IDENTIFIKASI SENYAWA AKTIF ANTIMAKAN BIJI SIRSAK (Annona muricata L.) TERHADAP ULAT KUBIS (Plutella xylostella)

Lusiana Tabuni*, Sri Wahjuni, dan Oka Ratnayani

Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana, Bukit Jimbaran *email : lssyanatbn@rocketmail.com

ABSTRAK

Identifikasi senyawa aktif antimakan biji sirsak (Annona muricata Linn) sebagai pestisida alami terhadap Plutella xylostella telah dilakukan. 1800 g serbuk biji sirsak dimaserasi menggunakan metanol dan n-heksana menghasilkan 46,42 g ekstrak metanol dan 94,19 g ekstrak n-heksana. Ekstrak kental metanol dilarutkan dalam campuran metanol : air (7:3), diuapkan hingga metanol hilang, kemudian dipartisi dengan kloroform. Ektrak kental n-heksana, kloroform, air di uji aktivitas antimakannya. Ekstrak n-heksana menunjukkan aktivitas antimakan yang paling tinggi. Pemisahan 2 gram ektrak kental n-heksana dengan kromatografi kolom menggunakan silika gel 60 dan fase gerak n-heksana : aseton (4:1) menghasilkan 5 fraksi. Uji aktifitas antimakan terhadap semua fraksi menunjukkan fraksi C memiliki aktivitas antimakan yang paling tinggi. Identifikasi isolat antimakan fraksi C menggunakan Kromatografi Gas-Spektroskopi Massa (KG-SM) berdasarkan Database\NISTO2.L dan Database\wiley7n.1 diduga mengandung senyawa aktif asam etil heksadekanoat dan asam 11-oktadekanoat.

Kata kunci: Annona Muricata Linn, Antimakan, Kromatografi Gas-Spektroskopi Massa, Plutella xylostella

ABSTRACT

Identification of antifeedant active compounds from Soursop seeds (Annona muricata Linn) as natural pesticides against Plutella xylostella has been carried out. 1800 g Soursop seed powder maceration was applied using methanol and n-hexane resulted in 46.42 g extract of methanol and 94.19 g extract of n-hexane. Viscous extract of methanol was diluted with the mixture of methanol:water (7:3), then evaporated until the entire methanol was removed, and after that it was partitioned with chloroform. The antifeedant activity of viscous extract of n-hexane, chloroform and water was tested which showed that the extract of n-hexane had highest activity compared to the others. Separation of 2 g viscous n-hexane extract with Coloumn Chromatography using Gel Silica 60 and n-hexane:aceton (4:1) as the mobile phase resulted in 5 fractions. The fractions were tested against Plutella xyllostella. The results showed that fraction C had the highest antifeedant activity. The isolate of fraction C was then identified using Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) based on the data base (Database\NISTO2.L and Database\wiley7n.1) suggested the active compounds were ethyl hexadecanoate ester and 11-octadecanoic acid.

Keywords: Annona Muricata Linn, Antifeedant, Gas Chromatography-Mass Spectrometry, Plutella Xylostella

PENDAHULUAN

Plutella xylostella merupakan salah satu ulat tanaman famili Cruciferae atau Brassicaceae yang dapat merusak tanaman kubis. Apabila tidak ada tindakan pengendalian, kerusakan kubis oleh hama tersebut dapat meningkat dan hasil panen dapat menurun baik jumlah maupun kualitasnya

(Herlinda, S. 2004). Berbagai usaha dan cara telah dilakukan untuk melindungi tanaman dari gangguan hama contohnya secara kimia dengan menggunakan pestisida sintetik (Tukimin, 2006).

Pestisida sintetik memberikan peranan penting di bidang pertanian sebagai salah satu upaya para petani dalam melakukan pengendalian hama serta penyakit pada tanaman (Djojosumanto, 2008). Namun, penggunaan pestisida sintetik yang tidak selektif serta sesuai dengan dosisnya mampu memberikan dampak negatif terhadap kelestarian ekosistem pertanian. Pemakaian pestisida sintetik dalam jangka waktu yang lama sebagai pengendali hama dapat menyebabkan resistensi hama terhadap pestisida tersebut, terbunuhnya berbagai predator pada ekosistem pertanian, pencemaran lingkungan dan akhirnya kesehatan manusia akan terganggu. Untuk itu diupayakan suatu pengendalian hama dan penyakit secara terpadu yang salah satu komponennya adalah pestisida alami (Oka, 1993).

Pestisida alami adalah pestisida yang bahan aktifnya berasal dari bagian tumbuhan seperti akar, daun, batang atau buah. Bahan-bahan ini diolah menjadi berbagai bentuk, antara lain bahan mentah berbentuk tepung, ekstrak (Anonim 1, 2011). Pestisida alami memiliki beberapa keunggulan yang dapat dikembangkan karena bersifat selektif dan ramah lingkungan. Pengembangan pestisida nabati pada saat ini diarahkan pada pencarian senyawa-senyawa baru yang tidak hanya efektif dalam mengendalikan hama serangga tetapi juga mempunyai aktivitas selektif terhadap satu atau sejumlah serangga pengganggu (Meinwald et al., 1978).

Pestisida alami dapat dibagi ke dalam dua kelompok yaitu kelompok pengendali pertumbuhan Larva (*larva growth regulator*) yang mengubah pertumbuhan, perkembangan, dan reproduksi ulat serta kelompok yang mengubah perilaku ulat yang meliputi feromon, penolak (*repellent*), penarik (*attractant*), antimakan (*antifeedant*), stimulant dan, penolak peletakan telur (*oviposisi*). Feromon dan antimakan dianggap memiliki prospek komersial yang lebih baik (Ruslan *et al.*, 1989).

Senyawa antimakan telah menarik banyak perhatian di kalangan industri pertanian untuk digunakan sebagai alternatif dalam melindungi tanaman pangan karena senyawa ini tidak membunuh, mengusir, atau menjerat tetapi hanya menghambat aktivitas makannya (Tjokronegoro, 1987). Senyawa antimakan didefinisikan sebagai suatu zat apabila diujikan pada serangga akan menghentikan aktivitas makan secara sementara maupun permanen tergantung potensi dari zat tersebut (Miles *et al.*, 1985). Keberadaan dan potensi senyawa antimakan telah dikenal di Amerika Serikat sekitar tahun 1930-an.

Senyawa antimakan banyak ditemukan pada berbagai jenis tumbuhan seperti dari famili Solanaceae. Meliaceae. Piperaceae. Legumineceae, Burseraceae. Astaceae. annonaceae dan sebagainya. Salah satu tumbuhan yang berkembang dengan baik di Indonesia dan berpotensi sebagai pestisida alami adalah Sirsak. Biji sirsak (Annona muricata L.) diketahui mempunyai sifat racun (toksik) yang cukup kuat. Menurut Mulyawati et al., (2010) senyawa aktif dari biji sirsak akan menyerang jaringan syarafsyaraf dalam tubuh serangga mengakibatkan serangga tidak mampu bergerak dan memakan tanaman karena kehilangan nafsu makan, sehingga tubuh serangga uji mengering dan akhirnya mati karena kehilangan energi. Biji sirsak juga sudah banyak digunakan untuk pembasmi hama (Feras, Q., 1999).

Dengan demikian maka pada penelitian ini akan dilakukan pemanfaatan biji sirsak sebagai pestisida alami antimakan untuk mengendalikan ulat *Plutella xylostella* yang dapat merusak tanaman kubis.

MATERI DAN METODE

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji sirsak (*Annona miricata* L.) yang diperoleh di daerah Badung. Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini yaitu akuades, kertas saring, metanol teknis dan p.a, *n*-heksana teknis dan p.a, kloroform KBr, silika GF₂₅₄, plat KLT GF₂₅₄, silika gel₆₀, asam asetat anhidrat, KOH 10%, NaOH 10%, H₂SO₄ pekat, HCl pekat, gelatin, pereaksi Meyer, Wagner, Liebermann-Burchard, Wilstatter, Bate Smith-Metalcalfe, Borntrager.

Peralatan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu: pisau, blender, neraca analitik, corong, gelas ukur, pipet mikro, pipet tetes, batang pengaduk, botol reagen, tabung reaksi, cawan petri, kuas, kain kasa, penguap putar vakum, desikator, seperangkat alat kromatografi kolom, lampu UV 254 nm dan GC-MS.

Cara Kerja

Preparasi Sampel

Biji sirsak (Annona muricata L.) dipisahkan dari daging buahnya, hanya bijinya yang diambil, kemudian dicuci bersih dan dipotong kecil-kecil dan dikeringkan di udara terbuka (tanpa terkena sinar matahari secara langsung). Biji sirsak kering dihancurkan dengan menggunakan blender hingga diperoleh serbuk halus kering dan disimpan di dalam wadah atau toples yang tertutup rapat. Serbuk halus ini selanjutnya digunakan sebagai bahan untuk diekstraksi.

Ekstraksi Senyawa Aktif AntiMakan dari Biji Sirsak

Sebanyak 1800 g serbuk kering biji sirsak dengan cara maserasi menggunakan pelarut n-heksana sampai semua serbuk terendam. Setiap 24 jam ekstrak tersebut disaring dan diganti dengan pelarut yang sama. Proses ekstraksi ini dilakukan sebanyak 3 kali sampai metabolit yang terdapat di dalam ekstrak telah habis. Setelah itu ekstrak n-heksana yang diperoleh disimpan untuk penelitian selanjutnya, sedangkan ampas dikeringkan agar terbebas dari pelarut n-heksana kemudian diekstraksi (maserasi) kembali dengan pelarut metanol. Ektraksi ini dilakukan beberapa kali sampai metabolit habis terekstrak. Ekstrak metanol yang diperoleh kemudian diuapkan pelarutnya dengan menggunakan penguap putar vakum (rotary evaporator) hingga diperoleh ekstrak kental metanol. Ekstrak kental metanol yang diperoleh disimpan untuk penelitian selanjutnya.

Ekstrak kental metanol dilarutkan dalam campuran pelarut metanol-air (7:3) dan diuapkan pelarutnya sehingga tidak mengandung pelarut metanol. Selanjutnya ekstrak dipartisi dengan kloroform menggunakan corong pisah, campuran dikocok dan didiamkan sampai memisah. Lapisan kloroform berada dibagian bawah dan lapisan air berada di bagian atas. Lapisan kloroform dan lapisan air dipisahkan kemudian ditampung, sehingga diperoleh ekstrak kloroform dan air. Ketiga ekstrak (kloroform, n-heksana dan air) kemudian diuapkan dengan menggunakan penguap putar vakum (*rotary evaporator*) diperoleh hasil ekstrak kental kloroform, ekstrak kental *n*-heksana dan ekstrak kental air.

Ekstrak kental *n*-heksana dipisahkan dan dimurnikan dengan metode kromatografi kolom dengan mengunakan eluen *n*-heksana : aseton (4:1). Fraksi hasil pemisahan dengan kromatografi kolom kemudian diuji antimakannya terhadap *plutella xylostella*.

Analisis dengan Kromatografi Gas-Spektroskopi Massa (KG-SM)

Fraksi yang peling aktif selanjutnya dianalisis dengan KG-SM untuk mengetahui komponen golongan senyawa kimia penyusun dari isolat.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi Senyawa Aktif AntiMakan dari Biji Sirsak

Maserasi 1,8 Kg serbuk kering biji sirsak (Annnona muricata L.) menggunakan 10 L n-heksana dan 10 L metanol dilakukan sebanyak 3 kali sampai metabolit yang terdapat di dalam ekstrak telah habis. Sehingga, didapat ekstrak kental metanol yang berwarna coklat kehitaman 46,9249 g dan 94,1967 g ekstrak n-heksana yang berwarna kuning kecoklatan. Ekstrak kental metanol dilarutkan dalam campuran pelarut metanol : air (7:3), kemudian dipartisi dengan klorofom sehingga diperoleh ektrak air dan klorofom.

Pemisahan ekstrak n-heksana dengan kromatografi kolom mengunakan fase gerak campuran *n*-heksana-aseton (4:1).pemisahan n-heksana dengan kromatografi kolom menghasilkan 30 botol eluet, dan eluet yang memiliki pola pemisahan yang sama digabungkan dan diperoleh lima kelompok fraksi, kemudian diuji antimakannya terhadap plutella xylostella. Hasil uji antimakan dari fraksi gabungan dapat dilihat pada Tabel 1 yang menunjukkan bahwa fraksi F_C dibandingkan dengan fraksi-fraksi yang lain. Oleh karena itu fraksi F_C selanjutnya diuji kemurniannya dengan berbagai fase gerak. Hasil uji kemurnian menunjukkan fraksi F_C ini relatif murni dengan memberikan satu noda pada berbagai fese gerak yang digunakan seperti kloroform: n-heksana (1:1), kloroform: metanol (1:1), metanol: n-heksan (1:2), kloroform: nheksana (1:2), kloroform: n-heksana (3:4).

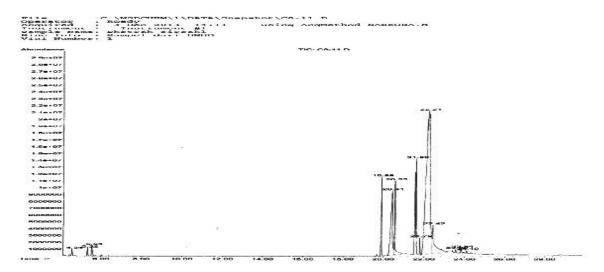
Tabel 1. Hasil uji aktivitas antimakan dari hasil fraksi penggabungan

NO	Fraksi	C	Persen aktivitas		
		(ppm)	Per 1	Per 2	Rata-rata
1	A (1-5)	100	25	30	25
		200	60	40	50
		400	40	44	42
		800	60	15	37,5
		1600	70	55	62,5
2	B (6-7)	100	45	25	35
		200	50	20	35
		400	10	59	34,5
		800	66	55	60,5
		1600	30	60	45
3	C (8-11)	100	100	94	97
		200	96	46	71
		400	84	53	68,5
		800	83	70	76,5
		1600	89	63	76
4	D (12-16)	100	20	60	13,5
		200	90	40	65
		400	100	33	66,5
		800	0	50	25
		1600	8,3	60	34,5
5	E(17-30)	100	20	40	60
		200	35	60	47,5
		400	29	39	34
		800	90	22	56
		1600	70	53	61,5

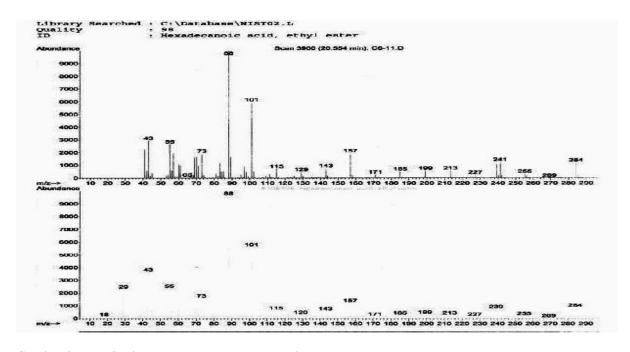
Identifikasi Fraksi F_C

Hasil analisis isolat aktif fraksi C pada Gambar 1 menunjukan bahwa diduga adanya senyawa-senyawa golongan asam lemak berdasarkan database\NISTO2.L dan database\wiley7n.1 hanya 2 puncak dominan yang dapat teridentifikasi dengan baik dimana spektrum massa sampel sesuai dengan data base, waktu retensi (t_R) dan kelimpahan (%) yaitu puncak 1, t_r 20,55 menit (5,31%) dan puncak 2, t_r 21,59 menit (10,21%).

Spektrum massa pada puncak 1 dengan waktu retensi 20,55 menit, pada Gambar 2 yang memiliki ion molekul (M+) pada m/z 284 dan puncakpuncak penggalan pada m/z 269, m/z 255, m/z 241, m/z 227, m/z 213, m/z 199, m/z 185, m/z 171, m/z 157, m/z 143, m/z 129, m/z 115, dan m/z 101 merupakan pola fragmentasi karena adanya pemecahan pada tiap ikatan c-c dan dikenal sebagai pola fragmentasi deret ion C_nH_{2n-1}O₂⁺. Pola fragmentasi ini merupakan pola fragmentasi karakteristik untuk senyawa-senyawa golongan ester rantai panjang (Silverstein, et al., 1991), Berdasarkan pendekatan database\NISTO2.L dan database\wiley7n.1 maka kemungkinan puncak 1 adalah senyawa asam hexadekanoat etil ester dengan rumus molekul yang paling mungkin adalah C₁₈H₃₆O₂ dengan berat molekul 284.



Gambar 1. Kromatogram kromatografi gas isolat aktif fraksi C



Gambar 2. (a). Spektrum massa senyawa puncak 1 (b). Spektrum massa data base senyawa asam etil heksadekanoat.

Pola pemenggalan dari spektrum massa asam etil heksadekanoat pada Tabel 2 menunjukkan adanya pemenggalan gugus propil (m^+ - C_3H_7) pada m/z 241. Adanya pelepasan gugus metilen (M^+ - 14) pada m/z 227 sampai 115 secara berurutan merupakan ciri khas dari hidrokarbon jenuh dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Pola pemenggalan spektrum massa senyawa puncak 1

m/z	Pemenggalan	Penggalan
284(M ⁺)	-	-
269	M^+ - CH_3	$C_{17}H_{33}O_2^{+}$
255	M^{+} - $C_{2}H_{5}$	$C_{16}H_{31}O_2^{+}$
241	\mathbf{M}^{+} - $\mathbf{C}_{3}\mathbf{H}_{7}$	$C_{15}H_{29}O_2^{+}$
227	M^+ - C_4H_9	$C_{14}H_{27}O_2^{+}$
213	$M^{+} - C_5 H_{11}$	$C_{13}H_{25}O_2^{+}$
199	$M^{+} - C_6 H_{13}$	$C_{12}H_{23}O_2^{+}$
185	$M^{+} - C_{7}H_{15}$	$C_{11}H_{21}O_2^{+}$
171	$M^{+} - C_{8}H_{17}$	$C_{10}H_{19}O_2^{+}$
157	$M^{+} - C_{9}H_{19}$	$C_9H_{17}O_{2+}$
143	M^{+} - $C_{10}H_{21}$	$C_8H_{15}O_2^{+}$
129	M^{+} - $C_{11}H_{23}$	$C_7H1_3O_2^{+}$
115	M^{+} - $C_{12}H_{27}$	$C_6H_{11}O_2^{+}$
73	$M^{+} - C_{15}H_{31}$	$C_3H_5O_2^{+}$

Berdasarkan pola pemenggalan dari senyawa yang di tunjukkan oleh database\NISTO2.L dan database\wiley7n.1 maka kemungkinan senyawa puncak 3 adalah senyawa asam etil heksadekanoat dengan rumus molekul $C_{18}H_{36}O_2$ dan memiliki rumus struktur berikut ini.

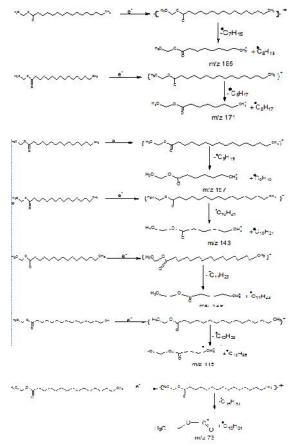
$$H_3C$$

Gambar 3. Struktur molekul asam etil heksadekanoat

Fragmentasi yang terjadi pada senyawa asam etil heksadekanoat, sesuai dengan pola pemenggalan yang dapat diperkirakan seperti pada Gambar 4.

Berdasarkan pola pemenggalan pada Gambar 4, maka diduga senyawa pada puncak 1 identik sama dengan senyawa asam etil heksadekanoat.

Spektrum Puncak 2 dengan waktu retensi 21,59 menit, menghasilkan spektrum massa puncak-puncak penggalan pada m/z 152, 166, dan 180.



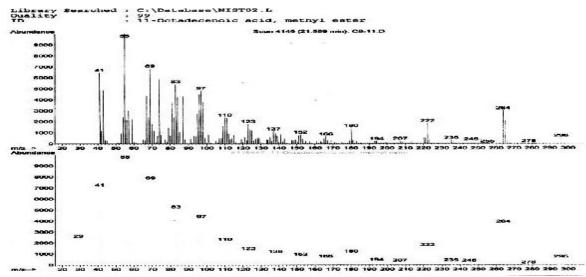
Gambar 4. Pola fragmentasi senyawa asam etil heksadekanoat

Pola fragmentasi ini karena adanya pemecahan pada tiap ikatan c-c dan dikenal sebagai pola fragmentasi deret ion $C_nH_{2n-1}O_2^+$. Pola fragmentasi ini merupakan pola fragmentasi karakteristik untuk senyawa-senyawa golongan ester rantai panjang (silverstein, et, al., 1991). seperti Gambar 5 yang menunjukkan adanya ion molekul (M^+) pada m/z 296 dan berat molekul senyawa puncak 4 adalah sebesar 296. Berat molekul yang genap, dapat menunjukkan bahwa komponen senyawa tidak mengandung atom N atau mengandung jumlah atom N yang genap. Rumus molekul yang paling mungkin adalah $C_{19}H_{36}O_2$.

Pola pemenggalan dari senyawa puncak 4 dengan spektrum massa senyawa asam metil 11-oktadekadinenoat dapat dilihat pada Tabel 3

Tabel 3. Pola pemenggalan spektrum massa senyawa puncak 2

m/z	Pemenggalan	Penggalan
296 (M ⁺)	-	-
222	M^+ - $C_3H_6O_2$	$C_{16}H_{30}O_2^{+}$
180	M^+ - $C_6H_{12}O_2$	$C_{13}H_{24}O_2^{+}$
166	$M^+ - C_7 H_{14} O_2$	$C_{12}H_{22}O_2^{+}$
152	M^{+} - $C_{8}H_{16}O_{2}$	$C_{11}H_{20}O_2^{}$
97	$M^+ - C_{12}H_{23}O_2$	$C_7H_{13}O_2^+$



Gambar 5. (a). Spektrum massa senyawa puncak 2

(b). Spektrum massa data base senyawa asam metil 11-oktadekadinenoat

Berdasarkan pola pemenggalan dari senyawa yang di tunjukan oleh database\NISTO2.L dan database\wiley7n.1 dengan rumus molekul $C_{19}H_{36}O_2$ dan rumus struktur seperti Gambar 6.

Gambar 6. Struktur molekul asam metil 11-oktadekadinenoat

Fragmentasi yang terjadi pada senyawa senyawa asam metil 11-oktadekadinenoat, sesuai dengan pola pemenggalan yang dapat diperkirakan pada Gambar 7.

Gambar 7. Pola fragmentasi senyawa asam metil 11-oktadekadinenoat

Berdasarkan pola pemenggalan diatas, maka diduga senyawa pada puncak 2 identik sama dengan senyawa asam metil 11-oktadekadinenoat.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan dapat disimpilkan sebagai berikut :

- 1. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak kental air, kloroform dan n-heksana dari biji sirsak (*Annona muricata* Linn) bersifat aktif antimakan terhadap ulat *Plutela Xylostella*, dimana ekstrak n-heksana memiliki aktivitas anti-makan sebesar 76,77% pada konsentrasi 0,1% yang relatif lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak kloroform (55,31%) dan air (5,88%).
- 2. Senyawa aktif dari isolat ekstrak n-heksana biji sirsak memiliki aktifitas antimakan 97 % yang diduga merupakan campuran asam lemak. dimana senyawa aktif teridentifikasi dengan baik menggunakan KG-SM berdasarkan database\NISTO2.L dan database\wiley7n.1 adalah asam etil heksadekanoat metil 11dan asam oktadekadinenoat.

Saran

- 1. Perlu dilakukan penelitian dengan menggunakan bioindikator lain selain larva *Plutella xylostella* dalam uji hayati antimakan.
- Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengidentifikasi isolat aktif dengan menggunakan alat instrument lain seperti LC-MS atau LC-NMR sehingga dapat ditetapkan suatu struktur usulan dari isolat aktif tersebut.ve

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu dari pelaksanaan penelitian hingga penerbitan penulisan karya ilmiah ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Djojosumanto, 2008, *Teknik Aplikasi Pestisida Pertanian*, Kanisius, Yogyakarta
- Feras, Q., et al., 1999, Annonaceous acetogenins: Recent Progress, J. Nat. Prod., 62 (3): 504-540
- Herlinda, S., 2004, Ekologi Ulat Daun Kubis, Plutella xylostella L. (Lepidoptera: Plutellidae) Tanaman pada Kubis (Brassica oleracea L.), Prosiding Seminar Lokakarya Nasional dalam Menyambut Hari Pendidikan Nasional, Kerjasama DRD Sumsel dengan Balitbangda Sumsel dan Universitas Sriwijaya, Palembang, 28-29 April 2004, h. 97-107
- Meinwald, J.G.D., Prestwich, K. Nakanishi, and I. Kubo, 1978, Chemical Ecology: Studies from East Africa, Science, 199 (4325): 1167-1173
- 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 Pest Control, Washington DC: American Chemical Society
- Ruslan, K., S. Soetarno, dan S. Sastrodihardjo, 1989, *Insektisida dari Produk Alami*, PAU Bidang Ilmu Hayati, Institut Teknologi Bandung
- Oka, I. N., 1993, Penggunaan, Permasalahan serta Prospek Pestisida Nabati dalam Pengendalian Hama Terpadu, *Prosiding* Seminar Hasil Penelitian Dalam Rangka Pemanfaatan Pestisida Nabati, Bogor 1-2 Desember1993
- Tjokronegoro, R.K., 1987, Penelusuran Senyawa Kandungan Tumbuhan Indonesia Bioaktif Terhadap Serangga, *Desertasi*, Universitas Padjadjaran, Bandung
- Tukimin, S.W., 2006, Peluang Pestisida Nabati Untuk Pengendalian Hama dan Penyakit, Prosiding Lokakarya Nasional Pertanian Organik, Universitas Brawijay, Malang