# SENYAWA TETRANORTRITERPENOID YANG BERSIFAT ANTIMAKAN DARI BIJI BUAH *Lansium domesticum* Corr cv. Kokossan (MELIACEAE)<sup>1</sup>

Tri Mayanti,<sup>2</sup> W. Drajat Natawigena,<sup>3</sup> Unang Supratman,<sup>2</sup> dan Roekmi-ati Tjokronegoro<sup>2</sup>

## **ABSTRAK**

Dalam kegiatan pencarian berkelanjutan kami terhadap senyawa antimakan baru dari tumbuhan Indonesia diperoleh lasil bahwa ekstrak metanol biji buah *Lansium domesticum* menunjukkan aktivitas antimakan yang signifikan terhadap instar keempat larva *Epilachna sparsa*. Ekstrak metanol biji buah *L. domesticum* dipekatkan dan diekstraksi dengan etil asetat Ekstrak etil asetat menunjukkan aktivitas antimakan terhadap *Epilachna sparsa*. Dengan menggunakan aktivitas aktimakan untuk mengikuti pemisahan, ekstrak etil asetat dipisahkan dengan kombinasi kolom kromatografi pada Kieselgel 60 menghasilkan satu senyawa yang beraktivitas antimakan berupa kristal putih dengan titik leleh 178-180°C. Berdasarkan data-data spektroskopi dan perbandingan dengan data yang diperoleh dari literatur disimpulkan bahwa senyawa antimakan tersebut merupakan golongan tetranortriterpenoid dengan kerangka molekul yang mirip dengan dukunolida. Senyawa antimakan tersebut memberikan aktivitas antimakan sebesar 78% terhadap instar ke-empat larva *E. sparsa* pada konsentrasi larutan uji 1%.

# ANTIFEEDANT TETRANORTRITERPENOID FROM THE FRUIT SEED OF Lansium domesticum cv Kokossan (MELIACEAE)

### **ABSTRACT**

In the course of our continuing search of novel antifeedant compounds from Indonesian plants, the methanolic extract of fruit seed of L. domesticm showed significant antifeedant against the fourth instars of <u>Epilachna sparsa</u>. The methanolic extract of the fruit seed of L. domesticum was concentrated and extracted with ethyl acetate. The ethyl acetate extract exhibited an antifeedant activity toward <u>Epilachna sparsa</u>. By using the antifeedant activity to follow the separations, the ethyl acetate fraction was separated by combination of column chromatography on Kieselgel 60 to afford an antifeedant

Judul Makalah yang Disampaikan Pada Seminar HKI di UPI Bandung pada tanggal 11 April 2007.

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjadjaran, Jatinangor 45643, Sumedang

<sup>&</sup>lt;sup>3</sup> Jurusan Hama dan Penyakit Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Padjadjaran, Jatinangor 45643, Sumedang

compound as white crystal with melting point 178 180°C. Based on spectroscopic evidences and comparison with previously data reported indicated that isolated compound as tertranortriterpenoid group with molecular skeleton similar with those dukunolide. An antifeedant compound showed antifeedant activity as 78% against the fourth instars of E. sparsa at concentration of 1%.

### **PENDAHULUAN**

Senyawa antimakan didefinisikan sebagai suatu zet yang apabila diujikan terhadap serangga akan menghentikan aktivitas makan secara sementara atau permanen tergantung potensi zat tersebut (Miles *et al..*, 1985). Pengendali antimakan telah menjadi perhatian yang menarik sebagai salah satu alternatif dalam perlindungan tanaman pangan oleh karena senyawa ini tidak membunuh, mengusir atau menjerat serangga hama tetapi hanya menghambat makan (Tjokronegoro, 1987). Senyawa antimakan dapat ditemukan diantara seluruh kelompok utama metabolit sekunder; alkaloid, fenolik dan terpenoid (Frazier, 1986 dalam Isman, 2002). Namun jumlah dan keragaman terbanyak senyawa antimakan dijumpai pada golongan terpenoid.

Suku Meliaceae merupakan penghasil zat-zat pahit bermanfaat sebagai substansi antimakan serangga dan penghambat pertumbuhan dengan toksisitas rendah terhadap mamalia (Omar et al., 2005). L. domesticum sebagai salah satu jenis tumbuhan dari suku Meliaceae merupakan sumber senyawa-senyawa terpenoid dengan berbagai aktivitas hayati yang menarik. Jenis ini memiliki tiga kultivar yaitu: duku, kokosan dan pisitan. Dari kultivar duku telah dilaporkan enam senyawa triterpen onoceranoid baru dengan aktivitas antimakan terhadap Sitophilus oryzae dari bagian kulit kayu (Omar et al., 2005) sedangkan penelitian terhadap kultivar lain yaitu kokosan terutama berkaitan dengan senyawa antimakan belum pernah dilakukan. Pada penelitian ini dilakukan isolasi dan karakterisasi senyawa antimakan terhadap larva Epilachna sparsa dari biji buah kokosan.

### **BAHAN DAN METODE**

Bahan tumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji kokossan (*L. domesticum* Corr var. kokossan) yang diperoleh dari daerah Cicalengka dan Cililin.

Pengambilan buah kokosan dilakukan pada bulan Maret 2005. Determinasi dilakukan di Jurusan Biologi FMIPA Universitas Padjadjaran.

Serangga uji adalah larva *Epilachna sparsa* instar ke-3 awal dibudidayakan sendiri. Media uji hayati menggunakan daun leunca (*Solanum nigrum*) dengan metode uji pilihan (*Choice Test*).

Bahan kimia yang digunakan untuk ekstraksi dan isolasi meliputi berbagai pelarut organik teknis redestilasi dan pelarut organik p.a untuk rekristalisasi. Disamping itu digunakan juga bahan kimia pendukung lainnya meliputi silika gel G-60 ukuran 70-230 mesh dan untuk kromatografi kolom serta GF<sub>254</sub> untuk kromatografi lapis tipis. Metode penelitian meliputi tahap-tahap:

# a. Ekstraksi dan Partisi

Biji buah kokossan segar yang telah dihaluskan halus diekstraksi tuntas dengan cara maserasi menggunakan pelarut metanol. Maserat dikumpulkan dan diuapkan hingga diperoleh maserat pekat. Terhadap maserat pekat dilakukan uji hayati dan uji fitokimia. Maserat pekat selanjutnya dilarutkan dalam campuran metanolair (8:2) lalu dipartisi berturut-turut dengan *n*-heksana dan etilasetat, masing-masing fraksi diuapkan dan diuji hayati.

### b. Pemisahan dan Pemurnian

Fraksi aktif dipisahkan dengan cara kromatografi kolom cair vakum (KKCV) menggunakan fasa diam silika gel G-60 dan fasa gerak berupa campuran *n*-heksana, etilasetat dan metanol dengan peningkatan kepolaran secara bertahap. Fraksi-fraksi hasil KKCV diuji hayati. Fraksi aktif dipisahkan kembali dengan metode kromatografi kolom terbuka menggunakan fasa diam silika gel ukuran 70-230 mesh dengan pelarut yang tepat hingga diperoleh noda tunggal sebagai isolat. Isolat dimurnikan dengan cara rekristalisasi.

## c. Uji Kemurnian dan Karakterisasi

Kemurnian isolat diuji dengan kromatografi lapis tipis menggunakan berbagai variasi campuran pelarut. Isolat murni diukur titik lelehnya dan dikarakterisasi dengan spektroskopi ultraviolet, inframerah, dan resonansi magnet inti. Aktivitas isolat ditentukan dengan uji hayati.

# d. Uji Aktivitas Antifeedant dengan Metode Uji Pilihan (Schwinger, 1984)

Ekstrak uji dioleskan dibagian kiri daun leunca (*Solanum nigrum*) sedangkan di bagian kanan dioles dengan metanol sebagai kontrol. Selanjutnya daun diletakkan dalam cawan petri dan dimasukkan dua ekor larva *Epilachna sparsa* instar ke-4 awal yang telah dipuasakan selama dua jam. Pengamatan dilakukan setelah 24 jam dan keaktifan dihitung dengan cara mengukur luas daun yang dikonsumsi larva menggunakan lingkaran yang dibagi dalam 32 sektor. Persentase keaktifan diukur dengan rumus:

### HASIL DAN PEMBAHASAN

### Ekstraksi dan Partisi

Dari ± 250 kg buah kokossan diperoleh 8,9 kg biji buah kokossan segar yang selanjutnya dihaluskan dan dimaserasi dengan metanol. Maserat yang terkumpul diuapkan hingga diperoleh 336,5 g maserat metanol pekat. Hasil uji hayati terhadap maserat metanol pekat menunjukkan aktivitas 85% terrhadap larva *Epilachna sparsa* pada konsentrasi larutan uji Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak positif mengandung triterpenoid. Maserat metanol pekat selanjutnya dilarutkan dalam campuran metanol:air (2:8) lalu dipartisi dengan *n*-heksana dan etilasetat. Fraksi *n*-heksan diperoleh sebanyak 12,3 g (aktivitas 94%), etil asetat 57,8 g (aktivitas 100%) dan metanol-air 234,7 g (aktivitas 2%).

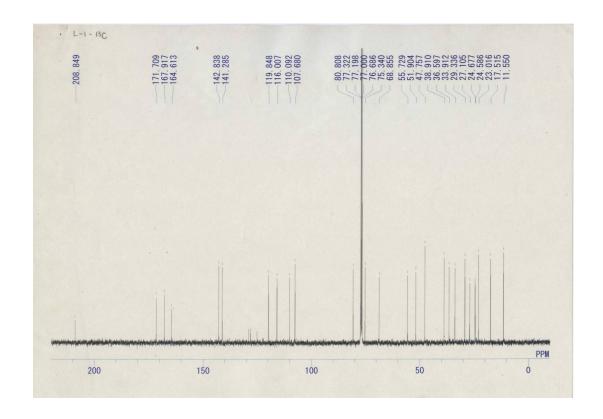
## Pemisahan dengan Kromatografi Kolom dan Pemurnian

Fraksi etilasetat dipisahkan dengan KKCV menggunakan fasa diam silika gel G-60 dengan campuran fasa gerak *n*-heksana, etil asetat dan metanol yang kepolarannya dinaikkan secara bertahap. Diperoleh tujuh fraksi dengan aktivitas terbesar pada fraksi C (91%), D (90%) dan E (97%). Fraksi D menghasilkan kristal yang selanjutnya dipisahkan dan dicuci dengan etilasetat. Kristal lalu direkristalisasi dengan diklorometana hingga diperoleh kristal berwarna putih yang selanjutnya disebut sebagai isolat L-1 sebanyak

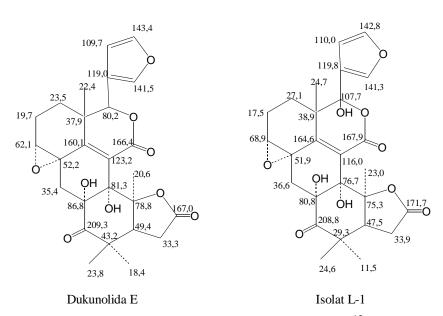
6,1 g.. Aktivitas antimakan isolat diuji terhadap larva *E. sparsa* dan diperoleh hasil sebesar 78% dengan konsentrasi larutan uji 1%.

# Karakterisasi dan Spektroskopi

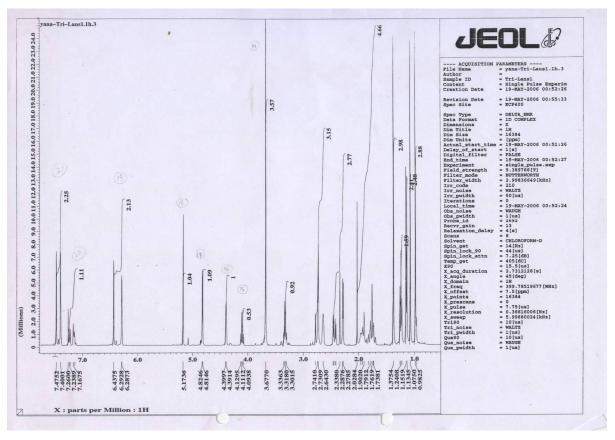
Uji kemurnian isolat dengan kromatografi lapis tipis menggunakan campuran fasa gerak: butanol:kloroform (0.5:9.5), aseton: n-heksan (4:6), etanol:kloroform (0.5:9.5), klorofom:n-heksan:etanol (7:2:1) memberikan harga Rf berturut-turut 0,67; 0,39; 0,8; 0,74. Titik leleh isolat yang terukur adalah 178-180°C. Analisis spektrum UV (λ<sub>max</sub> 203 nm) menunjukkan tidak adanya ikatan rangkap terkonyugasi. Analisis spektra inframerah isolat menunjukkan kehadiran gugus OH (3427 dan 1389 cm<sup>-1</sup>), C=O (1722 dan 1162 cm<sup>-1</sup>), C=C (1631 cm<sup>-1</sup>), C-O (1234 cm<sup>-1</sup>). Analisis spektra <sup>13</sup>C-NMR isolat L-1 menunjukkan bahwa isolat tersebut merupakan senyawa yang mengandung 26 atom C sehingga diduga sebagai senyawa golongan tetranortriterpenoid (Gambarl). Sebelas sinyal yang muncul pada pergeseran kimia di bawah 50 ppm berasal dari atom C dengan ikatan jenuh. Lima sinyal pada pergeseran kimia 51-100 ppm berasal dari atom C teroksigenasi, enam sinyal pada pergeseran kimia 101-150 ppm berasal dari atom C berikatan rangkap dan empat sinyal pada pegeseran kimia di atas 150 ppm berasal dari atom C karbonil. Spektrum <sup>1</sup>H-NMR memberikan informasi mengenai lingkungan proton melalui harga pergeseran kimia, jumlah proton melalui integrasi dan jumlah proton tetangga melalui multiplisitas. Dua buah sinyal yang muncul pada pergeseran kimia 0,98 ppm dan 1,07 ppm diduga berasal dari proton CH<sub>3</sub> sedangkan sebuah sinyal pada pergeseran kimia 3,67 ppm diduga berasal dari gugus metoksi (CH<sub>3</sub>-O-). Hal tersebut terlihat dari intensitas sinyal yang tinggi serta bentuk singlet (Gambar 3). Proton-proton yang terikat pada karbon teroksigenasi muncul pada pergeseran kimia 3,2 – 4,3 ppm sedangkan proton dari karbon sp<sub>2</sub> muncul pada pergeseran kimia 4,9-5,9 ppm. Sebagian besar harga pergeseran kimia <sup>13</sup>C-NMR dukunolida E mirip dengan pergeseran kimia isolatL-1(Gambar2).



Gambar 1. Spektrum <sup>13</sup>C-NMR Isolat L-1



Gambar 2. Perbandingan Harga Pergeseran Kimia $^{\rm 13}\,\text{C-NMR}$  Dukunolida E dengan Isolat L-1



Gambar 3. Spektrum <sup>1</sup>H-NMR Isolat L-1

# KESIMPULAN DAN SARAN

Dari hasil isolasi terhadap b**j**i buah kokosan telah diperoleh suatu senyawa berbentuk berbentuk kristal putih sebanyak 6,1 g dengan aktivitas antimakan terhadap larva *E. Sparsa* sebesar 78% dengan karakter sebagai berikut: titik leleh 178-180° C, IR (KBr, cm<sup>-1</sup>) 3470, 2978, 1722, 1631, 1162. Senyawa diduga merupakan komponen yang tidak memiliki gugus kromofor, mengandung gugus fungsi OH, C=O dan C=C, golongan tetranortriterpenoid dengan rangka mirip dukunolida E yang mengalami penambahan gugus -OH pada posisi 17.

Untuk memperoleh struktur molekul lengkap disarankan analisis spektroskopi dilengkapi dengan 2D- NMR, MS dan difraksi sinar X.

## **UCAPAN TERIMA KASIH**

Terima kasih kepada pihak DIKTI Depdiknas atas dana penelitan, Prof. Dr. Hideo Hayashi, Osaka Perfecture University dan Dr. Yana M. Syah, ITB atas pengukuran spektrum NMR

## **DAFTAR PUSTAKA**

- Isman, M. 2002. Insect antifeedant. *Pesticide outlook*. The Royal Society of Chemistry.
- 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.
- Omar, S., M. Marcotte, P. Fields, P.E.Sanchez, L.Poveda, R. Matta, A. Jimenez, T. Durst, J.Zhang, S. Mac Kinnon, D.Leaman, J.T.Arnason, and B.J.R.Philogene. 2005. Antifeedant activities of terpenoids isolated from tropical Rutales. *Journal of Stored Products Research*.
- Tjokronegoro, R.K. 1987. *Penelusuran senyawa kandungan tumbuhan Indonesia bioaktif terhadap serangga*. Disertasi. Bandung: Universitas Padjadjaran.