

**ISOLASI OCOTILLON DARI EKSTRAK ETIL ASETAT KULIT BATANG
Aglaia Elaeagnoide (A.Juss) Benth dan UJI BIOINSEKTISIDA**

**ISOLATION OF OCOTILLONE FROM ETIL ACETATE EKSTRAK OF
Aglaia Elaeagnoidea (A.Juss.) BENTH'S STEM BARK
and BIOINSECTICIDE TEST**

Khalifah Rusdiana* dan Sri Hidayati Syarief
Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Negeri Surabaya
* email: khalivah_063234022@yahoo.com

Abstrak. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan struktur molekul dilakukan dengan metode isolasi dan identifikasi, serta uji bioinsektisida isolat tersebut. Isolasi dimulai dengan ekstraksi serbuk kering kulit batang tumbuhan tersebut dengan pelarut methanol dan dipartisi dengan pelarut etilasetat. Ekstrak etil asetat difraksinasi dengan metode Kromatografi Cair Vacum (KCV), Kromatografi Kolom Grafitasi (KKG), dan dimonitor dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Identifikasi isolat dilakukan melalui spektroskopi UV-Vis, IR, dan GC-MS. Hasilnya dari jenis *aglaia* ini telah ditemukan senyawa triterpen jenis dammaran yaitu 20,24-Epoxy-25-hydroxy-dammaran-3-one (Ocotillon). Uji bioinsektisida dilakukan dengan variasi ekstrak (EAE), isolat (IAE), dan dibandingkan dengan insektisida sintetik (ISM). Variasi konsentrasi untuk ekstrak 0, 20, 40, 80, 160, dan 320 mg/L, sedangkan untuk IAE dan EAE 0, 2, 8, 16, dan 32 mg/L. Hasil LC_{50} untuk 24, 48, dan 72 jam berturut-turut untuk EAE 701,273 mg/L; 556,705 mg/L; dan 492,748 mg/L. IAE 64,1378 mg/L; 43,9271 mg/L; dan 33,3234 mg/L. ISM 58,3098 mg/L; 41,8455 mg/L; dan 34,7747 mg/L.

Kata Kunci : Ocotillon, *Aglaia elaeagnoidea*, Bioinsektisida

Abstract. The purpose of this research was to determined molecule structure by the method of isolation and identification, as well as isolate of bioinsecticide test. Isolation started by extraction dry powder of plant's stem bark by using methanol solvent and partitioned with ethylacetate solvent. Then ethylacetate extract was fractionated by Vacuum Liquid Chromatography (VLC), Gravitational Column Chromatography (GCC) which always monitored by Thin Layer Chromatography (TLC). Identification of isolates was determined by UV-Vis spectroscopy, IR, and GC-MS. Result from *Aglaia* species have been found dammaran type triterpene compound that is 20, 24-Epoxy-25-hydroxy-dammaran-3-one (Ocotillone). Bioinsecticide test conducted by the variation extract (EAE), isolates (IAE), and compared with synthetic insecticides (ISM). Variation of extract concentration were 0, 20, 40, 80, 160, and 320 mg / L, whereas for IAE and EAE were 0, 2, 8, 16, and 32 mg / L. Results of LC_{50} for 24, 48, and 72 hours in a row were EAE 701.273 mg / L; 556.705 mg / L; and 492.748 mg / L. IAE 64.1378 mg / L; 43.9271 mg / L; and 33.3234 mg / L. ISM 58.3098 mg / L; 41.8455 mg / L; and 34.7747 mg / L.

Key words : Ocotillone, *Aglaia elaeagnoidea*, Bioinsecticide

PENDAHULUAN

Aglaia elaeagnoidea (A.Juss.) Benth merupakan salah satu spesies dari famili *Meliaceae*. Pada kulit batang tumbuhan ini telah diisolasi senyawa triterpenoid, lignan,

dan senyawa turunan benzofuran dengan tipe siklopenta tetrahidro[b]benzofuran-2(1Hkarbokilat) [1]. Berdasarkan pendekatan kemotaksonomi tumbuhan, maka kemungkinan tumbuhan tersebut dapat digunakan sebagai bioinsektisida. Isolat kulit

batang tumbuhan *Aglaia elaeagnoidea* (A.Juss.) Benth yang diekstraksi dengan pelarut *n*-heksana mengandung senyawa Bisabolol oksida A dan 3-oxo-25,26,27-trisnor-dimmarano -24,20-lakton. Uji bioinsektisida pada isolatnya didapatkan LC₅₀ 69.29 mg/L yang sangat berpotensi sebagai bioinsektisida [2].

Pada penelitian sebelumnya[2] menggunakan pelarut *n*-heksane yang bersifat nonpolar belum diperoleh senyawa yang murni sehingga di coba dilakukan penelitian dengan menggunakan pelarut etil asetat yang bersifat semi polar dan diharapkan senyawa hasil isolasi yang didapatkan dapat berupa senyawa polar atau non polar. Dan akan dilakukan uji bioinsektisida terhadap ulat grayak (*Spodoptera Litura F.*).

METODE PENELITIAN

Bahan

Beberapa bahan yang digunakan pada penelitian ini: pelarut yang digunakan untuk ekstraksi yaitu pelarut metanol dan etil asetat. Isolasi menggunakan KCV, KKG, dan KLT adalah pelarut metanol, etil asetat, heksane dan kloroform, sedangkan rekristalisasi dan analisis kemurnian menggunakan pelarut metanol p.a. Fasa diam untuk KCV menggunakan Sigel Merck 60 GF₂₅₄, KKG dengan Sigel Merck 60 (230-400 mesh), KLT menggunakan plat aluminium berlapis Sigel Merck Kiesigel 60 F₂₅₄, 0,25 mm dan 0,5 mm (20 x 20 cm). Pereaksi Liembermann-Burchard. Serbuk kulit batang tumbuhan *Aglaia Elaeagnoidea* (A.Juss) Benth. Ulat Grayak (*Spodoptera Litura F.*) instar 3.

Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah: alat-alat gelas (corong pisah, gelas ukur, gelas kimia, pipet tetes, labu ukur), evaporator, spektroskopi UV-Vis, IR, dan GC-MS.

Prosedur Penelitian

Ekstraksi dan Isolasi

Bahan berupa kulit batang tumbuhan *Aglaia Elaeagnoidea* (A.Juss) Benth sebanyak

9 kg diperoleh dari Kebun Raya Bogor. Dikeringkan dan digiling hingga menjadi serbuk. Serbuk kering kulit tumbuhan *Aglaia Elaeagnoidea* (A.Juss) Benth dimaserasi dengan methanol kemudian dipartisi dengan etil asetat dan diperoleh ekstrak kental berwarna etil asetat berwarna coklat kemerahan sebanyak 31,8 gram. 10 gram ekstrak etil asetat ini difraksinasi melalui KCV, eluen yang digunakan yaitu campuran heksane : etil asetat (49:1) dan dihasilkan 20 fraksi. Dari fraksi tersebut dipisahkan berdasarkan analisis KLT dan dihasilkan 3 fraksi utama fraksi gabungan A fraksi1-4, B fraksi 5-13 dan C fraksi 14-20. Fraksi B kemudian difraksinasi melalui KKG dengan perbandingan eluen yang sama heksan : etil asetat (49:1), diperoleh 85 fraksi dimana pada fraksi metanol muncul endapan berwarna kuning pucat. Fraksi metanol dari hasil KKG dilarutkan dengan metanol p.a dan disaring dengan kertas saring, dihasilkan filtrat dan residu. Filtratnya direkristalisasi berulang-ulang, dihasilkan kristal murni berwarna putih kekuningan sebanyak 64,2 mg, isolat ini dinamai *Aglaia_EA1*. Uji karakterisasi berikutnya dilakukan terhadap sampel kristal yaitu uji spektroskopi Uv-Vis, IR, dan GC-MS.

Uji Bioinsektisida

Larutan uji berupa ekstrak etil asetat dibuat dengan variasi konsentrasi 0, 20, 40, 80, 160, dan 320 mg/L dan isolat dengan variasi konsentrasi 0, 2, 4, 8, 16, dan 32 mg/L. Ulat grayak instar 3 dicelupkan ke dalam larutan uji dengan menggunakan pinset yang ujungnya diberi kapas lembut dan dimasukkan ke dalam gelas plastik. Daun jarak kepyar yang sudah dipotong dengan ukuran 3x3 cm dimasukkan ke dalam masing-masing larutan uji selama ± 5 menit. Daun jarak kepyar yang sudah dicelupkan ke dalam larutan uji selama ± 10 menit digangin-anginkan dalam udara terbuka dan dimasukkan ke dalam gelas plastik yang berisi ulat grayak instar 3 sebanyak 15 ekor. Pengamatan dilakukan pada selang waktu 24 jam selama 3 hari setelah pemberian perlakuan daun jarak kepyar dengan variasi konsentrasi larutan uji untuk dihitung jumlah ulat grayak yang mati. Pengulangan sebanyak 4 kali dihitung tingkat mortalitas ulat grayak.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi dan Isolasi

Isolat Aglaia_EA sebanyak 64.2 mg yang diperoleh dari fraksi metanol pada proses kromatografi kolom grafitasi yang berbentuk serbuk berwarna putih kekuningan diuji terlebih dahulu dengan FeCl_3 dan memberikan hasil negatif (warna tidak berubah menjadi ungu). Hal ini menandakan bahwa isolat tersebut bersifat nonfenolik, dilanjutkan dengan uji Liebermann-Burchard menghasilkan warna coklat kemerahan yang menandakan bahwa isolat Aglaia_EA1 merupakan terpenoid.

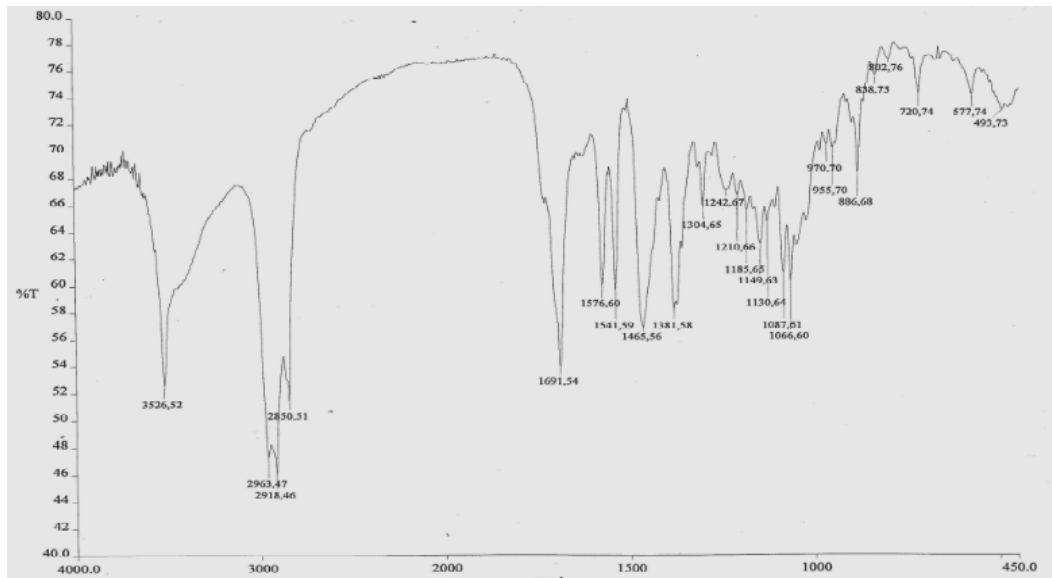
Isolat dimonitor dengan KLT sistem 3 eluen yaitu n-heksane : kloroform (9:1), n-heksane : etil asetat (9:1), dan kloroform : etil asetat (9:1). Pada masing-masing eluen tersebut pada kromatogram mempunyai masing-masing satu noda, dengan Rf berturut-turut 0,12 ; 0,23; 0,85. hal ini menandakan bahwa isolat Aglaia_EA1 cukup murni, dan di dukung pengujian titik leleh didapatkan rentang antara sampel tersebut mulai meleleh dan tepat selesai meleleh sebesar 1°C , hal ini menandakan bahwa isolat tersebut cukup murni.

Penentuan struktur molekul yang menggunakan spektroskopi UV-Vis, IR, dan GC-MS diperoleh hasil seperti pada gambar 1, 2, 3, dan 4 :



Gambar 1. Spektroskopi UV-Vis Isolat Aglaia_EA1

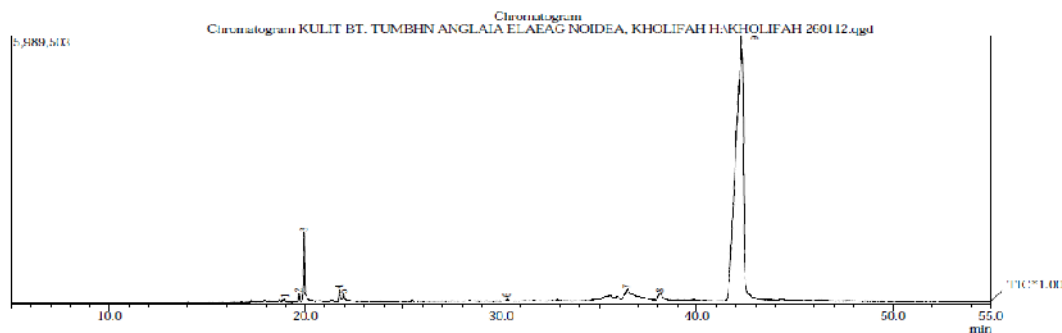
Berdasarkan hasil pengukuran spektroskopi UV-Vis Isolat Aglaia_EA1 dengan pelarut metanol merupakan senyawa triterpenid menunjukkan puncak maksimum pada daerah maks 204,4 nm (pita II) dan 263,8 nm (pita I). Data ini memberikan informasi bahwa struktur isolat didominasi oleh ikatan tunggal () akibat terjadinya transisi elektronik *. [3] Suatu ikatan rangkap eksosiklik menyerap dekat 204 nm, menunjukkan bahwa Isolat Aglaia_EA1 mempunyai struktur ikatan tunggal yang siklik serta adanya suatu ikatan rangkap diluar senyawa siklik tersebut. [4] Daerah serapan UV-Vis yang muncul pada 260-330 nm merupakan adsorpsi dari senyawa terpenoid Hidroksidammaranone. Uji spektroskopi IR ditunjukkan pada gambar 2.



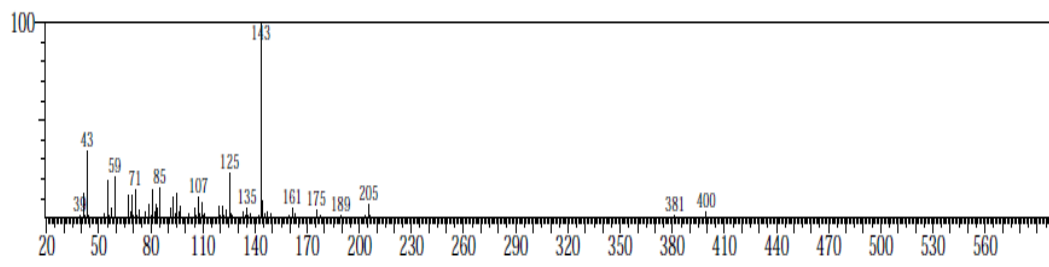
Gambar 2. Spektroskopi IR Senyawa Aglaia_EA1

Berdasarkan hasil pengukuran spektroskopi infra-red (IR) menunjukkan bahwa dalam isolat tersebut mengandung gugus fungsi sebagai berikut [3] OH bebas yang menyerap kuat pada daerah 3650-3580 cm⁻¹. Gugus ulur C=O yang menyerap kuat di daerah 1870-1540 cm⁻¹. Gugus C-O alifatik yang paling khas ialah sebuah pita kuat di daerah 1150-1085 cm⁻¹. Gugus tekuk C-H, Getaran tekuk C-H simetrik di dekat 1375 cm⁻¹ dan tekuk C-H asimetrik di dekat 1450 cm⁻¹. Pita serapan di dekat 1375 cm⁻¹ yang timbul dari tekukan simetrik ikatan C-H gugus metil, mempunyai letak yang sangat

mantap bila gugus metil tersebut terpasang pada sebuah atom karbon lainnya. Kuat pita gugus metil itu lebih besar dibandingkan dengan kuat puncak pita getaran asimetris. Gugus metilena tekuk C-H pita dalam spektum hidrokarbon terjadi di tempat yang hampir tetap yaitu 1465 cm⁻¹. Adanya gugus metilena simetrik yang muncul pada 2853 cm⁻¹, letak pita tersebut tidak akan berubah lebih dari 10 cm⁻¹ pada hidrokarbon alifatik maupun siklik. Gugus-gugus fungsi tersebut sesuai dengan gugus-gugus fungsi yang ada pada senyawa triterpenoid.



Gambar 3. Spektroskopi GC Isolat Aglaia_EA1

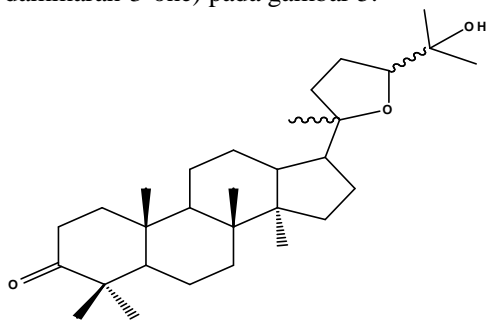


Gambar 4. Spektroskopi MS Isolat Aglaia_EA1

Berdasarkan data spektroskopi GC-MS isolat Aglai_EA1 menunjukkan 9 puncak dimana puncak yang lebih dominan adalah puncak ke 9 dengan persentasi 92,67% senyawa yang mempunyai massa molekul isolat (Mr) 458. Spektum massa pada spektra memberikan fragment m/z 400 (M-58), 381 (M-59-18), 205, 189, 175, 161, 143, 107, 85, 71, 59, 43, dan 39.

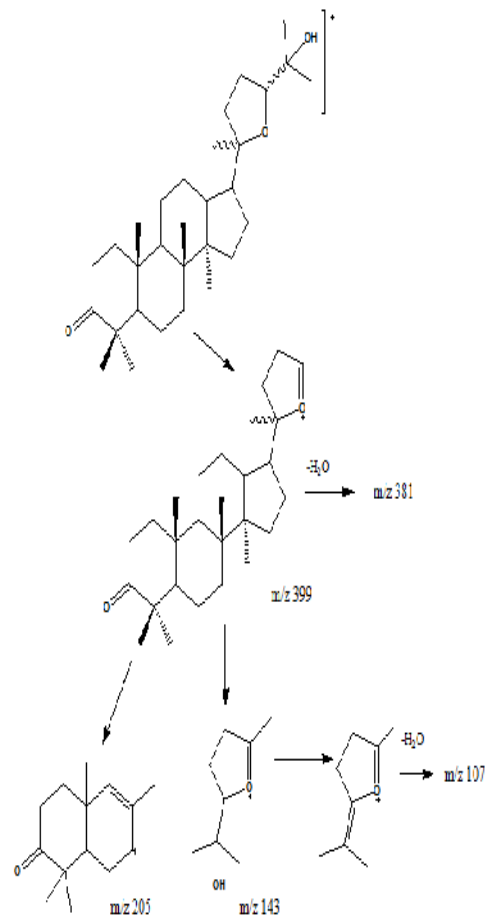
Hasil penelitian Enzell [5]:senyawa ocotillone memberikan informasi nilai struktur pada puncak m/z 443 (M-15), 440 (M-18), 425 (M-15-18), 399 (M-59), 381 (M-59-18), 357, 313, 245, 205, 175, 161, 143, 125, 107, dan 59. Pola fragmentasi puncak utama pada m/z 143 ($C_8H_{15}O_2$) dan puncak ion fragmentasi $M - 59$ diperkirakan bahwa senyawa tersebut mirip dengan ocotillone, turunan dammaran yang berikatan struktur rantai samping.

Senyawa isolat Aglai_EA1 diduga merupakan jenis dari dammaran. Oleh karena pola fragmentasi hasil isolasi mempunyai kesamaan dengan pola fragmentasi triterpenoid dammaranone jenis ocotillone (20,24-Epoxy-25-hydroxy-dammaran-3-one) pada gambar 5.



Gambar5. Senyawa Ocotilon (20,24-Epoxy-25-hydroxy-dammaran-3-one)

Pola pemenggalan kerangka tipe dammaran terjadi pada puncak m/z 205, dan memiliki karakteristik khusus yaitu pada puncak utama spektra m/z 143 (hidroksiisopropil-metil-tetrahidrofuran) pada sisi rantai, serta puncak fragmentasi ion pada m/z 399. Pola fragmentasi digambarkan pada Gambar 6.



Gambar 6. Pola Fragmentasi Senyawa Ocotilon (20,24-Epoxy-25-hydroxy-dammaran-3-one)

Uji Bioinsektisida

Uji bioaktivitas insektisida terhadap serangga uji ulat grayak ini dilakukan dengan 2 metode yaitu metode racun kontak dan racun perut. Metode racun kontak dilakukan pada ulat grayak yang dicelupkan dalam larutan uji ekstrak etil asetat kulit batang tumbuhan *Aglaia elaeagnoide* (EAE), isolat *Aglaia_EA1* kulit batang tumbuhan *Aglaia elaeagnoide* (IAE) dan insektisida sintetik matador (ISM) sedangkan metode racun perut dilakukan dengan cara memberikan daun jarak kepyar yang telah dicelupkan dalam larutan uji EAE, IAE, dan ISM. Larutan uji EAE dibuat dengan konsentrasi 320 mg/L, 160 mg/L, 80 mg/L, 40mg/L dan 20mg/L, sedangkan untuk IAE dan ISM 32 mg/L, 16 mg/L, 8 mg/L, 4mg/L dan 2mg/L.

Pengamatan dilakukan pada rentang waktu 24 jam hingga 72 jam dan dihitung jumlah larva yang mati dalam tiap konsentrasi selama percobaan. Pengamatan dilakukan secara visual terhadap perilaku makan dan gerak ulat grayak yang nampak berbeda dengan kontrol. Pengamatan tersebut dilakukan pada selang waktu 24 jam selama 3 hari setelah pemberian perlakuan daun jarak kepyar dengan variasi konsentrasi larutan (EAE,IAE, dan ISM) dan dihitung jumlah ulat grayak yang mati.

Pada masing-masing perlakuan terhadap ulat grayak mengalami gejala keracunan yang ditandai dengan kehilangan kegesitan, aktivitas makan menurun, warna tubuh menjadi coklat kehitaman, ukuran tubuh menyusut dari ukuran normal, dan akhirnya ulat grayak mati dengan tubuh mengering.

Perbedaan konsentrasi EAE, IAE maupun ISM mempunyai pengaruh yang berbeda-beda terhadap mortalitas ulat grayak. Pada tabel 1 sampai dengan 3 terlihat bahwa konsentrasi EAE, IAE, dan ISM yang semakin tinggi menyebabkan tingkat kematian ulat grayak yang juga semakin tinggi. Berikut tabel hasil kematian ulat grayak setelah perlakuan EAE, IAE, dan ISM.

Hubungan LC_{50} dengan klasifikasi toksisitas relatif suatu bahan kimia dinyatakan sebagai berikut :

Tabel 1. Hubungan antara LD_{50} / LC_{50} dengan kategori toksisitas

Kategori	LD_{50} atau LC_{50}
Supertoksik	5 mg/kg
Sangat toksik	5-50 mg/kg
Toksik	50-500 mg/kg
Toksik sedang	0,5-5 g/kg
Toksik ringan	5-15 g/kg
Praktis tidak ringan	> 15 g/kg

Lu Frank [6]

Uji Bioinsektisida EAE

Tabel 2. Kematian Ulat Grayak dengan perlakuan EAE

Konsentrasi (mg/L)	Jumlah larva total (n)	Jumlah total larva mati setelah perlakuan		
		24 jam	48 jam	72 jam
0	60	0	0	0
20	60	1	2	2
40	60	2	4	5
80	60	3	5	7
160	60	4	7	10
320	60	7	12	18

Persamaan-persamaan probit yang dihasilkan didapat nilai LC_{50} untuk uji bioaktivitas insektisida ekstrak etil asetat kulit batang tumbuhan *Aglaia elaeagnoidea* untuk 24 jam 701,273 mg/L; 48 jam 556,705 mg/L; dan 72 jam 492,748 mg/L.

Uji Bioinsektisida IAE

Tabel 3. Kematian Ulat Grayak dengan perlakuan IAE

Konsentrasi (mg/L)	Jumlah larva total (n)	Jumlah total larva mati setelah perlakuan		
		24 jam	48 jam	72 jam
0	60	0	0	0
2	60	4	6	8
4	60	6	8	10
8	60	8	10	14
16	60	7	13	18
32	60	12	19	26

Dari persamaan-persamaan probit didapatkan (menggunakan minitab 14) nilai LC_{50} untuk uji bioaktivitas insektisida Isolat *Aglaia_EA1* hasil isolasi dari kulit batang tumbuhan *Aglaia elaeagnoidea* untuk 24

jam 64,1378 mg/L; 48 jam 43,9271 mg/L; dan 72 jam 33,3234 mg/L.

Uji Bioinsektisida ISM

Tabel 4. Kematian Ulat Grayak dengan perlakuan ISM

Konsentrasi (mg/L)	Jumlah larva total (n)	Jumlah total larva mati setelah perlakuan		
		24 jam	48 jam	72 jam
0	60	0	0	0
2	60	3	6	8
4	60	6	7	11
8	60	7	10	13
16	60	10	13	15
32	60	12	20	26

Dari persamaan-persamaan probit yang dihasilkan didapat nilai LC_{50} untuk uji bioaktivitas insektisida ISM untuk 24 jam 58,3098 mg/L; 48 jam 41,8455 mg/L; dan 72 jam 34,7747 mg/L.

Ketiga pengujian bioaktivitas insektisida terhadap ulat grayak, nilai LC_{50} untuk masing-masing zat bioaktif (EAE, IAE, dan ISM) disajikan dalam tabel berikut:

Tabel 5. Perbandingan Nilai LC_{50} EAE, IAE, dan ISM

Pengamatan (jam)	LC_{50} (mg/L)		
	EAE	IAE	ISM
24	701,273	64,1378	58,3098
48	556,705	43,9271	41,8455
72	492,748	33,3234	34,7747

Tabel 5 menunjukkan bahwa Insektisida EAE, IAE dan ISM semakin toksik (dilihat dari tabel 1) dan efektif untuk perlakuan waktu yang lebih lama. Isolat *Aglaia_EA1* dengan ISM (Insektisida Sintetik Matador) sama-sama efektif mematikan ulat grayak dilihat dari LC_{50} dibandingkan dengan Ekstrak Etil Asetat *Aglaia Elaeagnoidea*

KESIMPULAN

Karakteristik dari isolat yang dihasilkan adalah isolat memberikan hasil negatif terhadap uji $FeCl_3$, positif

triterpenoid pada uji Liebermann-Burchard, memiliki titik leleh 114-115 °C, dan berdasarkan hasil GC-MS diketahui bahwa isolat mengandung senyawa 20,24-Epoxy-25-hydroxy-dammaran-3-one.

Uji Bioinsektisida EAE, IAE dan ISM semakin toksik dan efektif untuk perlakuan waktu yang lebih lama. Isolat *Aglaia_EA1* dengan ISM (Insektisida Sintetik Matador) sama-sama lebih efektif sebagai insektisida untuk mematikan ulat grayak dilihat dari LC_{50} dibandingkan dengan Ekstrak Etil Asetat.

DAFTAR PUSTAKA

- Fuzzati, N., Dyatmiko, W., Rahman, A., Achmad, F., & Hostettman. 1996. Triterpenoids, lignans and a benzofuran derivatives from the bark of *Aglaia elaeagnoidea*. *Phytochemistry*, 42 (5), 1395 – 1398.
- Septi W, Dita dan Tukiran. 2011. Uji Aktivitas Bioinsektisida Isolat Hasil Isolasi dari Ekstrak n-heksana Kulit Batang Tumbuhan *Aglaia Elaeagnoidea* (A.Juss) Benth (Meliaceae). Prosiding Seminar Nasional Kimia Unesa Surabaya 13 Februari 2011.
- Silverstein, Bassler dan Morrill. 1984. *Penyidikan Spektrometrik Senyawa Organik*. Penerjemah Hartomo dan Anny Victor Purba. Edisi keempat. Jakarta: Erlangga.
- Van der Doelen GA and Boon JJ. Artificial ageing of varnishtriterpenoids in solution. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 2000; 134: 45–57
- Enzell, C.R and Inger Walber. 1970. 20R, 24 -Ocotillone, a Triterpenoid from Commercial Tolu Balsam. *Short Communication Acta Chem.Scand.* 25 (1971) No.1.
- Negara, Abdi. 2003. Penggunaan Analisis Probit untuk Pendugaan Tingkat Kepekaan Populasi *Spodoptera exigua* terhadap Deltrametrin Di Daerah Istimewa Yogyakarta. Informatika Pertanian. Volume 12. <http://www.litbang.deptan.go.id/warta-ip/pdf-file/abdinegara-12.pdf> (Diakses pada tanggal 2 September 2010).