



PROSIDING

SEMINAR NASIONAL KIMIA DAN PENDIDIKAN KIMIA III

"Teori dan Aplikasi Sains dalam Isu Globalisasi Lingkungan, Profesionalisasi Pembelajaran dan Kewirausahaan"

Program Studi Pendidikan Kimia Jurusan PMIPA FKIP UNS

Surakarta, 7 Mei 2011



MAKALAH PENDAMPING

KIMIA ORGANIK
(Kode : E-01)

ISBN : 978-979-1533-85-0

PEMANFAATAN EKSTRAK DAUN TEMBAKAU DAN DAUN SELASIH SEBAGAI INSECT OVIPOSITING REPELLENT TERHADAP LALAT BUAH *Bactrocera* *carambolae*

Deni Pranowo¹, Teguh Apriyanto¹, Tutik Dwi Wahyuningsih¹, Suputa²

¹Jurusan Kimia FMIPA Universitas Gadjah Mada, Sekip Utara Yogyakarta

²Jurusan Ilmu Hama dan Penyakit Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Jl. Flora No. 1
Bulaksumur, Yogyakarta

Keperluan korespondensi, tel/fax : 0274-545188, email: maspranowo@ugm.ac.id

Abstrak

Telah dilakukan studi pemanfaatan ekstrak daun tembakau (*Nicotiana tabacum*) dan daun selasih (*Ocimum basilicum*) sebagai *Insect Ovipositing Repellent* (IOR) terhadap lalat buah hama yaitu *Bactrocera carambolae*. Daun tembakau dan daun selasih telah diketahui dapat dimanfaatkan sebagai biopestisida. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah ekstrak daun tembakau dan daun selasih dapat digunakan sebagai IOR. Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Selanjutnya ekstrak etanol dipartisi berturut-turut dengan n-heksana, kloroform, dan etil asetat. Uji repelensi dilakukan menggunakan lalat buah *B. carambolae* sebagai model. Ekstrak yang memberikan hasil positif IOR diuji fitokimia dengan pereaksi Liebermann-Burchard untuk mengetahui keberadaan senyawa terpena. Ekstrak yang mengandung terpena dipisahkan menggunakan kromatografi lapis tipis preparatif (KLTP). Fraksi yang memberikan hasil positif selanjutnya diuji fitokimia dan dianalisis dengan GC-MS. Hasil ekstraksi 100 g daun tembakau dan daun selasih berturut-turut diperoleh 14,83 g dan 15,14 g ekstrak etanol. Hasil partisi dengan n-heksana, kloroform dan etil asetat berturut-turut diperoleh 3,30 g, 3,07 g, dan 0,51 g. Sedangkan partisi terhadap ekstrak daun selasih dengan pelarut yang sama berturut-turut dihasilkan 3,89 g; 4,18 g; dan 0,43 g. Ekstrak n-heksana tembakau dan ekstrak kloroform selasih memberikan hasil positif terhadap uji repelensi dan mengandung senyawa golongan terpena. Terhadap kedua ekstrak tersebut dilakukan pemisahan menggunakan KLTP dengan pelarut kloroform:n-heksana (9:1). Fraksi-fraksi KLTP yang positif uji repelensi dan uji fitokimia golongan senyawa terpena adalah fraksi 1, 2, 3, 7, 9, dan 10 ekstrak n-heksana tembakau serta fraksi 1, 2, dan 8 ekstrak kloroform selasih. Berdasarkan hasil identifikasi dengan GC-MS diduga senyawa golongan terpena yang berperan sebagai *insect ovipositing repellent* adalah 2,6,10-trimetil-14-etilen-14-pentadekena; 6,10,14-trimetil-2-pentadekanon; karyofilen oksida; 2,6,10-trimetil-5,9,13-pentadekatrien-2-on; patchouli alkohol; dan sitronellal.

Kata kunci: tembakau, selasih, insect ovipositing repellent, *B. Carambolae*..

PENDAHULUAN

Lalat buah hama (Diptera tephritidae) merupakan salah satu hama penting tanaman hortikultura yang saat ini menjadi isu nasional dan menjadi faktor pembatas perdagangan (*trade barrier*). Hama ini telah tersebar hampir di semua kawasan Asia Pasifik [1]. Di kawasan ini berbagai macam tanaman inang lalat buah dibudidayakan termasuk Indonesia. Didukung keadaan iklim dan ketersediaan inang tersebut, menjadikan Asia

Pasifik sebagai tempat yang sesuai untuk berkembangnya hama ini. Lalat buah merupakan serangga yang mudah dan cepat berkembang biak, serta mudah berpindah tempat (*mobile insect*), yang penyebarannya secara tidak langsung dibantu oleh manusia. Perdagangan buah antar negara (ekspor-impor) maupun antar daerah di Indonesia mempunyai potensi besar sebagai media perpindahan lalat buah hama dari suatu tempat ke tempat yang lain [2].

Di Indonesia selama ini dilaporkan ada 66 spesies lalat buah. Namun, hasil survei yang telah dilaksanakan di pulau Jawa dan Kalimantan, melalui kerjasama dengan *Australian Centre of International Agriculture Research (ACIAR)* terdapat 26 spesies lalat buah. Diantara 26 spesies tersebut, 7 diantaranya bersifat hama. Diantara spesies itu, yang terkenal adalah *Bactrocera* spp. yang sasaran utama serangannya antara lain belimbing manis, jambu air, jambu biji (jambu Bangkok), mangga, nangka, semangka, melon, dan cabai [3].

Kerusakan buah terjadi akibat pembusukan yang disebabkan oleh bakteri *Escherichia coli* yang berasosiasi dengan lalat buah betina [4]. Bakteri *E. coli* hidup pada dinding saluran telur [5], tembolok, dan usus lalat [6]. Selain kerusakan yang diakibatkan oleh aktivitas bakteri, larva juga merusak daging buah yang menggunakannya sebagai sumber makanan. Akibatnya buah tidak layak konsumsi dan tidak layak jual. Di Indonesia serangan lalat buah mampu menurunkan pendapatan petani hingga 100% pada musim penghujan [7,8].

Pengendalian hama yang paling utama dilakukan petani adalah penggunaan pestisida sintetik. Walaupun mudah diaplikasikan dan hasilnya dapat cepat diketahui, penggunaan pestisida sintetik bukanlah merupakan suatu jawaban yang tepat. Selain karena tidak mengenai sasaran, juga tidak ramah lingkungan. Pestisida menyebabkan resistensi terhadap hama, dan seringkali meninggalkan residu pestisida pada komoditas yang dilindungi [9]. Selain itu, pestisida sintesis hanya akan mematikan lalat buah dewasa sedangkan lalat buah yang masih berupa larva atau pupa akan tetap hidup. Dalam era perdagangan bebas dimana ekolabeling merupakan syarat agar

produk diterima pasar, maka penggunaan insektisida harus ditekan serendah mungkin.

Pengendalian hama dengan memanfaatkan senyawa yang bersifat *repellent* dengan bahan dari tumbuhan sangat baik karena senyawa *repellent* ini sifatnya tidak membunuh dan sangat aman bagi hewan bukan sasaran (musuh alami hama). Berbagai penelitian tentang *Insect Ovipositing Repellent (IOR)* telah dilakukan oleh beberapa peneliti sebelumnya. Mehra dan Hiradhar [10] melaporkan bahwa ekstrak aseton dari *Cuscuta hyaline* Roth. efektif sebagai IOR terhadap *C. quinquemaculatus* pada konsentrasi 80 ppm. Menurut Tawatsin *et al.* [11] minyak atsiri yang berasal dari *Curcuma longa*, *Zingiber officinale*, *Vitex trifolia*, *Melaleuca cajuputi*, *Hedychium coronarium*, *Psidium guajava*, dan *Houttuynia cordata* berpotensi besar sebagai IOR terhadap *Aedes aegypti* dengan persentase repelensi sebesar 85 - 94,7%. Pengaruh formulasi *Neem (Azadirachta indica* A. Juss) pada konsentrasi 600; 300; 150; 75; 37,5; dan 18,7 ppm dapat menolak peletakan telur lalat buah *Bactrocera Zonata* (Saunders) (Diptera: Tephritidae) [12].

Tanaman yang telah diketahui mengandung bahan kimia yang dapat digunakan sebagai pestisida nabati adalah tembakau (*Nicotiana tabacum*) dan selasih (*Ocimum basilicum*), namun belum diketahui apakah dapat digunakan sebagai IOR terhadap lalat buah. Kandungan alkaloid yaitu nikotin yang terdapat di daun tembakau dapat digunakan sebagai insektisida. Alkaloid nikotin, nikotin sulfat, dan senyawa nikotin lainnya digunakan sebagai racun kontak, fumigasi, dan racun perut. Insektisida ini diperdagangkan sebagai *Black Leaf 40^R* mengandung 40% nikotin untuk mengendalikan serangga yang tubuhnya lunak [13]. Prajapati *et al.* [14] melaporkan bahwa minyak atsiri dari daun selasih dapat digunakan sebagai insektisida, penolak peletakan telur, dan penolak

gigitan *Anopheles stephensi*, *A. aegypti*, dan *C. quinquefasciatus*.

Melalui penelitian ini diperoleh ekstrak dari daun tembakau dan daun selasih yang dapat digunakan sebagai IOR terhadap lalat buah *Bactrocera carambolae* serta mengidentifikasi senyawa aktifnya sehingga dapat dimanfaatkan oleh petani Indonesia sebagai pestisida nabati pengganti pestisida sintetik dalam menanggulangi permasalahan lalat buah hama.

PROSEDUR PERCOBAAN

Preparasi sampel

Daun tembakau dan daun selasih diperoleh dari daerah Sabrang Wetan, Wukirsari, Cangkringan, Sleman, Yogya-karta. Daun dipotong kecil-kecil kemudian dikering-anginkan selama 2 hari. Sampel kering selanjutnya diblender sampai menjadi serbuk.

Ekstraksi sampel

Serbuk sampel sebanyak 100 g diekstraksi dengan 250 mL etanol 96% selama 24 jam dengan metode maserasi. Maserasi dilakukan dua kali sampai komponen pada sampel terekstraksi sempurna. Ekstrak selanjutnya diuapkan pelarutnya dengan evaporator Buchii dan ditimbang. Selanjutnya ekstrak etanol dilarutkan dalam 100 mL etanol-air (7:3). Ekstrak etanol-air kemudian dipartisi dengan n-heksana (50 mL x 3) sehingga diperoleh ekstrak etanol-air dan ekstrak n-heksana. Ekstrak etanol-air diuapkan sampai semua etanol habis menguap, kemudian ekstrak air yang tersisa dipartisi berturut-turut dengan kloroform (50 mL x 3) dan etil asetat (50 mL x 3). Ekstrak yang diperoleh yaitu ekstrak n-heksana, ekstrak kloroform, dan ekstrak etil asetat.

Uji peneluran (*oviposisi*)

Uji peneluran ini dilakukan di Laboratorium Entomologi Dasar, Jurusan Hama dan Penyakit

Tumbuhan, Fakultas Pertanian UGM, Yogyakarta. Uji peneluran bertujuan untuk mengetahui kemampuan lalat buah bertelur pada tempat peneluran buatan yang terbuat dari gelas air mineral. Pengujian ini dilakukan dengan menggunakan tiga ekor lalat buah betina yang siap untuk meletakkan telur. Serangga uji dimasukkan dalam kotak peneluran yang berukuran panjang 29 cm, lebar 9 cm, dan tinggi 8 cm. Pada kedua sisi yang berseberangan dipasang gelas air mineral yang telah diberi lubang-lubang kecil dengan jarum sebagai tempat peneluran. Kedua gelas plastik dioleskan akuades dan busa dengan ukuran panjang 5,5 cm, lebar 3,5 cm, dan tinggi 4 cm yang telah dibasahi dengan akuades dimasukkan ke dalam gelas air mineral tersebut. Di bagian atas kotak peneluran juga diberi busa yang telah dibasahi dengan akuades, sedangkan di dalam kotak peneluran, ditaruh cawan petri yang berisi gula pasir dan yeast sebagai makanan lalat buah. Pengujian ini dilakukan dengan 5 kali ulangan. Pengamatan dilakukan dengan cara menghitung jumlah telur

lalat buah setiap hari selama 12 hari.

Uji potensi ekstrak sebagai IOR

Uji repelensi merupakan uji kualitatif yang digunakan untuk mengetahui potensi ekstrak sebagai IOR terhadap lalat buah *B. carambolae*. Tiga ekor lalat buah betina dimasukkan ke dalam kandang yang sama dengan pada uji peneluran. Hanya saja satu gelas akuades yang digunakan diolesi air sebagai kontrol dan gelas yang lain diolesi dengan sampel yang diuji potensinya IOR-nya. Pengujian ini dilakukan dengan 5 kali ulangan. Pengamatan dilakukan dengan cara menghitung jumlah telur lalat buah setiap hari selama 12 hari.

Uji fitokimia golongan senyawa terpena pada ekstrak

Terhadap ekstrak yang positif IOR dilakukan uji fitokimia golongan senyawa terpena. Uji fitokimia

golongan senyawa terpena dilakukan dengan pereaksi Liebermann-Burchard, yaitu ekstrak dimasukkan sedikit dalam tabung reaksi kecil, lalu dikocok dengan sedikit dietil eter. Lapisan dietil eter diambil lalu diteteskan pada plat tetes dan dibiarkan sampai kering. Setelah kering, ditambahkan dua tetes asam asetat anhidrat dan satu tetes asam sulfat pekat. Apabila terbentuk warna oranye, merah, atau kuning berarti positif terpena, tetapi apabila terbentuk warna hijau berarti positif steroid.

Pemisahan dengan Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP)

Pemilihan eluen dengan metode KLT

Pemilihan eluen dilakukan dengan cara memodifikasi berbagai campuran eluen. Plat KLT dengan ukuran 7x2 cm diberi garis batas atas dan bawah masing-masing sebesar 1 cm. Ekstrak yang positif terpena dan positif sebagai IOR ditotolkan pada plat KLT. Plat KLT tersebut kemudian dimasukkan ke dalam bejana pengembang yang telah jenuh dengan uap eluen, kemudian dielusi dan selanjutnya diamati di bawah lampu UV pada panjang gelombang 254 dan 366 nm.

Pemisahan dengan metode KLTP

Ekstrak yang positif terpena dan positif sebagai IOR dilarutkan dengan sedikit pelarut kemudian ditotolkan memanjang pada plat KLTP yang telah diberi batas kemudian dibiarkan selama beberapa saat agar pelarut menguap. Selanjutnya plat KLTP dimasukkan ke dalam bejana pengembang hingga eluen mencapai garis batas atas. Setelah dikeringkan plat KLTP diamati di bawah lampu UV. Fraksi yang teramati dikerok dengan dan digunakan untuk uji IOR. Dengan prosedur sama dengan prosedur uji IOR. Terhadap fraksi-fraksi hasil pemisahan dengan KLTP dilakukan uji fitokimia golongan senyawa terpena dengan prosedur yang sama dengan

sebelumnya. Fraksi-fraksi yang positif terpena kemudian diuji potensinya sebagai IOR.

Analisis menggunakan GC-MS

Fraksi-fraksi yang positif sebagai IOR dianalisis dengan GC-MS Shimadzu QP2010S untuk mengetahui struktur kimia senyawa yang terkandung di dalamnya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Preparasi Sampel

Daun tembakau dan daun selasih dipotong kecil-kecil kemudian dikeringkan pada suhu kamar dengan cara diangin-anginkan. Proses pengeringan bertujuan untuk menghilangkan kadar air sehingga ekstraksi dapat lebih optimal. Setelah kering sampel dibuat serbuk agar luas permukaan meningkat, semakin besar luas permukaan maka semakin besar pula kontak antara sampel dengan pelarut sehingga zat yang terekstrak pun akan semakin banyak. Keadaan serbuk kering juga dimaksudkan agar bahan dapat disimpan lebih lama dan untuk mencegah kerusakan atau perubahan kandungan kimia oleh bakteri dan jamur.

Ekstraksi Sampel

Serbuk sampel diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Maserasi merupakan metode salah satu metode ekstraksi yang banyak digunakan dalam mengisolasi bahan alam. Maserasi sampel dilakukan dengan menggunakan pelarut etanol karena sifatnya yang mampu melarutkan hampir semua zat, baik yang bersifat polar, semi polar, maupun yang non polar serta kemampuannya untuk mengendapkan protein dan menghambat kerja enzim sehingga dapat menghindari proses hidrolisis dan oksidasi [15].

Metode ekstraksi dengan maserasi relatif aman digunakan untuk mengekstrak senyawa-senyawa yang rentan terhadap pemanasan. Pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Sebagai

pengekstrak, etanol memiliki kemampuan untuk merusak membran sel tanaman, menembus membran tersebut dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif yang larut dalam etanol dapat terekstrak, kemudian dapat keluar dari sel disebabkan adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel. Peristiwa tersebut berulang hingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar dan di dalam sel. Ketika keseimbangan konsentrasi tercapai maka proses ekstraksi akan berhenti. Proses pengocokan selama maserasi dimaksudkan untuk menjaga gradien konsentrasi antara pelarut dan larutan di dalam sel sehingga proses ekstraksi akan terus berlangsung [16].

Ekstrak etanol hasil maserasi selanjutnya dievaporasi menghasilkan ekstrak kental etanol tembakau dan ekstrak kental selasih. Masing-masing ekstrak kental etanol ini kemudian dilarutkan dengan 100 mL etanol-air (7:3) dan dipartisi dengan n-heksana (50 mL x 3). Penambahan pelarut etanol-air ini bertujuan agar proses pengekstrakan dapat terpisah dengan sempurna. Pada proses ini, senyawa non polar dari tembakau dan selasih dapat terekstrak ke dalam n-heksana sesuai prinsip *like dissolve like*.

Ekstrak etanol-air selanjutnya dievaporasi. Hal ini bertujuan untuk memudahkan ekstraksi saat dipartisi dengan kloroform karena kloroform memiliki polaritas cukup dekat dengan etanol sehingga kemampuan kloroform untuk mengekstraksi memerlukan waktu yang sangat lama. Ekstrak air yang diperoleh kemudian dipartisi dengan pelarut kloroform (50 mL x3) dan etil asetat (50 mL x 3). Pada partisi dengan pelarut kloroform ini, senyawa yang bersifat semi polar diharapkan dapat terekstrak ke dalam kloroform sedangkan partisi dengan pelarut etil asetat bertujuan agar senyawa yang bersifat polar

dapat terekstrak. Ekstrak kemudian dievaporasi hingga diperoleh ekstrak n-heksana, ekstrak kloroform, dan ekstrak etil asetat. Selanjutnya ekstrak yang diperoleh diuji repelensinya terhadap lalat buah.

Tabel 1 menunjukkan bahwa ekstrak n-heksana tembakau memiliki rendemen yang paling banyak dibandingkan dengan ekstrak kloroform dan ekstrak etil asetat. **Tabel 2** ekstrak yang paling banyak diperoleh adalah ekstrak kloroform selasih. Hal ini karena pada daun tembakau komponen utamanya adalah senyawa-senyawa yang bersifat non polar dan pada daun selasih komponen utamanya adalah senyawa-senyawa yang bersifat semi polar.

Uji Peneluran (*Oviposis*)

Uji peneluran merupakan uji kuantitatif yang bertujuan untuk mengetahui kemampuan lalat buah bertelur pada tempat peneluran buatan yang terbuat dari gelas air mineral. Lalat buah yang siap untuk diujikan adalah lalat buah yang berumur 13 hari setelah muncul dari pupa atau yang sudah dewasa dan siap meletakkan telur. Uji ini dilakukan selama 12 hari karena siklus hidup lalat buah di daerah tropis hanya sekitar 25 hari.

Pada uji ini digunakan kandang seperti pada **Gambar 1**. Gelas plastik sebagai tempat untuk meletakkan telur. Sebagian sisi gelas plastik dilubangi dengan teratur. Sedangkan untuk menjaga kelembaban pada gelas plastik, di dalamnya diletakkan sebuah gabus basah karena lalat buah cenderung lebih suka bertelur di tempat yang lembab. Peletakan sisi gelas plastik yang dilubangi harus membelakangi jendela karena lalat buah meletakkan telur pada tempat yang tersembunyi dan tidak terkena sinar matahari secara langsung [17].

Pengamatan dilakukan pada malam hari dan dilakukan setiap hari selama 12 hari dengan cara menghitung banyaknya telur pada gelas air mineral.

Pengujian dilakukan sebanyak 5 ulangan dan hasil uji peneluran disajikan pada **Gambar 2**.

Gambar 2 menunjukkan bahwa rata-rata jumlah telur paling banyak yang diletakkan oleh lalat buah *B. carambolae* terdapat pada hari keempat dengan rata-rata jumlah telur sebanyak 40,4 dan jumlah telur paling sedikit terdapat pada hari pertama dengan rata-rata jumlah telur sebanyak 0,6. Pada hari pertama rata-rata jumlah telur yang diletakkan oleh lalat buah sangat sedikit, hal ini kemungkinan karena lalat buah masih menyesuaikan dengan kotak uji. Dalam [18] dilaporkan bahwa satu ekor lalat buah betina mampu meletakkan telur pada buah sebanyak 1-10 butir dan dalam satu hari mampu meletakkan telur sampai 40 butir, sehingga dimungkinkan dalam setiap kotak uji akan terdapat sekitar 120 butir telur setiap harinya. Namun hal tersebut tidak terjadi pada uji ini dikarenakan berbagai hal.

Uji Potensi Ekstrak sebagai IOR

Uji potensi ekstrak sebagai IOR dilakukan terhadap lalat buah betina *B. Carambolae*. Uji ini dilakukan untuk mengetahui apakah ekstrak daun tembakau dan ekstrak daun selasih dapat digunakan sebagai IOR terhadap lalat buah *B. carambolae*.

Pada uji ini juga digunakan kandang seperti pada **Gambar 1**. Pada kandang digunakan dua gelas plastik yang diletakkan pada kedua sisi kandang. Sisi yang pertama diperlakukan sebagai kontrol dengan mengolesinya dengan akuades sedangkan pada sisi yang lain digunakan sebagai perlakuan yang dioleskan dengan ekstrak yang diperoleh. Untuk menjaga agar bau dari sampel tetap menyengat, maka setiap tiga hari sekali gelas plastik perlakuan diolesi kembali dengan ekstrak sedangkan untuk kontrol diolesi dengan akuades setiap harinya. Masing-masing pengujian dilakukan sebanyak 5 ulangan untuk setiap ekstrak. Hasil uji repelensi ekstrak daun

tembakau dan ekstrak daun selasih disajikan pada **Gambar 3** sampai **8**.

Gambar 3 sampai **5** menunjukkan bahwa hampir semua telur yang diletakkan oleh lalat buah pada control. Berdasarkan pengamatan secara visual hal ini mengindikasikan bahwa ekstrak n-heksana, ekstrak kloroform, dan ekstrak etil asetat dari daun tembakau dapat digunakan sebagai IOR terhadap lalat buah *B. carambolae*. Uji secara statistik dilakukan untuk lebih memastikan apakah rerata jumlah telur pada kontrol dan perlakuan berbeda secara signifikan dan juga apakah rerata jumlah telur pada kontrol lebih besar daripada rerata jumlah telur pada perlakuan.

Gambar 7 dan **8** memperlihatkan bahwa ekstrak kloroform dan ekstrak etil asetat dari daun selasih bersifat sebagai IOR, sedangkan untuk **Gambar 6** kesimpulan baru dapat ditentukan setelah dilakukan uji statistik dengan uji (sign test). Uji statistik juga dilakukan terhadap ekstrak kloroform dan ekstrak etil asetat untuk lebih memastikan apakah antara rerata jumlah telur pada kontrol dan perlakuan berbeda secara signifikan dan juga apakah rerata jumlah telur pada kontrol lebih besar daripada rerata jumlah telur pada perlakuan.

Uji Fitokimia Golongan Senyawa Terpena pada Ekstrak

Sebagian besar aktivitas repelensi terhadap spesies-spesies dari ordo Diptera dipengaruhi oleh adanya monoterpena dan seskuiterpena. Beberapa monoterpena seperti α -pinena, sineol, eugenol, limonena, terpinolena, citronellol, citronellal, kamfor, dan timol pada beberapa literatur dilaporkan memiliki aktivitas repelensi terhadap nyamuk [19, 20, 21, 22] β -karyofilen yang merupakan seskuiterpena juga dilaporkan memiliki aktivitas repelensi yang kuat terhadap *Aedes aegypti* [23]. Meskipun pada umumnya aktivitas repelensi dipengaruhi oleh adanya monoterpena dan

seskuiterpena, [24] melaporkan bahwa fitol, suatu diterpena, juga memiliki aktivitas repelensi terhadap *Anopheles gambiae*.

Beberapa peneliti menyatakan bahwa terpena yang mengandung 2 gugus fungsi memiliki aktivitas biologis sebagai repelen. Sebanyak 20 terpena sintesis yang mengandung 2 gugus fungsi (muatan negatif yang berasal dari gugus fungsi ester atau eter dan muatan positif yang berasal dari gugus alkil) diduga memiliki aktivitas repelensi [25]. Model komputasional menyatakan bahwa muatan positif lebih disukai untuk interaksi-interaksi dengan suatu reseptor [26]. Gugus-gugus elektrofilik suatu senyawa alam memiliki besar muatan positif yang karakteristik sehingga interaksi-interaksi repelen-reseptor sebagian besar dihubungkan dengan interaksi-interaksi elektrofilik [27]. Model komputasional yang dikembangkan [26] menunjukkan bahwa momen dipol dan titik didih suatu molekul juga berhubungan erat dengan aktivitas repelensi.

Uji fitokimia golongan senyawa terpena ini dilakukan menggunakan pereaksi Liebermann-Burchard. Jika ekstrak memberikan perubahan warna menjadi kuning, oranye atau merah setelah direaksikan dengan pereaksi Liebermann-Burchard maka ekstrak tersebut positif mengandung terpena, sedangkan jika ekstrak memberikan perubahan warna menjadi hijau maka ekstrak tersebut positif mengandung steroid. Hasil uji fitokimia golongan senyawa terpena disajikan dalam **Tabel 3** dan **4**.

Berdasarkan **Tabel 3** dan **4** diketahui bahwa ekstrak n-heksana tembakau dan ekstrak kloroform selasih positif mengandung terpena. Ekstrak n-heksana tembakau memberikan warna oranye kekuningan dan ekstrak memberikan warna merah tua setelah ekstrak direaksikan dengan pereaksi Liebermann-Burchard. Oleh

karena itu, ekstrak n-heksana tembakau dan ekstrak kloroform selasih selanjutnya dipisahkan untuk mengetahui golongan senyawa aktif yang berperan sebagai IOR terhadap lalat buah *B. carambolae*. Sedangkan pada ekstrak kloroform tembakau dan ekstrak n-heksana selasih tidak mengandung golongan senyawa terpena. Ekstrak kloroform tembakau memberikan warna coklat dan ekstrak n-heksana selasih memberikan warna hijau tua setelah direaksikan dengan pereaksi Liebermann-Burchard. Warna hijau pada ekstrak n-heksana selasih menunjukkan bahwa pada ekstrak tersebut mengandung golongan senyawa steroid.

Pemisahan dengan KLTP

Sebelum dilakukan KLTP dilakukan dahulu penentuan eluen terbaik dengan KLT. Dibandingkan dengan KLT, plat KLTP memiliki luas permukaan yang lebih besar sehingga senyawa hasil pemisahan dapat digunakan untuk keperluan analisis lebih lanjut. Sesuai dengan hasil pemilihan eluen, pemisahan dengan metode KLTP dilakukan dengan menggunakan eluen kloroform : n-heksana (9:1). Fraksi-fraksi hasil pemisahan dengan KLTP disajikan pada **Gambar 9**. Fraksi-fraksi hasil KLTP yang diperoleh kemudian dikerok dan dilarutkan dalam eluen, kemudian dipisahkan dari silika dan diuapkan agar bebas pelarut. Selanjutnya fraksi-fraksi tersebut diuji fitokimia (disajikan pada **Tabel 5**) dan diuji potensinya sebagai IOR terhadap lalat buah *B. carambolae*.

Uji Potensi Fraksi-fraksi Hasil KLTP sebagai IOR

Metode uji repelensi yang digunakan sama seperti pada saat uji ekstrak, perbedaannya hanya pada perlakuan yang sebelumnya dioleskan ekstrak diganti dengan fraksi-fraksi hasil pemisahan dengan KLTP. Pengamatan dilakukan setiap hari selama 12 hari dengan cara menghitung banyaknya telur pada perlakuan dan kontrol. Masing-masing pengujian dilakukan sebanyak 5 ulangan untuk setiap fraksi. Hasil uji repelensi fraksi-fraksi hasil pemisahan

dengan KLTP disajikan pada **Gambar 10** dan **11**. Berdasarkan hasil tersebut diketahui bahwa semua fraksi dari ekstrak n-heksana tembakau dan ekstrak kloroform selasih berpotensi sebagai IOR terhadap lalat buah *B. Carambolae*.

Analisis dengan GC-MS

Tabel 6 memperlihatkan komposisi kimia masing-masing fraksi dari ekstrak n-heksana tembakau, sedangkan **Tabel 7** memperlihatkan komposisi kimia masing-masing fraksi dari ekstrak kloroform selasih. Setiap fraksi masih terdapat lebih dari satu senyawa yang berarti pemisahan tidak berhasil dengan baik. Kemungkinan disebabkan senyawa yang terkandung dalam ekstrak memiliki polaritas yang tidak jauh berbeda sehingga sulit dilakukan pemisahan serta pemilihan pelarut yang kurang sesuai sehingga hasil pemisahannya tidak begitu baik.

Senyawa yang terdapat pada fraksi 1-3 yang diduga berperan sebagai IOR terhadap lalat buah *B. carambolae* adalah nikotin. Nikotin telah banyak dilaporkan berfungsi sebagai racun kontak, fumigasi, dan racun perut terhadap serangga dan insektisida dengan nama *Black Leaf 40^R* yang mengandung 40% nikotin telah diperdagangkan [13]. Selain itu, adanya senyawa dari golongan terpena pada fraksi-fraksi juga diduga berperan sebagai IOR terhadap lalat buah *B. carambolae*. Senyawa-senyawa tersebut adalah 2,6,10-trimetil-14-etilen-14-pentade-kena dan 6,10,14-trimetil-2-pentadekanon.

Senyawa 2,6,10-trimetil-14-etilen-14-pentadekena atau yang lebih dikenal dengan nama neofitadiena merupakan golongan senyawa seskuiterpena. Fraksi 7, 9, dan 10 mengandung senyawa neofitadiena dengan persentase berturut-turut 9,55; 8,12; dan 39,89%. Senyawa 6,10,14-trimetil-2-pentadekanon adalah senyawa dari golongan seskuiterpenoid yang merupakan C15 alifatik metil keton. C15 alifatik metil keton

menunjukkan aktivitas yang sama seperti N,N-dietil-*m*-toluamida (DEET) sebagai repelen nyamuk dan serangga lainnya pada konsentrasi 10% b/v [29] juga melaporkan bahwa senyawa 6,10,14-trimetil-2-pentadekanon yang terdapat pada *Calotropis procera* sangat efektif sebagai repelen terhadap spesies-spesies dari *Anopheles*. Berdasarkan **Tabel 6**, fraksi 2, 3, 7, dan 9 mengandung senyawa 6,10,14-trimetil-2-pentadekanon dengan persentase berturut-turut 1,87; 1,22; 7,62; dan 10,34%.

Dari **Tabel 7** senyawa yang diduga berperan sebagai IOR terhadap lalat buah *B. carambolae* pada fraksi 1 adalah sitronellal dengan persentase 1,88% serta neofitadiena dengan persentase berturut-turut 1,88 dan 5,57%. sitronellal memiliki aktivitas repelensi yang kuat terhadap serangga, khususnya ordo Diptera [25].

KESIMPULAN

Kesimpulan yang dapat diambil pada penelitian ini adalah bahwa ekstrak n-heksana, kloroform, dan etil asetat dari daun tembakau dan daun selasih dan fraksi-fraksinya berpotensi sebagai *Insect Ovipositing Repellent* (IOR) terhadap lalat buah *B. carambolae*. Senyawa golongan terpena yang diduga berperan adalah 2,6,10-trimetil-14-etilen-14-pentadekena; 6,10,14-trimetil-2-pentadekanon; karyofilen oksida; 2,6,10-trimetil-5,9,13-pentadekatri-en-2-on; dan sitronellal.

UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih yang setulusnya kepada Prof. Dr. Edhi Martono, M.Sc. atas segala supportnya, sdri Ellyana atas bantuan teknis uji repelensi dan pada LPPM UGM atas dana penelitian yang diberikan melalui skema Hibah Bersaing 2010 no kontrak LPPM-UGM/1028/2010.

DAFTAR RUJUKAN

- [1] Drew, R.A.I., Hooper, G.H.S., and Bateman, M.A., 1978, *Economic Fruit Flies of the*

South Pacific Region, Dept. of
Primary Industries, Queensland

- [2] Siwi, S.S. dan Triasnaningsih, 1997, Jenis-jenis Lalat Buah Genus *Dacus fabricus* di Indonesia dan Cara Mengenalnya (Diptera: Tripetidae), *Kongres Entomologi IV, Kumpulan Makalah 1, Entomologi Murni*. Perhimpunan Entomologi Indonesia, Yogyakarta.
- [3] Suputa, Cahyaniati, A., Kustaryati, Issusilaningtyas, Railan, M., dan Mardiasih, W.P., 2006, *Pedoman Pengelolaan Hama Lalat Buah*, Direktorat Perlindungan Tanaman Hortikultura, Direktorat Jenderal Holtikultura, Jakarta.
- [4] Paimin, F.R., 2000, Lalat Buah Penyebar *Escherichia coli*, *Trubus*, 365, 75.
- [5] Kalie, M.B., 1992, *Mengatasi Buah Rontok, Busuk, dan Berulat*, Penebar Swadaya, Jakarta, 107-159.
- [6] Ria, A., 1994, Perangkap Alami Lalat Buah dengan Bakteri, *Trubus*, 300, 61
- [7] Duljapar, K., dan Setyowati, R.N., 2000, *Petunjuk Bertanam Semangka Sistem Turus*, Penebar Swadaya, Jakarta
- [8] Putra, N.S., 2001, *Hama Lalat Buah dan Pengendaliannya*, Kanisius, Yogyakarta.
- [9] Kardinan, A., 2000, *Pestisida Nabati: Ramuan dan Aplikasi*, Penebar Swadaya, Jakarta.
- [10] Mehra, B.K., and Hiradhar, P.K., 2002, *J. Environ. Biol.*, 23, 335-339.
- [11] Tawatsin, A., Asavadachanukorn, P., Thavara, U., Wongsinkongman, P., Bansidhi, J., Boonruad, T., Chavalittumrong, P., Soonthornchareonnon, N., Komalamisra, N., and Mulla, M.S., 2006, *J. Trop. Med. Public Health*, 37, 5, 915-931.
- [12] Mahmoud, M.F., and Shoeib, M.A., 2008, *J. Biopest.*, 1, 2, 177-181
- [13] Baehaki, 1993, *Insektisida Pengendalian Hama Tanaman*, Angkasa, Bandung.
- [14] Prajapati, V., Tripathi, A.K., Aggarwal, K.K., and Khanuja, S.P.S., 2005, *Technol.*, 96, 1749-1757.
- [15] Voight, R., 1994, *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi* (diterjemahkan oleh Noerono, S.), Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- [16] Ansel, 1989, *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi* (diterjemahkan oleh Ibrahim, F.), Edisi IV, UI Press, Jakarta.
- [17] Fletcher, B.S., 1987, *Ann. Rev Entomol.*, 32, 115-144.
- [18] Kardinan, A., Iskandar, M., dan Wikardi, E.A., 1998, *JPTI*, 4, 1, 38-45.
- [19] Ibrahim, J., and Zaki, Z.M., 1998, *Rev. Biodiv. Environ. Conserv.*, 6, 1-7.
- [20] Jaenson, T.G., Palsson, K., and Borg-Karlson, A.K., 2006, *J. Med. Entomol.*, 43, 113-119.
- [21] Park, B.S., Choi, W.S., Kim, J.H., and Lee, S.E., 2005, *J. Am. Mosq. Control Assoc.*, 21, 80-83.
- [22] Yang, Y.C., Lee, E.H., Lee, H.S., Lee, D.K., and Ahn, Y.J., 2004, *J. Am. Mosq. Control Assoc.*, 20, 146-149
- [23] Gillij, Y.G., Gleiser, R.M., and Zygadlo, J.A., 2008, *Bioresour. Technol.*, 99, 2507-2515.
- [24] Odalo, J.O., Omolo, M.O., Malebo, H., Angira, J., Njeru, P.M., Ndiege, I.O., and Hassanali, A., 2005, *Acta Trop.*, 95, 210-218.
- [25] Nerio, L.S., Olivero-Verbel, J., dan Stashenko, E., 2010, *Bioresour. Technol.*, 101, 372-378.
- [26] Wang, Z., Song, J., Chen, J., Song, Z., Shang, S., Jiang, Z., and Han, Z., 2008, *Med. Chem. Lett.*, 18, 2854-2859.
- [27] Ma, D., Bhattacharjee, A.K., Gupta, R.K., and Karle, J.M., 1999, *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 60, 1-6.
- [28] Innocent, E., Gikonyo, N.K., and Nkunya, M.H.H., 2008, *J. Health Res.*, 10, 50-54.

[29] Okiei W, Ogunlesi, M., Ofor, E., and Osibote, E.A.S., 2009, *Research Journal of Phytochemistry*, 3, 30, 44-53.

TANYA JAWAB

Nama Penanya : *Hartati*

Nama Pemakalah : *Deny Pranowo*

Pertanyaan :

Bagaimana model peralatan ujinya?

Jawaban :

Uji IOR dilakukan pada kotak dengan ukuran 29x9x8 cm dengan gelas aqua ada di sisi kanan dan kiri. Satu untuk control, yang lain untuk uji sampel. Kotak uji seperti ditampilkan pada gambar 1 dengan metode dijelaskan pada bagian prosedur penelitian.

LAMPIRAN

Tabel 1 Hasil maserasi dan ekstraksi partisi daun tembakau

No	Sampel	Rendemen (g)	Wujud	Warna
1	Ekstrak etanol	14,83	Gel	Coklat tua
2	Ekstrak n-heksana	3,30	Gel	Coklat tua
3	Ekstrak kloroform	3,07	Gel	Coklat tua
4	Ekstrak etil asetat	0,51	Gel	Coklat muda

Tabel 2 Hasil maserasi dan ekstraksi partisi daun selasih

No	Sampel	Rendemen (g)	Wujud	Warna
1	Ekstrak etanol	15,14	Gel	Hijau tua
2	Ekstrak n-heksana	3,89	Gel	Hijau tua
3	Ekstrak kloroform	4,18	Gel	Hijau tua
4	Ekstrak etil asetat	0,43	Gel	Hijau muda

Tabel 3 Uji fitokimia golongan senyawa terpena terhadap ekstrak

	Warna larutan		Keterangan
	sebelum direaksikan dengan pereaksi Liebermann-Burchard	setelah direaksikan dengan pereaksi Liebermann-Burchard	
n-heksana tembakau	Kuning	Oranye kekuningan	(+) terpena
Kloroform tembakau	Kuning	Coklat	(-) terpena
n-heksana selasih	Hijau muda	Hijau tua	(-) terpena
Kloroform selasih	Hijau muda	Merah tua	(+) terpena

Tabel 4 Uji fitokimia golongan senyawa terpena terhadap fraksi-fraksi hasil KLTP ekstrak n-heksana tembakau

	Warna larutan		Keterangan
	sebelum direaksikan dengan pereaksi Liebermann-Burchard	setelah direaksikan dengan pereaksi Liebermann-Burchard	
Fraksi 1	Tidak berwarna	Merah muda	(+) terpena
Fraksi 2	Tidak berwarna	Oranye	(+) terpena
Fraksi 3	Tidak berwarna	Merah muda	(+) terpena
Fraksi 4	Tidak berwarna	Tidak berwarna	(-) terpena
Fraksi 5	Tidak berwarna	Tidak berwarna	(-) terpena
Fraksi 6	Tidak berwarna	Tidak berwarna	(-) terpena
Fraksi 7	Tidak berwarna	Oranye	(+) terpena
Fraksi 8	Tidak berwarna	Tidak berwarna	(-) terpena
Fraksi 9	Tidak berwarna	Oranye	(+) terpena

Fraksi 10 Tidak berwarna Oranye (+) terpena

Tabel 5 Uji fitokimia golongan senyawa terpena terhadap fraksi-fraksi hasil KLTP ekstrak kloroform selasih

Ekstrak	Warna larutan	Warna larutan	Keterangan
	sebelum direaksikan	setelah direaksikan	
	dengan pereaksi	dengan pereaksi	
	Liebermann-Burchard	Liebermann-Burchard	
Fraksi 1	Tidak berwarna	Merah muda	(+) terpena
Fraksi 2	Tidak berwarna	Merah muda	(+) terpena
Fraksi 3	Tidak berwarna	Tidak berwarna	(-) terpena
Fraksi 4	Tidak berwarna	Tidak berwarna	(-) terpena
Fraksi 5	Tidak berwarna	Tidak berwarna	(-) terpena
Fraksi 6	Tidak berwarna	Tidak berwarna	(-) terpena
Fraksi 7	Tidak berwarna	Tidak berwarna	(-) terpena
Fraksi 8	Tidak berwarna	Kuning	(+) terpena
Fraksi 9	Tidak berwarna	Tidak berwarna	(-) terpena

Tabel 6 Komposisi kimia fraksi ekstrak n-heksana tembakau yang teridentifikasi

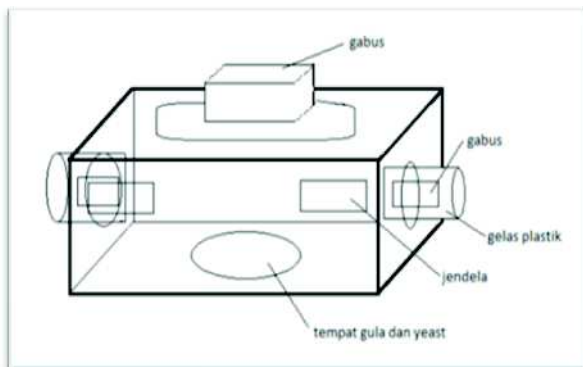
No	Waktu retensi (menit)	Nama senyawa	Persentase relatif (%) pada					
			fraksi 1	fraksi 2	fraksi 3	fraksi 7	fraksi 9	fraksi 10
1	14,784	3-(1-metil-2-pirolidinil)-piridin (nikotin)	61,36	41,48	22,95	-	-	-
2	16,594	(1'S,2'S)-nikotin-N-oksida	-	2,80	-	-	-	-
3	18,071	Karyofilen oksida	-	-	-	-	7,85	-
4	19,075	Patchouli alkohol	-	-	-	-	16,54	25,04
5	20,038	Asam tetradekanoat	1,07	-	-	-	-	-
6	20,619	Isopropil tetradekanoat	-	1,90	2,23	0,58	0,74	-
7	20,775	2,6,10-trimetil-14-etilen-14-pentadekena (neofitadiena)	-	-	-	9,55	8,12	39,98
8	20,865	6,10,14-trimetil-2-pentadekanon	-	1,87	1,22	7,62	10,34	-
9	21,253	Diisobutil ftalat	2,24	6,99	5,88	11,42	5,40	1,73
10	21,727	6,10,14-trimetil-5,9,13-pentadekatrien-2-on	-	-	-	11,50	-	-
11	21,740	Metil heksadekanoat	7,01	-	-	-	-	-
12	22,242	Dibutil ftalat	-	-	-	1,97	4,75	2,02
13	22,247	Asam heksadekanoat	6,82	2,22	1,30	-	-	-
14	22,437	Etil heksadekanoat	5,74	1,71	-	-	0,52	-
15	23,532	Metil 9-oktadekanoat	-	-	-	-	2,69	-
16	23,742	Metil oktadekanoat	1,39	-	-	-	1,35	-
17	24,126	Etil 9-oktadekanoat	-	4,27	-	-	-	-
18	24,145	Asam 9-oktadekanoat	1,93	-	-	-	-	-
19	24,370	Oktadekana	-	-	-	0,49	-	-
20	24,375	Etil heptadekanoat	0,98	-	-	-	-	-
21	25,274	Heneikosana	-	-	-	2,62	-	-
22	25,919	4,8,12,16-Tetrametilheptadekan-4-olida	-	-	-	-	0,65	-
23	26,970	Heneikosana	-	-	-	1,37	-	-
24	27,524	Dioktil ftalat	1,58	9,06	4,53	6,44	1,60	0,40
25	-	Senyawa lain yang belum teridentifikasi	9,88	27,70	61,89	46,44	39,45	30,83

Keterangan :Identifikasi senyawa didasarkan pada kemiripan spektrum massa dari Wiley *library* dengan persen kemiripan diatas 90%.

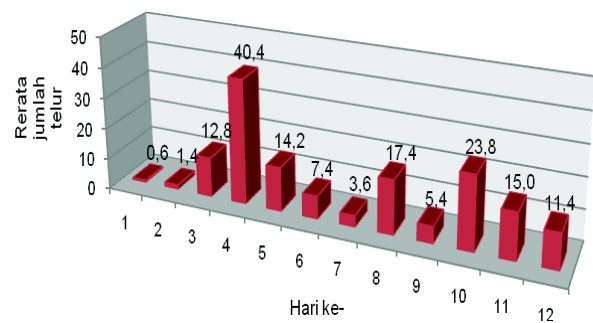
Tabel 7 Komposisi kimia fraksi ekstrak kloroform selasih yang teridentifikasi

No	Waktu retensi (menit)	Nama senyawa	Persentase relatif (%) pada		
			fraksi 1	fraksi 2	fraksi 8
1	11,388	Sitronellal	1,88	-	-
2	17,658	Asam dodekanoat	-	3,81	1,15
3	19,511	Metil tetradekanoat	-	-	0,89
4	20,042	Asam tetradekanoat	-	-	2,05
5	20,629	Isopropil tetradekanoat	11,14	36,60	26,36
6	20,770	2,6,10-Trimetil-14-etilen-14-pentadekana (neofitadiena)	5,57	-	-
7	21,245	Diisobutil ftalat	-	6,59	7,67
8	21,668	Heksadekana	-	-	1,38
9	21,722	Metil heksadekanoat	-	2,80	4,68
10	21,725	Metil eikosoanoat	4,98	-	-
11	22,111	Heksadekana	-	-	3,48
12	22,177	Asam heksadekanoat	-	6,74	3,50
13	22,242	Butil isobutil ftalat	-	1,83	-
14	22,257	Butil oktil ftalat	-	-	4,53
15	22,418	Etil heksadekanoat	-	2,19	2,39
16	23,737	Metil oktadekanoat	-	-	1,14
17	23,801	2,6,10,14-tetrametil-heksadekana	-	-	0,84
18	24,198	heptadekana	-	-	1,61
19	24,261	2-etilheksil 3-(4-metoksifenil)-2-propenoat	-	1,77	7,07
20	25,679	2-etilheksil 3-(4-metoksifenil)-2-propenoat	-	-	4,08
21	26,203	Dioktil heksanadioat	-	1,33	0,97
22	27,511	Dioktil ftalat	-	3,30	5,37
23	-	Senyawa lain yang belum teridentifikasi	76,43	33,04	20,84

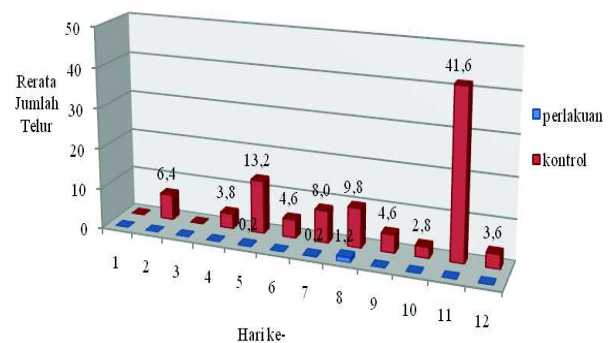
Keterangan :Identifikasi senyawa didasarkan pada kemiripan spektrum massa dari Wiley *library* dengan persen kemiripan diatas 90%.



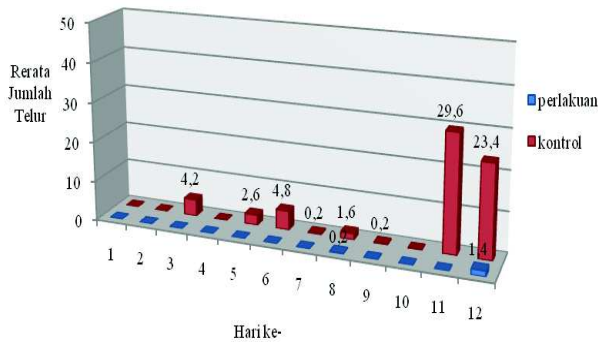
Gambar 1 Kandang uji repelensi



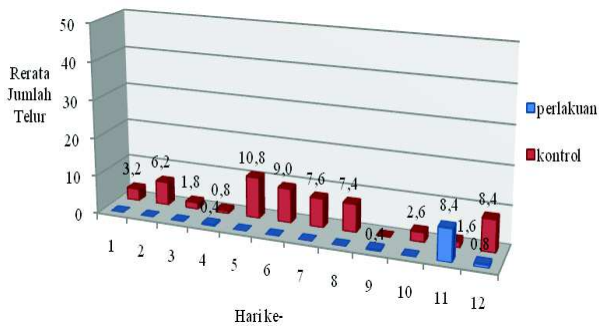
Gambar 1 Hasil uji peneluran (oviposisi)



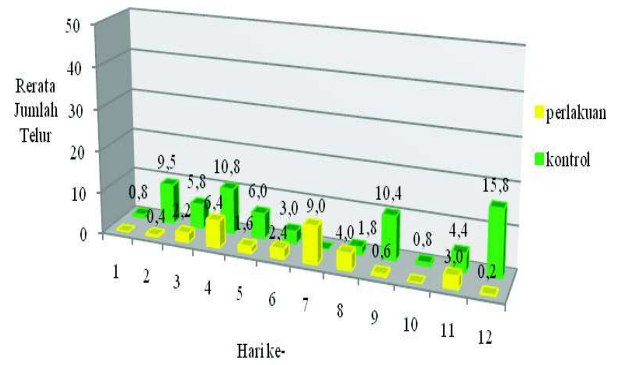
Gambar 3 Uji repelensi ekstrak n-heksana tembakau



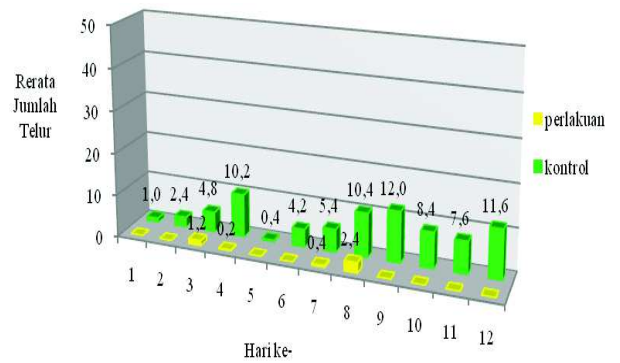
Gambar 4 Uji repelensi ekstrak kloroform tembakau



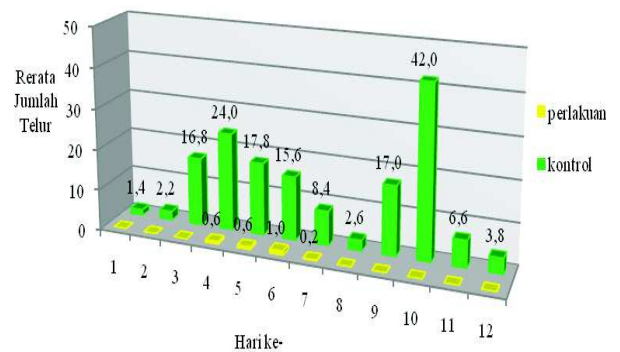
Gambar 5 Uji repelensi ekstrak etil asetat tembakau



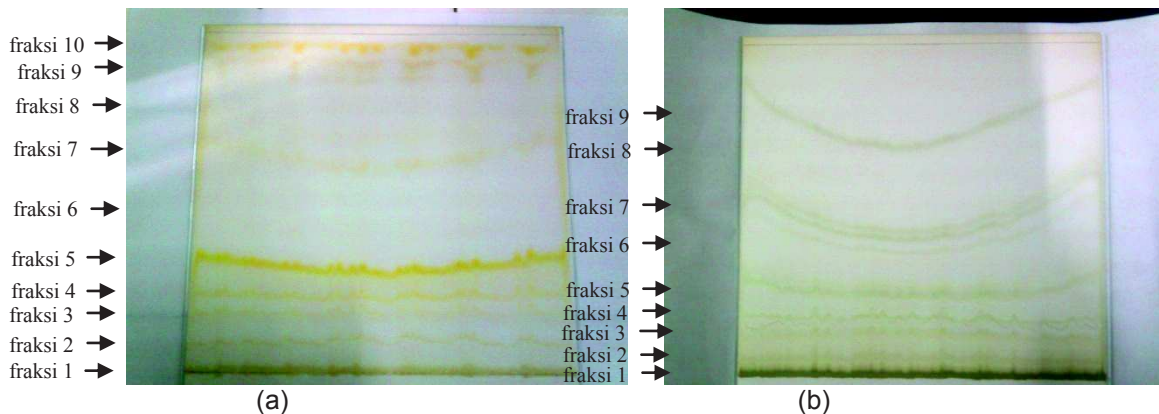
Gambar 6 Uji repelensi ekstrak n-heksana selasih



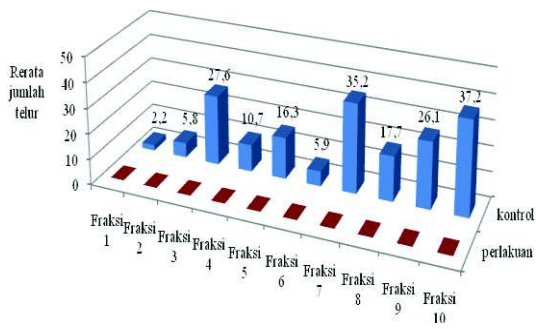
Gambar 7 Uji repelensi ekstrak kloroform selasih



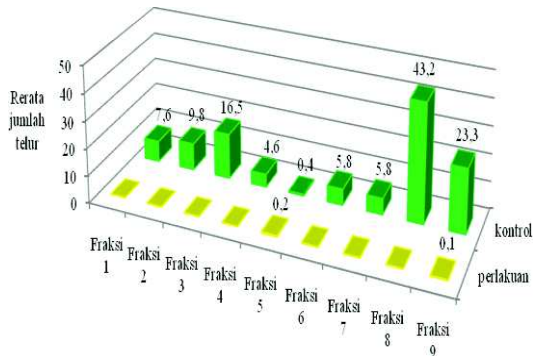
Gambar 8 Uji repelensi ekstrak etil asetat selasih



Gambar 9 Hasil KLT (a) ekstrak n-heksana tembakau (b) ekstrak kloroform selasih



Gambar 10 Uji repeleksi fraksi-fraksi hasil KLTP dari ekstrak n-heksana tembakau



Gambar 11 Uji repeleksi fraksi-fraksi hasil KLTP dari ekstrak kloroform selasih