuh, mengusir atau menjerat serangga tetapi hanya menghambat aktivitas makan sehingga senyawa aktif antimakan memiliki beberapa kelebihan yaitu tidak menimbulkan resistensi, mudah terdegradasi, memiliki selektivitas yang tinggi dan relatif tidak beracun bagi manusia (Leatemia, 2004; Ling, *et al.*, 2008).

Tanaman nagasari merupakan salah satu tanaman yang satu genus dengan tanaman nyamplung (*Calophyllum inophyllum* L.), yang mana daging biji nyamplung bersifat toksik terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan $LC_{50} = 154,8$ ppm serta memiliki aktivitas antimakan sebesar 58,32% terhadap larva *Epilachna sparsa* pada konsentrasi 0,1% b/v (Santi, 2014). Daun nagasari melalui pendekatan kemotaksonomi diduga memiliki potensi sebagai antimakan terhadap serangan

hama serangga sehingga dalam penelitian ini akan dicoba untuk mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa aktif antimakan terhadap larva *Epilachna sparsa*.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat Penelitian

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun nagasari (*Calophyllum nagassarium* Burm.f.) yang diperoleh dari desa Pas Dalem, Kecamatan Gianyar, Kabupaten Gianyar, Bali. Bahan kimia yang digunakan terdiri dari etanol teknis, n-heksana p.a, etil asetat p.a, n-butanol p.a, kloroform p.a, silika gel GF₂₅₄ digunakan untuk kromatografi lapis tipis, silika gel 60 digunakan untuk kromatografi kolom, aquades, FeCl₃, pereaksi Meyer, pereaksi Wagner, pereaksi Liebermann-Burchard, pereaksi Wilstater dan pereaksi Dragendroff.

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah botol vial, *rotary vacuum evaporator*, seperangkat alat gelas, seperangkat alat Kromatografi Lapis Tipis dan Kromatografi Kolom serta seperangkat alat GC-MS.

Ekstraksi dan uji aktivitas antimakan daun nagasari

Serbuk kering daun nagasari dengan kadar air 8,6% di maserasi menggunakan etanol sampai semua metabolit yang terkandung didalamnya terekstraksi sempurna. Ekstrak yang diperoleh diuapkan pelarutnya menggunakan *rotary vacuum evaporator* dan ditimbang sehingga mendapatkan ekstrak kental etanol, kemudian di uji antimakan. Ekstrak kental etanol dilarutkan dengan campuran etanol-air (7:3), selanjutnya dipartisi secara berturut-turut dengan n-heksana, etil asetat dan n-butanol, lalu diuapkan dan ditimbang sehingga diperoleh empat ekstrak pekat yaitu ekstrak pekat n-heksana, ekstrak pekat etil asetat, ekstrak pekat n-butanol serta ekstrak pekat air, kemudian di uji antimakan pada konsentrasi 0,1% b/v, 5% b/v, 10% b/v dan 20% b/v.

Ekstrak paling aktif antimakan kemudian dipisahkan dengan kromatografi kolom menggunakan fase diam berupa silika gel 60 dan fase gerak n-heksana:etil asetat (1:1). Fraksi yang diperoleh dari hasil kromatografi kolom diuji antimakan pada

konsentrasi 100 ppm, 200 ppm, 400 ppm dan 1000 ppm dan diuji kemurnian dengan kromatografi lapis tipis. Isolat aktif yang relatif murni diidentifikasi menggunakan GC-MS.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil maserasi 1 kg serbuk kering daun nagasari menghasilkan 60 gram ekstrak pekat etanol berwarna hijau kehitaman. Hasil partisi ekstrak etanol secara berturut-turut dengan 300 ml n-heksana, 400 ml etil asetat dan 400 ml n-butanol menghasilkan 4,85 gram ekstrak pekat n-heksana yang berwarna coklat, 6 gram ekstrak etil asetat yang berwarna hijau kehitaman, 3 gram ekstrak n-butanol yang berwarna coklat kehitaman dan 6,92 gram ekstrak air yang berwarna coklat, selanjutnya di uji antimakan menggunakan larva

Epilachna sparsa. Hasil uji aktivitas antimakan menunjukkan bahwa ekstrak pekat n-heksana memiliki persentase aktivitas tertinggi yaitu sebesar 65% pada konsentrasi 0,1% b/v dibandingkan dengan *crude* etanol yaitu sebesar 27% pada konsentrasi 0,1% b/v. Oleh sebab itu, ekstrak pekat n-heksana dilanjutkan pada proses pemisahan dan pemurnian untuk mengetahui senyawa aktifnya.

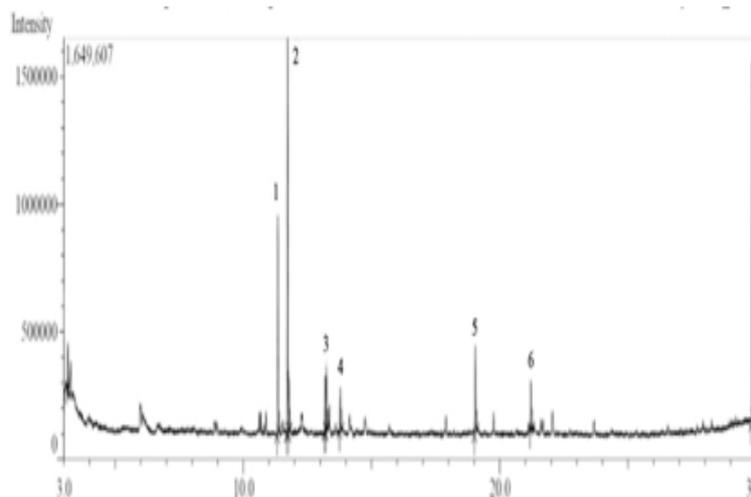
Hasil pemisahan 1,5 g ekstrak n-heksana dengan kromatografi kolom menghasilkan 2 fraksi kemudian di uji aktivitas antimakannya, yang mana fraksi 1 memiliki aktivitas antimakan lebih tinggi daripada fraksi 2, yaitu sebesar 28% pada konsentrasi 100 ppm yang ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil uji aktivitas antimakan hasil fraksi kolom

Fraksi	Konsentrasi (ppm)	Aktivitas antimakan (%)			
		Percobaan 1	Percobaan 2	Percobaan 3	Rata-rata
F1 (1-20)	100	14	20	50	28±19,28
	200	100	52	6	52±47,00
	400	100	50	12	54±44,13
	1000	9	100	84	64±48,58
F2 (21-35)	100	18	8	19	15±6,08
	200	100	11	42	51±40,11
	400	100	29	33	54±39,88
	1000	25	100	50	58±38,18

Fraksi yang paling aktif kemudian di uji pemurnian dengan berbagai macam fase gerak, yang mana fraksi 1 memberikan satu noda, namun bentuknya tidak beraturan sehingga fraksi tersebut dikatakan belum murni. Oleh karena itu, perlu identifikasi lebih lanjut dengan uji fitokimia yang menunjukkan adanya senyawa golongan terpenoid dan steroid yang ditandai dengan perubahan warna dari bening menjadi merah dan terdapat warna hijau disampingnya, dan dianalisis dengan GC-MS.

Hasil analisis fraksi 1 dengan kromatografi gas menghasilkan minimal 7 puncak dengan waktu retensi (t_R) dan luas puncak secara berturut-turut yaitu t_R 11,34 menit (1,35%), t_R 11,72 menit (4,83%), t_R 13,23 menit (0,62%), t_R 13,78 menit (0,32%), t_R 19,04 menit (1,33%), t_R 21,20 menit (0,46%) dan t_R 29,83 menit (5,53%) seperti ditunjukkan pada Gambar 1. Setiap puncak selanjutnya dianalisis spektra massanya kemudian dibandingkan dengan spektra massa *database* WILEY7.LIB/NISTO8.LIB.



Gambar 1. Kromatogram fraksi aktif antimakan (F1)

Hasil kromatogram dengan spektrum massa menunjukkan bahwa ada 3 puncak yang memiliki kemiripan dengan *database* yaitu puncak 1 menunjukkan adanya ion molekul (M^+) pada m/z 204 kemungkinan adalah senyawa trans-Caryophyllene yang merupakan golongan senyawa terpenoid dengan rumus molekul $C_{15}H_{24}$, puncak 2 menunjukkan adanya ion molekul (M^+) pada m/z 204 kemungkinan adalah senyawa alpha-Humulene yang merupakan golongan senyawa terpenoid dengan rumus molekul $C_{15}H_{24}$, dan puncak 5 menunjukkan adanya ion molekul (M^+) pada m/z 270 kemungkinan adalah senyawa asam Heksadekanoat metil ester yang merupakan golongan asam lemak dengan rumus molekul $C_{17}H_{34}O_2$. Senyawa pada puncak 3,4,6 dan 7 tidak memiliki kemiripan dengan spektrum massa *database* serta tidak terdapat puncak $M+1$ sehingga tidak dapat ditentukan secara pasti rumus molekul dan pola pemenggalan yang terjadi. Oleh karena itu, senyawa pada puncak 3,4,6, dan 7 secara berturut-turut hanya teridentifikasi sebagai senyawa dengan berat molekul 429, 443, 448 dan 175.

Senyawa alpha-Humulene dan trans-Caryophyllene (golongan sesquiterpenoid) serta asam Heksadekanoat metil ester (golongan asam lemak) bersifat racun dan berfungsi sebagai penolak serangga serta insektisida (Robinson, 1995; Prakash 1997). Aktivitas antimakan disebabkan karena ekstrak dapat mengganggu sistem penerimaan rangsangan, salah satunya dengan menghalangi pengiriman sinyal ke reseptor

perasa. Apabila ekstrak termakan oleh larva atau serangga, maka ekstrak akan bereaksi dengan usus larva atau serangga yang membuat otot usus menjadi tegang sehingga mortalitasnya menurun dan mengakibatkan makanan menjadi tertahan di dalam usus dan secara langsung dapat memberikan efek nafsu makan larva atau serangga menjadi berkurang sementara atau permanen tergantung pada potensi zat tersebut (Maria *et al*, 2003; Miles *et al*, 1983).

SIMPULAN DAN SARAN

Penelitian yang telah dilakukan memberikan hasil bahwa ekstrak n-heksana daun nagasari berpotensi untuk dikembangkan sebagai antimakan karena mempunyai aktivitas sebesar 65% pada konsentrasi 0,1% b/v. Hasil identifikasi menggunakan GC-MS, ekstrak n-Heksana mengandung minimal 7 komponen senyawa, dua diantaranya teridentifikasi sebagai senyawa trans-Caryophyllene dan alpha-Humulene (golongan senyawa terpenoid), asam Heksadekanoat metil ester yang merupakan golongan asam lemak dan senyawa dengan berat molekul 429, 443, 448 dan 175.

Ekstrak n-Heksana daun nagasari perlu dipisahkan dan dimurnikan sampai dihasilkan isolat aktif antimakan terhadap larva *Epilachna sparsa* supaya dapat diidentifikasi lebih lanjut menggunakan 1H -NMR, ^{13}C -NMR sehingga dapat diketahui senyawa aktifnya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada Ibu Sri Rahayu Santi, S.Si., M.Si, Dr. I Wayan Gede Gunawan, S.Si., M.Si serta kepada semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Dadang, Prijono. (2008). Prinsip, Pemanfaatan dan Pengembangan Insektisida Nabati, Departemen Proteksi Taman, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Djojsumanto. (2008). Teknik Aplikasi Pestisida Pertanian, Kanisius: Yogyakarta.
- Girsang, Warlinson.. (2009). Dampak Negatif Penggunaan Pestisida, Fakultas Pertanian, Universitas Simalungun, Pematang Siantar.
- Kardinan, A. (2002). Pestisida Nabati: Ramuan dan Aplikasi, Cetakan ke-4, PT. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Leatemia, J.A. and Murray, B.I. (2004). Toxicity and Antifeedant Activity of Crude Seed Extract of *Annona squamosa* (Annonaceae) Against Lepidopteran Pests and Natural Enemies, *International Journal of Tropical Insect Science*, 24: p. 150-158.
- Ling, B., Guo-cai, W., Ji, Y., Mao-xin, Z., Guang-wen, L. (2008). Antifeedant Activity and Active Ingredients Against *Plutella xylostella* from *Momordica charantia* Leaves. *Agricultural Sciences in China*. 7(12): p. 1466-1473.
- Maria, C. Carpinella, Maria A.T. Defago, Graciela Valladares, and Sara M. Palacios. (2003). Antifeedant and Insecticide Properties of a Limonoid from *Melia azedarach* (Meliaceae) with Potential Use for Pest management, *J. Agric. Food Chem.*, 51, 369-374.
- Miles, D.H., B.L, Hankinson and S.A, Randle. (1985). *Insect antifeedant from the Peruvian Plant Alchornea triplinerva*, dalam Paul Hedin (Editor): *Bioregulator for pestcontrol*. Washington DC: American Chemical Society.
- Prakash A., J. Rao. (1997). *Botanical pesticides in agriculture*. CRC Press, New York, London. 461 hal.
- Pramana, I.W., Santi, S.R Rustini, N.L. (2016). Isolasi dan Identifikasi Senyawa Sitotoksik Daun Nagasari (*Calophyllum nagasarium* Burm.f) Terhadap Larva *Artemia salina* Leach, *Jurnal Kimia.*, 10 (1): 96-102.
- Robinson, T. (1995). *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*, ITB Press, Bandung.
- Ruslan, K.S., Soetarno, S. Sastrodihardjo. (1989). *Insektisida dari Produk Alami*, PAU Bidang Ilmu Hayati, ITB, Bandung.
- Santi, S.R. (2014). Senyawa Antimakan Pada Minyak Biji Nyamplung (*Calophyllum inophyllum* L.), *Jurnal Kimia*, 8(2): 226-229.