

IDENTIFIKASI SENYAWA AKTIF ANTIFEEDANT DARI EKSTRAK DAUN PANGI (*Pangium Sp*) DAN UJI AKTIVITASNYA TERHADAP ULAT KUBIS (*Plutella Xylostella*)

Ida Bagus Putra Mahardika, Ni Made Puspawati, dan Ida Ayu Gede Widihati

Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana, Bukit Jimbaran

**email : made_puspawati@unud.ac.id*

ABSTRAK

Daun pangi (*Pangium edule*) telah diketahui memiliki banyak manfaat, salah satunya diduga memiliki aktivitas antifeedant. Sebanyak 500 g serbuk daun pangi diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut n-heksana menghasilkan 4,51 g ekstrak kental berwarna hijau tua. Ekstrak kental n-heksana menunjukkan aktivitas antifeedant yang tinggi terhadap ulat *Plutella Xylostella* yaitu 47,23% pada konsentrasi 0,1%(b/v). Pemisahan 2 g ekstrak n-heksana secara kromatografi kolom menggunakan fase gerak n-heksana : etil asetat : kloroform (6:2,5:1,5) dan fase diam silika gel 60 menghasilkan 6 fraksi, dimana fraksi 3 memiliki aktivitas antifeedant yang paling tinggi yaitu 52,15%, 69,88%, dan 91,66% berturut-turut pada konsentrasi 10 ppm, 100 ppm, dan 1000 ppm. Uji kemurnian dengan kromatografi lapis tipis terhadap fraksi 3 menghasilkan noda tunggal sehingga dapat dilanjutkan pada proses identifikasi menggunakan kromatografi gas-spektroskopi massa (GC-MS). Hasil identifikasi menunjukkan isolat aktif mengandung minimal 11 senyawa dengan 8 senyawa yang berhasil teridentifikasi – pinen; trimetilbenzena; asam triflorotetradecilasetat; nonadekena; 13-hexyloxacyclotridec-10-en-2-on; phytol; 3-eicosene; asam diisooktilbenzendikarboksilat.

Kata kunci : Daun pangi, *Pangium edule* , *Plutella Xylostella*, antifeedant

ABSTRACT

Leaves of pangi (*Pangium edule*) are known to have many benefits, including antifeedant activity. 500 g of pangi leaf powder was extracted by maceration method using n-hexane extract yielded 4.51 g of dark green extract. This extracts showed high antifeedant activity (47.23%) against *Plutella Xylostella* at a concentration of 0.1% (w / v). Separation of 2 g of n-hexane extract by chromatography column using n-hexane: ethyl acetate: chloroform (6:2.5:1.5) as mobile phase and silica gel 60 as stationary phase produced 6 groups of fractions. Fractions 3 revealed the highest antifeedant activity that is 52.15%, 69.88%, and 91.66% respectively at a concentration of 10 ppm, 100 ppm, and 1000 ppm. This active fraction which was considered relatively pure following purity test on TLC was then identified using GC-MS spectrometre. GC-MS spectra of antifeedant active compound contained at least 11 compounds with 8 compounds successfully identified as – pinene, benzene trimethyl, acetic acid trifluoro-tetradecyl ester, nonadecene, 13-Hexyloxacyclotridec-10-en-2-one, phytol, 3-eicosene, , benzenedicarboxylic acid diisooctyl este.

Keywords : Leaves of pangi, *Pangium edule*, *Plutella Xylostella*, antifeedant

PENDAHULUAN

Penelusuran tumbuh-tumbuhan yang dapat menghasilkan biopestisida, seperti *antifeedant* untuk mengendalikan hama serangga, sangat menarik perhatian para peneliti di seluruh dunia.

Hal ini disebabkan oleh karena dalam perlindungan tanaman, senyawa *antifeedant* tidak membunuh, mengusir atau menjerat serangga hama, tetapi hanya menghambat selera makan dari serangga tersebut, sehingga tanaman pangan atau tanaman komoditi dapat terlindungi (*Leatemia* dan

Murray, 2004; Ling, dkk., 2008). Selain itu, senyawa *antifeedant* sangat spesifik terhadap serangga sasaran, karena tidak mengganggu serangga lain, sehingga tidak berpengaruh terhadap kelangsungan hidup organisme lainnya. Senyawa *antifeedant* adalah suatu senyawa yang jika diujikan terhadap serangga akan menghentikan nafsu makan secara sementara atau permanen. Pengendalian serangga hama menggunakan senyawa-senyawa yang bersifat menghambat aktivitas makan memberikan beberapa kelebihan seperti tidak menimbulkan resistensi, selektivitas yang tinggi, mudah terdegradasi, dan relatif tidak beracun terhadap manusia (Leatemia dan Murray, 2004; Ling, dkk., 2008).

Secara umum, hama tanaman tidak dapat dihilangkan secara total, tetapi perlu dilakukan upaya-upaya untuk menurunkan populasi hama tersebut. Aplikasi senyawa-senyawa yang bersifat sebagai penghambat aktivitas makan serangga dapat memberikan kontribusi dalam kegiatan pengendalian serangga hama. Penggunaan secara praktis senyawa-senyawa penghambat aktivitas makan serangga dapat dilakukan pada beberapa tahap dalam budidaya tanaman seperti pembibitan, pertumbuhan, dan prapanen.

Beberapa senyawa *antifeedant* yang telah berhasil diisolasi dari tumbuhan, diantaranya adalah senyawa isopimpinolin, bergapten, santotoksin, dan japonin dari daun *Orixa japonica* yang aktif antimakan terhadap *Spodoptera littura* F (Yajima, dkk., 1977). Kubo, dkk., (1980) berhasil mengisolasi plumbagin, suatu senyawa naftokuinon dari *Plumbago capenensis* yang berpotensi sebagai *antifeedant* terhadap ulat tentara (*Army worm*) dari Afrika. Selain itu lima senyawa turunan kromen telah berhasil diisolasi dari salah satu species tumbuhan pada famili *Astaceae*, yang mana senyawa ini bersifat racun kontak dan *antifeedant* terhadap *Spodoptera littoralis* (Srivastava dan Proksch, 1990).

Salah satu tumbuhan yang dapat dimanfaatkan untuk maksud tersebut adalah tumbuhan pangi (*Pangium* sp). Pangi merupakan tanaman tahunan dengan tinggi mencapai 18-40 meter, bertajuk rindang dapat dimanfaatkan sebagai tanaman penghijauan dan pohon pelindung. biji pangi yang baru dipanen langsung dicuci dan direbus kemudian ditaburi abu gosok dan ditimbun dalam tanah disebut dengan

keluwek. Keluwek banyak dimanfaatkan untuk bumbu masak (Heyne, 1987). Buah biji pangi segar juga dapat digunakan sebagai pengawet ikan dan daging. Secara tradisional biji pangi dapat digunakan sebagai pengawet nabati dengan cara mencincang halus dan dijemur selama 2-3 hari digunakan untuk mengawetkan ikan laut. Ikan laut tersebut lalu ditumpuk dalam keranjang sehingga dapat disimpan dalam kurun waktu 1 minggu. Dosis yang digunakan umumnya perbandingan 2% biji buah + 2 % garam dari total berat ikan (Hangesti, 2008). Selain sebagai pengawet nabati, ekstrak biji pangi muda diketahui sebagai racun terhadap mencit yang menyebabkan kematian 100% dalam waktu 2 menit akibat efek dari asam sianida (Yuningsih, dkk., 2004). Dalam penelitian lain ekstrak biji pangi juga dapat mematikan keong emas sehingga dapat digunakan sebagai moluskisida (Mott, 1987).

Bagian daun dari tanaman pangi ini dilaporkan mengandung beberapa senyawa kimia yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan terpenoid (Sangi, dkk., 2008). Daun pangi yang direbus dapat digunakan sebagai antiseptik, pemusnah hama dan pencegah parasit. Penggunaan pelarut n-heksana pada proses ekstraksi karena senyawa yang bersifat *antifeedant* cenderung akan terekstraksi jika menggunakan pelarut non polar, sedangkan pelarut polar akan cenderung mengekstraksi senyawa-senyawa yang bersifat insektisida. Masih terbatasnya informasi ilmiah mengenai kemampuan ekstrak daun pangi sebagai senyawa *antifeedant* yang berguna untuk biopestisida, menjadi dasar dilakukannya penelitian mengenai ekstrak daun pangi yang berperan sebagai *antifeedant* sekaligus untuk mengetahui senyawa aktifnya.

MATERI DAN METODE

Bahan

Bahan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun pangi (*Pangium* sp). Daun pangi diperoleh dari Kabupaten Minahasa Utara Propinsi Sulawesi Utara. Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah: n-heksana (C_6H_{14}) teknis, etilasetat ($C_4H_8O_2$) teknis, kloroform ($CHCl_3$) teknis, akuades, asam klorida (HCl), natrium hidroksida (NaOH), amonium

hidroksida (NH₄OH), serbuk magnesium (Mg), asam sulfat (H₂SO₄), silika gel 60, silika gel GF₂₅₄, pereaksi FeCl₃ 1%, Meyer, Wagner, Willstater, dan pereaksi Lieberman-Burchard.

Peralatan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah: pisau, blender, neraca analitik, beker gelas, corong, cawan petri, kain kasa/kapas, kuas, penguap putar vakum, gelas ukur, batang pengaduk, kertas saring, botol reagen, tabung reaksi, seperangkat alat kromatografi lapis tipis, seperangkat alat kromatografi kolom, lampu UV, dan seperangkat alat GC-MS-A gilent 6890 Rev.A.80.00.

Cara Kerja

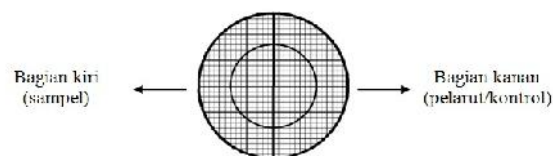
Isolasi dan Identifikasi Senyawa Aktif Antifeedant dari Daun Pangsi

Sebanyak 500 g serbuk kering daun pangsi diekstrak dengan cara maserasi selama 24 jam dengan menggunakan pelarut n-heksana sampai semua serbuk terendam. Proses ekstraksi dilakukan sebanyak 3×1000 mL. Ekstrak yang diperoleh kemudian diuapkan dengan menggunakan penguap putar vakum (*rotary evaporator*) sampai diperoleh ekstrak kental n-heksana. Ekstrak kental n-heksana kemudian diuji aktivitas *antifeedant*nya dengan menggunakan *Plutella xylostella* sebagai bioindikator dan dilanjutkan dengan proses pemisahan dan pemurnian. Pemisahan dan pemurnian terhadap ekstrak aktif *antifeedant* dilakukan dengan teknik Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan kromatografi kolom. Fraksi hasil pemisahan kromatografi kolom diuji kembali aktivitas *antifeedant*nya sehingga didapat fraksi yang memiliki aktivitas *antifeedant* tertinggi. Isolat aktif *antifeedant* ini lalu diidentifikasi dengan uji fitokimia dan kromatografi gas-spektrometer massa (GC-MS).

Uji Hayati Antifeedant

Uji Hayati *antifeedant* dilakukan dengan mengambil masing-masing ekstrak untuk dibuat konsentrasi 0,1% (b/v), 5% (b/v), dan 10% (b/v). Larutan uji ini dioleskan merata pada bagian belakang dari media uji (daun kubis) dengan menggunakan kuas pada paruh kiri sedangkan pelarut pada paruh kanan sebagai kontrol, lalu dikeringkan. Daun media uji dimasukkan ke dalam

cawan petri yang sudah diberi lapisan kain kasa atau kapas basah untuk kelembaban. Daun ditutup dengan petri yang lebih kecil yang diberi lubang ditengahnya dengan diameter 3,5 cm. Di atas penutup daun diletakkan 3-5 ekor larva *Plutella xylostella* yang telah dipuasakan selama empat jam, kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 24 jam, setelah 24 jam daun media uji diambil dan dilakukan perhitungan luas daun yang dikonsumsi hewan uji. Cara menghitung luas daun adalah dengan membuat lingkaran plastik transparan berdiameter 3,5 cm dan membaginya menjadi kotak-kotak kecil.



Gambar 1. Cara menghitung luas area aktivitas *antifeedant*

Perhitungan aktivitas *antifeedant* menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\frac{\text{Luas sektor yang dikonsumsi (bagian kanan - bagian kiri)}}{\text{Luas sektor yang dikonsumsi (bagian kanan + bagian kiri)}} \times 100\%$$

Uji aktivitas *antifeedant* terhadap fraksi hasil kolom kromatografi dilakukan dengan cara yang sama, tetapi dengan konsentrasi larutan uji yang berbeda yaitu 10 ppm, 100 ppm, dan 1000 ppm

HASIL DAN PEMBAHASAN

Maserasi terhadap 500 g serbuk daun pangsi dengan 3×1000 mL n-heksana menghasilkan 4,51 g ekstrak kental yang berwarna hijau tua. Ekstrak kental ini selanjutnya diuji aktivitas *antifeedant*nya dengan ulat *Plutella Xylostella*.

Uji aktivitas *antifeedant* ekstrak kental n-heksana menunjukkan aktivitas *antifeedant* yang tinggi terhadap ulat *Plutella Xylostella*. Pemisahan 2 g ekstrak kental n-heksana dengan kromatografi kolom menggunakan campuran eluen yaitu n-heksana : etil asetat : kloroform (6:2,5:1,5) sebagai fase gerak dan fase diam berupa silika gel 60

diperoleh 127 botol eluat. Botol eluat yang memberikan pola pemisahan yang sama pada kromatografi lapis tipis digabungkan, dan diperoleh 5 fraksi (F1-F5). Hasil pemisahan ekstrak n-heksana dengan kromatografi kolom tertera pada Tabel 2.

Hasil uji aktivitas *antifeedant* ke-5 fraksi hasil kolom kromatografi dipaparkan pada Tabel 3.

Seperti yang tertera pada Tabel 3, fraksi 3 memiliki persentase rata-rata aktivitas *antifeedant* tertinggi dibandingkan dengan fraksi lainnya baik

pada konsentrasi 10 ppm, 100 ppm, maupun 1000 ppm. Hal ini sesuai dengan pernyataan Mikolajczak(1988), bahwa suatu bahan dapat dikatakan aktif *antifeedant* jika memiliki aktivitas *antifeedant* diatas 25%, sehingga ekstrak kental n-heksana dapat dikatakan aktif *antifeedant*. Fraksi 3 yang telah menunjukkan aktivitas *antifeedant* tertinggi yaitu diatas 25%, dilanjutkan pada Uji kemurnian dengan menggunakan berbagai macam campuran eluen.

Tabel 1. Hasil uji aktivitas *antifeedant* dari ekstrak kental n-heksana

Ekstrak Kental	Konsentrasi (% (b/v))	Aktivitas <i>Antifeedant</i> (%)			
		Perc.1	Perc.2	Perc.3	Rata-rata
N-Heksana	0,1	47,16	70,58	23,33	47,23
	5	100	65,71	34,69	66,83
	10	36,03	78,94	88,23	67,72

Tabel 2. Hasil pemisahan ekstrak n-heksana dengan kromatografi kolom

Fraksi	Berat (g)	Jumlah noda	Harga Rf	Warna
F ₁ (1-16)	0,07	1	0,89	Kuning keemasan
F ₂ (17-26)	0,04	2	0,85	Kuning pucat
			0,90	
F ₃ (27-45)	0,18	1	0,75	Hijau kekuningan
F ₄ (46-57)	0,03	2	0,6	Hijau tua
			0,65	
F ₅ (58-81)	0,08	1	0,59	Hijau muda

Tabel 3. Hasil uji aktivitas *antifeedant* fraksi hasil kolom kromatografi

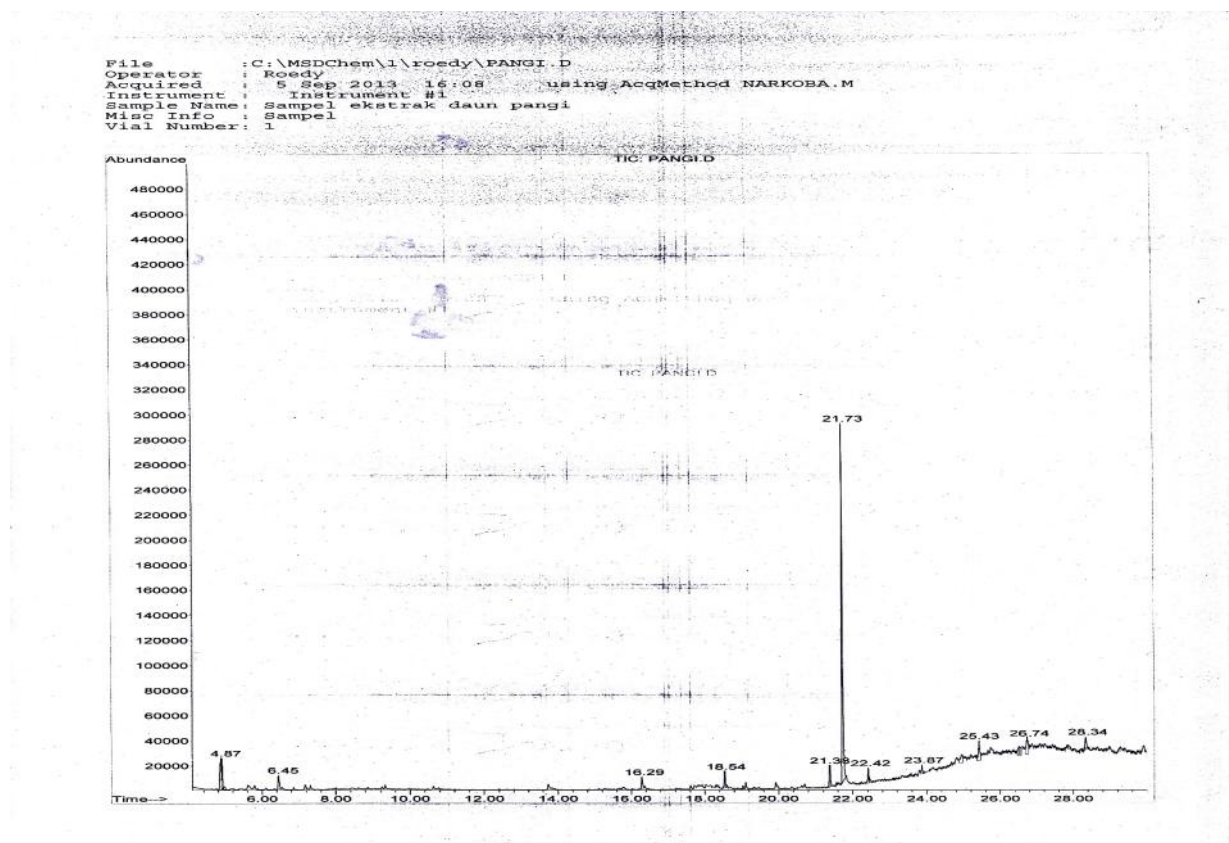
No.	Fraksi	Konsentrasi (ppm)	Aktivitas <i>Antifeedant</i> (%)		
			Percobaan 1	Percobaan 2	Rata-rata
1.	F ₁	10	37,78	21,21	29,49
		100	51,02	9,43	30,22
		1000	30,61	19,14	24,87
2.	F ₂	10	45,46	50,81	45,13
		100	77,21	60	68,60
		1000	41,17	33,33	37,25
3.	F ₃	10	41,82	63,21	52,15
		100	77,50	62,26	69,88
		1000	100	83,33	91,66
4.	F ₄	10	71,79	16,67	44,23
		100	63,41	11,86	37,63
		1000	31,03	27,27	29,15
5.	F ₅	10	36,58	9,47	23,02
		100	43,75	54,28	49,01
		1000	64,44	63,64	64,04

Tabel 4. Hasil Uji kemurnian fraksi 3

No.	Fase Gerak	Jumlah Noda	Nilai Rf
1.	n-heksana : etil asetat (1:1)	1	0,78
2.	n-heksana : etil asetat (7:3)	1	0,56
3.	n-heksana : etil asetat (9:1),	1	0,82
4.	n-heksana:etil asetat:kloroform (6:2:2),	1	0,39
5.	n-heksana:etil asetat:kloroform (6:2,5:1,5)	1	0,58

Tabel 5. Hasil Uji fitokimia

No	Uji Fitokimia	Pereaksi	Perubahan yang terjadi	Ket.
1	Flavonoid	HCl + Mg	Tidak ada (hijau-hijau)	-
2	Alkaloid	Meyer Wagner	Tidak ada endapan Tidak ada endapan	- -
3	Saponin	Ditambah air lalu dikocok	Tidak timbul busa	-
4	Steroid/Triterpenoid	Libierman Buchard + H2SO4 pekat	Hijau-merah ungu (Triterpenoid)	+
5	Tanin	HCl 2M	Tidak ada (hijau-hijau)	-



Gambar 2. Kromatografi gas isolat aktif

Tabel 6. Senyawa penyusun fraksi 3 berdasarkan database NIST02.L.

No.	Puncak senyawa	Waktu Retensi	% Area	M+	Senyawa dugaan
1.	Puncak 1	4,87	7,01	136	– pinen
2.	Puncak 2	6,45	4,96	120	Trimetilbenzena
3.	Puncak 3	16,29	4,13	125	asam triflorotetradecilasetat
4.	Puncak 4	18,54	4,91	207	Nonadekena
5.	Puncak 5	21,38	6,07	280	13-hexyloxacyclotridec-10-en-2-on
6.	Puncak 6	21,73	47,74	278	Phytol
7.	Puncak 7	22,42	4,28	283	3-eicosene
8.	Puncak 9	25,43	6,35	279	asam diisooktilbenzendikarboksilat

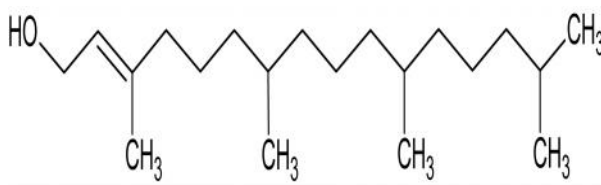
Berdasarkan pendekatan database NIST02.L yang telah terintegrasi pada alat GC-MS, maka senyawa penyusun fraksi 3 dari ekstrak n-heksana daun pangi.

Tabel 4 menunjukkan fraksi 3 memberikan noda tunggal pada beberapa campuran eluen, sehingga hasil tersebut dapat dikatakan relatif murni pada uji KLT. Fraksi 3 lalu diuji fitokimia.

Fraksi 3 pada uji fitokimia positif mengandung triterpenoid, dimana hal ini dibuktikan dengan perubahan warna dari hijau menjadi merah ungu.

Identifikasi fraksi 3 dengan kromatografi gas-spektroskopi massa menghasilkan 11 puncak dengan dengan 8 puncak senyawa yang berhasil teridentifikasi.

Dari 8 senyawa penyusun tersebut senyawa phytol diduga memiliki aktivitas *antifeedant* karena merupakan senyawa penyusun yang dominan dalam daun pangi. Hal ini juga didukung dengan hasil penelitian Hosozawa (1974) yang melaporkan bahwa tumbuhan *Callicarpa Japonica* memiliki aktivitas *antifeedant* yang dipengaruhi oleh senyawa phytol. Struktur senyawa phytol ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Struktur senyawa phytol

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa ekstrak n-heksana daun pangi memiliki aktivitas *antifeedant* dengan nilai aktivitas *antifeedant* sebesar 47,23%, 66,83% dan 67,72% berturut-turut pada konsentrasi 0,1%(b/v), 5%(b/v) dan 10%(b/v).. Dari hasil identifikasi menggunakan kromatografi gas-spektroskopi massa (GC-MS), isolat aktif n-heksana daun pangi mengandung minimal 11 senyawa dengan 8 senyawa yang berhasil teridentifikasi yaitu – pinen; trimetilbenzena; asam triflorotetradecilasetat; nonadekena; 13-hexyloxacyclotridec-10-en-2-on; phytol; 3-eicosene; asam diisooktilbenzendikarboksilat. Senyawa phytol diketahui memiliki aktivitas *antifeedant* terhadap tumbuhan *Callicarpa Japonica*.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang resistensi ulat *Plutella xylostella* terhadap penggunaan ekstrak daun pangi sebagai biopestisida yang bersifat *antifeedant* dengan cara melakukan uji aktivitas *antifeedant* sampai ulat *Plutella xylostella* mengalami resistensi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Melalui kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada Prof. Dr. Ir. Ida Bagus Putra Manuaba, M.Phil., dosen-dosen, dan staf pengajar lainnya di Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana atas bimbingan serta masukan selama pengerjaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Hangesti, E.W., 2008, Teknologi Pengawetan Ikan Kembang Segar dengan Menggunakan Bahan Alami Biji Picung (*Pangium edule* Reinw.), *Tesis S2*, Program Studi Teknologi Kelautan Sekolah Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor (IPB), Bogor
- Heyne, K., 1987, *Tumbuhan Berguna Indonesia Jilid I*, a.b. Badan Litbang Kehutanan Jakarta, Departemen Kehutanan, Jakarta
- Hosozawa, S., N. Kato, and K. Munakata, 1974, Antifeeding Active Substances for Insect in Plant., *Agr. Biol. Chem.*, 38
- Kubo, L, M. Tamguchi, A. Chapya, and K. Tsujimoto, 1980, An Insect Antifeedant and Antimicrobial Agent from *Plumbago capenensis*, *Journal of Medicinal Plant Research, Supplement*, 185-187
- Leatemia, J. A. and Murray, B. I., 2004, Toxicity And Antifeedant Activity Of Crude Seed Extracts Of *Annona Squamosa* (Annonaceae) Against Lepidopteran Pests And Natural Enemies. *International Journal of Tropical Insect Science*, 24 : 150-158
- Ling, B., Guo-cai, W., Ji, Y., Mao-xin, Z., and Guang-wen, L., 2008, Antifeedant Activity and Active Ingredients Against *Plutella xylostella* from *Momordica charantia* Leaves. *Agircultural Sciences in China*, 7 (12) : 1466-1473
- Mikolajczak, K. L. and Weisleder, D., 1988, A Limonoid Antifeedant from Seed of *Carapa procera*, *J. Nat Prod.*, 51 (3) : 606-610
- Mott, K.E., 1987, *Guidelines For Evaluation Of Plant Molluscicides*, Plant Molluscicides, A Wiley Med. Pub., p. 321-323
- Sangi, M., M. R. J. Runtuwene., H. E. I. Simbala, dan V. M. A. Makang, 2008, Analisis Fitokimia Tumbuhan Obat Di Kabupaten Minahasa Utara, *Chem. Prog.*, 1 (1) :
- Srivastava, P. R. and Proksch, P., 1990, Toxicity and Feeding Deterrence of Natural Chromene and Bensofuran Derivates to *Epilachna Parivestis*, *Naturwissenchepten*, 77 : 438-439
- Yajima, T. N., Kato, K., and Munakata, 1977, Isolation of Insect Antifeeding Principles in *Orixa japonica* Thumb, *Agric. Biol Chem*, 41 : 1263-1268
- Yuningsih, Damayanti R, Murdiati, dan Darmono, 2004, *Laporan Hasil Penelitian APBN 2004*, Balai Penelitian Veteriner, Bogor