KARAKTERISASI EKSTRAK BUNGKIL BIJI JARAK PAGAR DAN UJI EFEKTIVITASNYA SEBAGAI INSEKTISIDA

*(Characteristic from Jatropha's Seed Cake Extract and its
Effectivity Tests as Insecticide)*

Oleh/By:

R. Sudradjat¹, Novia Heryani² & D. Setiawan¹

1. Pusat Penelitian dan Pengembangan Hasil Hutan, Jl. Gunung Batu No.5 Bogor
Telp/Fax: 8633378/8633413

2. Fakultas MIPA Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Darmaga Bogor

Diterima 5 Februari 2008; disetujui 23 Mei 2008

ABSTRACT

*Jatropha seeds extraction produces waste or cake which contains approximately 27% of crude protein that can be used as an animal feed. However, its using is still limited due to containing its toxic compound. This research aim was to investigate what kind of toxic compounds contains in JC seed cake and how effective its use as a biopesticide. This research yielded an n-hexane extract that having the highest activity toward *Crocidolomia pavonana* instar II with the yield of 50.64%. Effectivity test results of n-hexane at 3% concentration showed the highest in reduction eating activity of larvae and larvae mortality. Several phases of separation involving column chromatography, this active extract consists of three fractions. GC analysis showed that the first active fraction consist of 10 compounds and infrared spectrum showed functional groups of -NH, -C-H from CH₂ and CH₃, and C=O, and molecular weight of each compound was in the range of 281 to 486. Based on qualitative analysis, the first active fraction was classified as alkaloid and terpenoid compounds. The first active fraction showed the highest effectivity in reducing larvae eating activity (90.04%) and larvae mortality (98%) This extract was more potential as biopesticide as compared to synthetic insecticide (Decis 2.5 EC). The n-hexane obtained the lowest of LC₅₀ and LC₉₅, or representing the highest effectivity in reducing living of larvae.*

Keywords : Jatropha curcas, cake extract, effectivity tests, insecticide.

ABSTRAK

Pada pembuatan biodiesel dari ekstrak minyak tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas*) dihasilkan limbah atau bungkil yang masih mengandung kadar protein kasar sekitar 27% sehingga bisa digunakan sebagai pakan ternak, tetapi penggunaannya masih terbatas karena mengandung senyawa toksik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jenis kandungan racun dalam bungkil jarak pagar dan seberapa besar efektivitasnya sebagai biopestisida. Metode penelitian dengan memilih 3 jenis larutan pengeksrak (n-heksana, petroleum eter dan etanol) yang tertinggi rendemen minyak bungkilnya serta paling tinggi kandungan zat fitokimianya. Ekstrak minyak diujikan kepada larva *C. pavonana* untuk mengetahui laju penghambat makan dan mortalitas. Untuk uji penghambat makan digunakan konsentrasi 1 ; 3 dan 5% (b/v), uji mortalitas konsentrasi 0 ; 2 ; 4 ; 6 ; 8 ; 10 ; 12 ; 14 dan 16% (b/v), dan waktu pengamatan 1 ; 2 dan 3 hari. Larutan pengeksrak yang terbaik dilanjutkan dengan uji fraksi aktif.

Pada penelitian ini telah berhasil didapatkan ekstrak yang memiliki aktivitas yang paling tinggi terhadap larva *Crocidolomia pavonana* instar II yaitu ekstrak *n*-heksana dengan rendemen 50,64%. Hasil uji efektivitas ekstrak *n*-heksana konsentrasi 3% menunjukkan hasil tertinggi pada aktivitas penghambatan makan larva dan tingkat kematiannya 100%. Pada uji fraksi aktif, pemisahan menggunakan kromatografi kolom menghasilkan 3 fraksi aktif. Dari hasil analisis GC, fraksi aktif ini terdiri atas 10 senyawa dan pola spektrum infra merahnya menunjukkan adanya gugus -NH, -C-H dan CH₂ dan CH₃ dan C=O, bobot molekul setiap senyawa pada fraksi aktif ini berkisar dari 281 sampai 486. Fraksi aktif I yang mengandung senyawa alkaloid dan terpenoid memberikan nilai efektivitas tertinggi dalam penghambatan aktivitas makan dari larva (90,04%) dan menghasilkan tingkat kematian 98%. Ekstrak *n*-heksana memiliki LC₅₀ dan LC₉₅ terendah atau paling efektif terhadap penghambatan kehidupan larva.

Kata kunci : Jarak pagar, ekstrak bungkil, uji efektivitas, insektisida.

I. PENDAHULUAN

Salah satu flora Indonesia yang bisa dimanfaatkan sebagai biopestisida adalah tumbuhan jarak pagar. Tumbuhan ini dapat menghasilkan minyak sebagai biodiesel untuk pengganti BBM (Sudradjat, 2006). Pada pembuatan biodiesel dari ekstrak minyak tanaman ini dihasilkan limbah atau bungkil yang masih mengandung kadar protein kasar cukup tinggi (27%), sehingga bisa digunakan sebagai pakan ternak. Akan tetapi, penggunaannya masih terbatas karena mengandung senyawa toksik yang cukup membahayakan yang dapat digunakan sebagai biopestisida (Sinaga, 2005). Hasil penelitian ini diharapkan dapat dijadikan alternatif dalam pengendalian hama, sehingga penggunaan insektisida sintetis dapat ditekan serendah-rendahnya.

Setiap bagian tumbuhan jarak pagar mengandung senyawa kimia yang berbeda. Daun dan batangnya mengandung saponin, flavonoida, tanin dan senyawa polifenol. Getahnya mengandung tanin 11 - 18%. Bijinya mengandung berbagai senyawa alka-loid dan saponin. Selain itu biji jarak pagar mengandung 35 - 45% lemak, yang terdiri atas berbagai trigliserida asam palmitat, stearat dan kurkanolat (Manurung, 2005).

Senyawa-senyawa racun dalam tumbuhan ini terutama ditemukan pada bijinya. Adanya senyawa racun dalam tumbuhan merupakan bagian dari perkembangan evolusi tumbuhan tersebut. Dalam senyawa racun utama yang diduga paling banyak terdapat pada jarak pagar adalah forbol ester dan kursin (Brodjonegoro *et al.*, 2006). Forbol ester merupakan senyawa organik yang dapat mengikat protein kinase C, sehingga dapat menyebabkan leukimia dan tumbuhnya sel-sel tumor. Kursin termasuk jenis fitotoksin atau toksalbumin yang merupakan molekul protein kompleks yang memiliki toksisitas tinggi dan memiliki efek fisiologis menyerupai struktur toksin pada bakteri. Kursin termasuk ke dalam tipe I RIP (*Ribosome Inactivating Protein*) yaitu protein yang memiliki kemampuan menonaktifkan ribosom. Protein jenis ini terdiri atas polipeptida rantai tunggal dengan bobot molekul 28.000 sampai 35.000. Senyawa toksik lain yang ditemukan pada tumbuhan jarak pagar diantaranya hirdosianat, resin, senyawa glikosida dan tetrametilpirazin (Barbierri, 1993 dalam Juan *et al.*, 2003).

Larva *C. pavonana* umumnya digunakan sebagai hewan uji terhadap senyawa insektisida. Muniappan *et al.* (2005) menggunakan larva ini untuk mengetahui aktivitas serangga tersebut pada beberapa jenis tanaman kubis.

II. METODOLOGI

A. Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan adalah bungkil biji jarak pagar, larva *C. pavonana* instar II yang merupakan koleksi Laboratorium Fisiologi dan Toksikologi, Departemen Proteksi Tanaman, IPB-Bogor. Bahan kimia yang digunakan antara lain *n*-heksana, petroleum eter, etanol, HCl pekat, amil alkohol, kloroform, H_2SO_4 , metanol, $FeCl_3$ 1%, etanol, asam pikrat (2,4,6-trinitrofenol), $NaHCO_3$, toluena, pereaksi Mayer, Lieberman-Buchard dan Molisch.

Alat-alat yang digunakan adalah seperangkat alat soklet dan refluks, oven, eksikator, neraca analitik, penguap putar, *spot plate*, pelat kromatografi lapis tipis (KLT), kolom kaca kromatografi ukuran 50 x 1 cm, spektrofotometer UV, spektrofotometri inframerah (IR) yang digunakan adalah FTIR Bruker, Exalibur Series FTS 300, dan kromatografi gas-spektroskopi massa (GC-MS).

B. Prosedur Kerja

1. Karakterisasi fitokimia minyak dari bungkil jarak

Terdiri atas penentuan kadar air, uji fitokimia yaitu flavonoid, alkaloid, steroid, tanin, terpenoid dan saponin (Harborne, 1996) serta uji steroid dan terpenoid.

- Penentuan kadar air : ditimbang 2 g bungkil biji jarak yang telah dihaluskan, dikeringkan dalam oven selama 6 jam lalu ditimbang. Pemanasan dan penimbangan untuk tiap 3 jam berikutnya dilakukan sampai bobot tetap.
- Uji flavonoid : ditimbang 0,1 g contoh dimasukkan ke dalam 100 ml air panas dan dididihkan selama 5 menit. Dipipet 5 ml filtratnya ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 0,1 mg Mg, 1 ml HCl pekat, 1 ml amil alkohol dan dikocok. Terbentuknya warna kuning sampai merah menandakan adanya flavonoid.
- Uji alkaloid : ditimbang 0,3 g contoh dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 10 ml kloroform-amoniak dan beberapa tetes H_2SO_4 2M lalu dikocok sehingga terbentuk dua lapisan. Lapisan asam (tak berwarna) dipipet ke dalam tabung reaksi lain lalu ditambahkan pereaksi mayer. Reaksi positif ditandai dengan adanya kabut putih hingga gumpalan putih.
- Uji tanin : ditimbang 0,1 g contoh ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 1 ml metanol dan beberapa tetes $FeCl_3$ 1 %. Terjadinya warna biru, hijau atau ungu menunjukkan adanya tanin.
- Uji saponin : ditimbang 1 g contoh dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 5 ml akuades, dididihkan selama 5 menit lalu dikocok hingga berbusa. Adanya busa yang mantap selama 15 menit menunjukkan adanya saponin.
- Uji steroid dan terpenoid : ditimbang 1 g contoh, diekstraksi dengan 12,5 ml etanol panas, lalu ekstrak dikeringkan di dalam piringan porselen. Residu yang diperoleh dilarutkan dalam eter, kemudian diuji dengan pereaksi LiebermenBuchard. Residu yang tidak larut dihidrolisis dengan larutan HCl 2N. Residu yang didapatkan dilarutkan kembali dalam eter dan diuji dengan pereaksi Lieberman-Buchard. Terbentuknya warna biru atau hijau menunjukkan adanya steroid dan warna merah atau ungu menunjukkan adanya terpenoid.

2. Ekstraksi minyak residu (Agustian, 2003)

Labu bulat yang berisi butir batu dididih dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C selama 1 jam, kemudian didinginkan dalam eksikator dan ditimbang. Bungkil biji jarak ditimbang sebanyak 15 gram, lalu dimasukkan ke dalam tabung yang terbuat dari kertas saring. Kedua ujung tabung ditutup dengan kapas tak berlemak. Tabung dimasukkan ke dalam radas soklet dan diekstraksi dengan pelarut di atas penangas air selama 24 - 48 jam. Hasil ekstrak dipisahkan dan pelarutnya dengan penguap putar. Ekstraksi dilakukan triplo untuk pelarut yang berbeda yaitu petroleum eter, *n*-heksana dan etanol. Ketiga ekstrak ini digunakan untuk uji aktivitas insektisida.

3. Pemeliharaan larva *C. pavonana*

Telur yang baru menetas dipelihara dalam kotak plastik berukuran 15 x 20 x 5 cm dengan pakan daun kubis. Larva dipelihara sampai instar IV. Larva yang akan membentuk kepompong dipindahkan ke dalam kotak plastik berukuran sama yang telah diberi serbuk gergaji. Imago yang keluar dari kepompong dipindahkan ke dalam kurungan plastik berdiameter 8 cm dan tinggi 25 cm yang bagian atasnya ditutupi dengan kain kasa. Makanan imago adalah larutan madu dengan konsentrasi 10% (b/v). Madu tersebut dibasahkan pada kapas dan ditempatkan di atas kurungan. Larva instar II digunakan sebagai bahan penelitian.

4. Uji aktivitas insektisida (Rusman, 2002)

a. Uji penghambatan aktivitas makanan

Pengujian dilakukan pada lima konsentrasi ekstrak yang berbeda yaitu 1%, 3%, 5%, 10% dan 15%. Daun kubis dipotong dengan ukuran 4 x 4 cm, kemudian dicelupkan ke dalam larutan ekstrak. Sebagai kontrol, digunakan daun kubis yang dicelupkan ke dalam pelarut ekstrak (kontrol negatif) dan Decis 2.5 EC (kontrol positif). Uji ini dilakukan dengan cara daun kontrol dan daun yang telah dicelupkan ke dalam ekstrak dimasukkan ke dalam cawan petri yang berbeda. Kemudian ke dalamnya dimasukkan 10 ekor larva yang telah dipuaskan selama 4 jam. Pengamatan dilakukan setelah 24 jam dengan mengukur luas daun yang dimakan. Percobaan dilakukan sebanyak lima kali. Persen penurunan aktivitas makan dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$P = \left(1 - \frac{T}{C}\right) \times 100\%$$

di mana: P = persen penurunan aktivitas makan ; T = daun perlakuan ekstrak yang dimakan ; dan C = luas daun kontrol yang dimakan

b. Uji mortalitas

Ekstrak dilarutkan dalam pelarut (air ditambah dengan pengemulsi), kemudian diencerkan untuk mendapatkan konsentrasi yang diinginkan. Pengujian dilakukan pada lima konsentrasi ekstrak yang berbeda yaitu 1%, 3%, 5%, 10% dan 15% (b/v). Pada pengujian ini digunakan daun kubis sebagai pakan. Daun kubis dipotong dengan ukuran 4 x 4 cm. Potongan daun dicelupkan secara terpisah ke dalam ekstrak dengan konsentrasi tertentu selama 5 - 10 detik. Sebagai kontrol, daun dicelupkan ke dalam pelarut dari setiap ekstrak (kontrol negatif) dan Decis 2.5 EC (kontrol positif), kemudian dikering udarkan. Daun yang telah diberi perlakuan dan juga kontrol dimasukkan ke dalam cawan petri yang berisi

10 larva. Setiap perlakuan diulang 5 kali. Pengamatan dilakukan setiap 24 jam selama 3 hari. Jumlah larva yang mati dicatat hingga semua larva yang bertahan hidup berganti kulit, kemudian nilai LC_{50} ditentukan dengan cara analisis probit. Persen kematian dihitung menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\text{Kematian terkoreksi (\%)} = \frac{Po - Pc}{100 - Pc} \times 100\%$$

di mana : Po = persen kematian kumulatif pada perlakuan; dan Pc = persen kematian kumulatif pada kontrol

5. Fraksinasi ekstrak aktif dan pencirian fraksi yang terpilih

Pemisahan fraksi dilakukan pada ekstrak minyak yang paling aktif terhadap larva dengan menggunakan KLT dan kolom kromatografi. KLT digunakan untuk mencari eluen terbaik yaitu eluen yang dapat memisahkan dengan baik campuran fraksi yang akan dipisahkan. Ekstrak yang diketahui paling aktif terhadap larva dipisahkan dengan kolom kromatografi menggunakan eluen terbaik dan KLT. Tiap fraksi dikumpulkan di dalam tabung-tabung reaksi dan dipantau menggunakan KLT dengan eluen terbaik untuk melihat hasil pemisahannya. Berdasarkan hasil KLTnya, fraksi yang memiliki pola pemisahan sama dapat langsung digabungkan. Kemudian hasil pemisahan tersebut masing-masing diuji aktivitasnya terhadap larva (uji lanjutan) pada LC_{50} (b/v). Fraksi yang paling tinggi aktivitas insektisidanya dicirikan menggunakan alat UV, FTIR dan GC-MS.

C. Rancangan Penelitian

Percobaan disusun dalam analisis faktorial dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL) sebagai rancangan dasar. Rancangan ini digunakan untuk mengetahui adanya interaksi antara jenis ekstrak dan tingkat konsentrasi terhadap aktivitas makan dan kematian larva. Ekstrak hasil pemisahan dianalisis pada konsentrasi yang sama untuk mengetahui pengaruh ekstrak terhadap aktivitas makan dan kematian larva. Percobaan dilakukan sebanyak lima ulangan. Hubungan regresi antara konsentrasi ekstrak dengan kematian larva diolah dengan analisis probit untuk menentukan LC_{50} . Pengaruh perlakuan dianalisis dengan analisis ragam untuk melihat perbedaan nilai tengah perlakuan dan dilanjutkan dengan uji Duncan untuk hasil uji yang berbeda nyata.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Kadar Air dan Uji Fitokimia

Kadar air bungkil biji jarak pagar adalah sebesar 8,61%. Hasil uji fitokimia yang meliputi uji senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, steroid dan terpenoid disajikan dalam Tabel 1. Berdasarkan uji kualitatif, dalam bungkil biji jarak ini terdeteksi senyawa saponin, alkaloid, flavonoid, terpenoid dan tanin.

Tabel 1. Hasil uji fitokimia bungkil biji jarak pagar**Table 1. Phytochemical analyses of *Jatropha curcas* cake extract**

Uji (<i>Test</i>)	Hasil (<i>Result</i>)				
	Blanko (<i>Blanco</i>)	Ekstrak (<i>Extract</i>)			Fraksi aktif (<i>Active fraction</i>)
		<i>n</i> -Heksana	Etanol	Petroleum eter	
Saponin	+	-	++	++	-
Alkaloid	+++	+	-	-	+++
Flavonoid	+++	+++	++	+	-
Terpenoid	+++	+++	-	+++	++
Tanin	+	+	-	+	-

Keterangan (*Remark*): + = menunjukkan keberadaan secara kualitatif (*Qualitatively present*)

B. Golongan Senyawa Insektisida

Senyawa insektisida dari bungkil biji jarak pagar diekstraksi dengan alat soklet untuk mendapatkan ekstrak kasar bungkil biji jarak pagar sebanyak-banyaknya dengan meminimumkan penggunaan pelarut. Rendemen rata-rata ekstrak kasar yang dihasilkan dari setiap pelarut disajikan pada Gambar 1. Polaritas pelarut yang berbeda-beda menghasilkan rendemen ekstrak ini berbeda pula. Pelarut yang paling non-polar, yaitu *n*-heksana menghasilkan ekstrak kasar yang paling banyak yaitu 50,64%. Hal ini menunjukkan bahwa kemungkinan besar bungkil biji jarak pagar banyak mengandung senyawa-senyawa non polar. Berdasarkan hasil uji kualitatif (Tabel 1) ekstrak ini mengandung alkaloid, flavonoid, terpenoid dan tanin. Ekstrak kasar etanol mengandung saponin dan flavonoid, sedangkan ekstrak kasar petroleum eter mengandung saponin, flavonoid, terpenoid dan tanin.

Berdasarkan hasil ekstraksi, senyawa golongan alkaloid yang umumnya bersifat polar tidak terdeteksi dalam ekstrak etanol dan petroleum eter tetapi terdeteksi dalam ekstrak *n*-heksana. Hal ini kemungkinan disebabkan senyawa alkaloid yang terdapat dalam bungkil biji jarak pagar ini mempunyai rantai yang lebih panjang atau cincin yang lebih banyak sehingga lebih terekstraksi oleh *n*-heksana dari pada etanol. Titik didih petroleum eter yang digunakan cukup kecil yaitu sebesar 40°C, sehingga diduga bobot molekul dari pelarut ini juga kecil yang menyebabkan pelarut ini lebih bersifat polar dibandingkan dengan senyawa alkaloid yang terdapat di dalam bungkil biji jarak pagar, akibatnya senyawa ini tidak terdeteksi di dalam ekstrak petroleum eter.

Gambar 1. Rendemen rata-rata ekstrak kasar bungkil biji jarak pagar dari berbagai jenis pelarut

Figure 1. Average yield of J.C extract using different kinds of solvent

C. Uji Efektivitas Insektisida

Ada dua uji yang digunakan untuk menguji efektivitas insektisida, yaitu uji penghambatan aktivitas makan dan uji mortalitas. Larva yang digunakan sebagai hewan uji ialah larva *C. pavonana* instar II, karena pada fase ini larva tersebut sangat aktif dan paling merusak daun.

1. Penghambatan aktivitas makan

Persen penghambatan aktivitas makan tertinggi terjadi pada daun yang dicelupkan ke dalam ekstrak kasar *n*-heksana seperti terlihat pada Gambar 2. Pada konsentrasi 3% (b/v), persen penghambatan aktivitas makan dari ekstrak kasar *n*-heksana hampir lima kali dibandingkan ekstrak etanol dan hampir dua kali dibandingkan ekstrak petroleum eter. Berdasarkan uji ini ekstrak kasar *n*-heksana merupakan ekstrak yang paling aktif terhadap larva. Persen penghambatan makan sebanding dengan kenaikan konsentrasi ekstrak yang diujikan.

Gambar 2. Kurva persen penghambatan aktivitas makan larva terhadap ekstrak kasar bungkil biji jarak pagar pada berbagai konsentrasi

Figure 2. Eating reduction percentage of J.C cake extract by larvae at several concentration levels

Hasil uji statistik menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak kasar *n*-heksana memberikan pengaruh yang berbeda pada penghambatan aktivitas makan, ini didukung oleh uji lanjut menggunakan uji Duncan. Menurut uji ini, konsentrasi 1%, 3% dan 5% memberikan pengaruh yang sama. Tetapi, konsentrasi 10% dan 15% tidak sama dengan pengaruh konsentrasi 1% dalam memberikan pengaruh pada penghambatan aktivitas makan. Hal serupa juga terjadi pada ekstrak kasar etanol, dalam ekstrak ini konsentrasi 5% tidak sama dengan 15% dalam memberikan pengaruh pada penghambatan aktivitas makan. Fenomena ini tidak terjadi pada ekstrak kasar petroleum eter, karena setiap konsentrasi dalam ekstrak ini memberikan pengaruh yang sama. Berdasarkan uji statistik, ketiga jenis ekstrak memiliki perbedaan yang cukup nyata terhadap penghambatan aktivitas makan larva.

2. Mortalitas

Berdasarkan uji mortalitas didapatkan bahwa ekstrak kasar *n*-heksana merupakan ekstrak yang menyebabkan kematian larva terbesar. Pada hari pertama, konsentrasi 1% (b/v) ekstrak ini dapat menyebabkan kematian larva 13%, dan pada hari ke-3 semua larva mati (Gambar 3).

Gambar 3. Kurva kematian larva *C. pavonana* instar II dalam berbagai konsentrasi ekstrak *n*-heksana

Figure 3. Mortality curve of *C. pavonana* instar II larvae in several concentrations of *n*-hexane extract

Ekstrak kasar etanol (1% (b/v)) pada hari pertama dapat menyebabkan kematian larva 6%, 10% pada hari ke-2, dan 20% pada hari ke-3. Ekstrak kasar petroleum eter (1 % (b/v)), pada hari pertama dapat menyebabkan kematian larva 12%, dan 26% pada hari ke-2, serta dua kali lipat pada hari ke-3. Perkembangan interaksi larva terhadap ekstrak kasar etanol dan petroleum eter disajikan pada Gambar 4 dan 5. Dalam uji ini digunakan pelarut sebagai kontrol untuk mengetahui pengaruh pelarut terhadap kematian larva. Dari hasil yang diperoleh diketahui bahwa pelarut tidak menyebabkan kematian larva.

Gambar 4. Kurva perkembangan interaksi larva *C. pavonana* instar II terhadap ekstrak kasar etanol

Figure 4. Mortality curve of *C. pavonana* instar II larvae in several

Gambar 5. Kurva perkembangan interaksi larva *C. pavonana* instar II terhadap ekstrak kasar petroleum eter

Figure 5. Mortality curve of *C. pavonana* instar II larvae in several concentrations of crude petroleum ether

Ekstrak kasar *n*-heksana memiliki nilai LC_{50} terkecil yaitu 2,21% (b/v), sehingga ekstrak ini merupakan ekstrak yang paling aktif terhadap larva. Nilai LC_{50} dan LC_{95} untuk setiap ekstrak disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Nilai LC_{50} dan LC_{95} untuk setiap ekstrak

Table 2. Value of LC_{50} and LC_{95} of every extract

Jenis ekstrak (Kind of extracts)	LC_{50} (%,b/v)	LC_{95} (%,b/v)
Petroleum eter	9,86	153,96
<i>n</i> -Heksana (Hexane)	2,21	9,56
Etanol (Ethanol)	17,41	151,18

Berdasarkan uji statistik, konsentrasi, hari maupun interaksi antara keduanya pada ekstrak kasar *n*-heksana dan ekstrak kasar etanol tidak memberikan pengaruh yang berbeda terhadap kematian larva. Berbeda dengan ekstrak kasar petroleum eter, dalam ekstrak ini konsentrasi dan hari memberikan pengaruh yang berbeda sedangkan interaksi antara keduanya memberikan pengaruh yang sama pada kematian larva. Berdasarkan uji Duncan, hari pertama dan hari ke-2 memberikan pengaruh yang sama terhadap kematian larva dalam ekstrak ini. Akan tetapi, hari pertama tidak sama dengan hari ke-3. Konsentrasi 1%, 3%, 5% dan 10% dalam ekstrak kasar petroleum eter memberikan pengaruh yang sama terhadap kematian larva. Akan tetapi, pengaruh konsentrasi 10% dan 15% tidak sama dengan konsentrasi 1%. Aktivitas insektisida ekstrak ini jauh lebih tinggi dibandingkan insektisida sintetik (Decis 2.5 EC) yang hanya memiliki persen mortalitas sebesar 40% untuk hari pertama. Berdasarkan dua jenis uji insektisida yang digunakan, ekstrak kasar *n*-heksana merupakan ekstrak yang paling aktif, sehingga ekstrak ini difraksinasi untuk mengetahui fraksi yang paling aktif terhadap larva.

D. Fraksi Ekstrak Kasar *n*-Heksana

Sebelum dilakukan fraksinasi terhadap ekstrak kasar *n*-heksana, terlebih dahulu dilakukan pemilihan eluen terbaik menggunakan KLT. Eluen terbaik yang didapatkan adalah *n*-heksana, etil asetat, asam asetat (9 ; 1 ; 0,1) karena dapat memberikan pemisahan spot yang cukup baik (Gambar 6). Komposisi eluen tersebut digunakan dalam pemisahan menggunakan kolom kromatografi dan digunakan juga sebagai eluen untuk memantau tiap fraksi yang didapatkan.

Fraksinasi ekstrak kasar *n*-heksana dilakukan dengan kromatografi kolom dengan isokratik eluen. Fraksinasi menghasilkan 120 tabung, kemudian dari pemantauan KLT menggunakan eluen terbaik dengan pewarna uap 12 didapatkan tiga fraksi. Ciri fisik dan rendemen dari tiap fraksi ditampilkan pada Tabel 3. Rendemen hasil fraksinasi yang didapatkan sangat kecil disebabkan ada sebagian fraksi yang tertahan di kolom, sehingga diperkirakan fraksi yang tertahan tersebut bersifat polar. Fraksi-fraksi tersebut kemudian diuji aktivitasnya terhadap insektisida.

Gambar 6. Pola KLT ekstrak kasar *n*-heksana menggunakan *n*-heksana etil asetat dan asam asetat (9 ; 1 ; 0,1)

Figure 6. KLT pattern of *n*-hexane crude extract using *n*-hexane, ethyl acetate and acetic acid

Tabel 3. Hasil fraksinasi dan 2,89 g ekstrak kasar *n*-heksana
Table 3. Fractionation results of 2.89 g *n*-hexane crude extract

Fraksi (Fraction)	Bentuk (Form)	Warna (Color)	Rendemen (Yield,%)
1.	Minyak (Oil)	Kuning (Yellow) (+++)	2,85
2.	Pasta (Paste)	Kuning kecokelatan (Brownish yellow) (+++)	1,45
3.	Minyak (Oil)	Kuning (Yellow) (++)	0,13

Keterangan (Remark): + = Intensitas warna (Color intensity)

E. Aktivitas Insektisida

Fraksi-fraksi yang diperoleh selanjutnya diuji aktivitas insektisidanya pada LC_{50} (2,21% (b/v)), yang meliputi uji mortalitas dan uji penghambatan aktivitas makan. Uji mortalitas menunjukkan bahwa fraksi I memiliki persen kematian yang paling tinggi yaitu sebesar 98%. Perkembangan interaksi larva terhadap fraksi-fraksi ekstrak kasar *n*-heksana disajikan pada Gambar 7. Uji penghambatan aktivitas makan menunjukkan bahwa fraksi I dapat menghambat aktivitas makan larva sebesar 90,04%, fraksi II 92,40% dan fraksi III 92,40%. Dari kedua uji ini dapat dilihat, bahwa fraksi I merupakan fraksi yang paling aktif terhadap larva. Fraksi ini kemudian dianalisis lebih lanjut untuk dicirikan.

Hasil uji statistik menunjukkan bahwa lamanya hari memberikan pengaruh yang sama terhadap kematian larva dalam fraksi-fraksi tersebut. Insektisida sintetik sebagai insektisida pembanding digunakan untuk melihat efektivitas dari insektisida botani. Insektisida sintetik yang digunakan adalah Decis 2.5 EC yang umum digunakan untuk mengendalikan hama *C. pavonana* pada tanaman kubis. Bahan aktif yang terdapat pada insektisida ini adalah Deltametrin.

Gambar 7. Kurva perkembangan interaksi larva *C. pavonana* instar II terhadap fraksi-fraksi ekstrak kasar *n*-heksana

Figure 7. Mortality curve of *C. pavonana* instar II larvae in every *n*-hexane crude extract fractions

F. Ciri Fraksi Aktif

Kesulitan yang didapatkan pada saat pencirian struktur senyawa insektisida dari ekstrak bungkil biji jarak pagar ini adalah cuplikan sampel hasil fraksinasi yang sangat sedikit, sehingga sulit untuk dimurnikan. Oleh sebab itu, analisis hanya mengarah pada pencirian fraksi. Dalam hal ini ketiga fraksi tidak dianalisis semuanya, akan tetapi dipilih berdasarkan fraksi yang mempunyai aktivitas insektisida yang paling tinggi yaitu fraksi I. Pencirian fraksi aktif ini meliputi uji fitokimia, spektrofotometri UV, FTIR dan GC-MS. Dari hasil uji fitokimia (Tabel 2), diketahui bahwa fraksi I termasuk senyawa golongan alkaloid dan terpenoid.

Kromatogram GC menggambarkan bahwa fraksi I masih mengandung banyak senyawa dan ini menunjukkan bahwa sampel belum murni. Kemungkinan lain juga bisa disebabkan molekul-molekul yang terdegradasi karena adanya pemanasan yang tinggi pada saat analisis, sehingga puncak-puncak yang muncul adalah puncak dari fragmen hasil degradasi. Dalam spektrum UV, fraksi I menunjukkan serapan maksimum pada $\lambda = 230$ nm. Serapan ini menunjukkan bahwa transisi energi yang mungkin terjadi adalah dari $\pi \rightarrow \pi^*$, transisi ini dihasilkan oleh kromofor $-C=C$, $-C=O$, $-C=C$ aromatik, $C=C$, $-C=C-CO$ dan benzena (Sudjadi, 1983), sehingga dapat diketahui bahwa fraksi I mempunyai satu atau lebih kromofor tersebut.

Pola spektrum IR dari fraksi I (Gambar 8) menunjukkan adanya absorpsi uluran NH yang jelas pada $3000 - 3700\text{ cm}^{-1}$, absorpsi ini menunjukkan satu puncak sehingga diketahui terdapat gugus amina sekunder yang merupakan ciri khas dari senyawa golongan alkaloid (Sudjadi, 1983). Serapan yang disebabkan oleh uluran C-H dan CH_2 dan CH_3 terlihat pada daerah $2800 - 3000\text{ cm}^{-1}$. Serapan regang $C=O$ terjadi di sekitar 1752 cm^{-1} . Ciri khas serapan triterpenoid muncul pada panjang gelombang $1600 - 1700\text{ cm}^{-1}$ berupa serapan cukup lebar dan lemah yang menandai adanya serapan regang CH dan CH_2 yang merupakan ciri khas dari sikloheksana (Sudjadi, 1983). Dari citra spektrum tersebut, diketahui bahwa fraksi I selain mengandung senyawa alkaloid juga mengandung triterpenoid, sesuai dengan hasil uji fitokimia. Preparasi sampel pada Spektrofotometri IR dilakukan dengan cara mengoleskan sampel pada lempeng KBr sebagai pelat transparan.

Gambar 8. Pola spektrum IR dari fraksi I
Figure 8. IR spectrum pattern of fraction I

Hasil analisis menggunakan GC-MS dari 9 senyawa yang terdapat pada fraksi I masing-masing mempunyai bobot molekul sebesar 486, 236, 264, 256, 264, 282, 284 dan 281 seperti yang terlihat pada Gambar 9.

Gambar 9. Kromatogram GC-MS fraksi I
Figure 9. GC-MS chromatogram pattern of fraction I

IV. KESIMPULAN DAN SARAN

1. Dibanding dengan pelarut petroleum eter dan etanol, pelarut *n*-heksana menghasilkan ekstrak kasar paling tinggi rendemennya yaitu 50,64%, karena memiliki sifat tertinggi didalam polaritasnya. Adapun senyawa fitokimia yang terkandung dalam ekstrak *n*-heksana adalah alkaloid, flavonoid, terpenoid dan tanin.
2. Persen penghambatan aktivitas makan larva *C. pavonana* instar II. tertinggi dihasilkan oleh ekstrak *n*-heksana pada konsentrasi 3%. Demikian juga dengan uji mortalitas, ekstrak *n*-heksana memberikan tingkat kematian larva terbesar dibanding ekstrak lainnya. Dengan ekstrak *n*-heksana semua larva mati pada hari ke-3, dengan ekstrak etanol hanya 20% yang mati, sedang dengan petroleum eter tidak ada yang mati.
3. Ekstrak *n*-heksana memiliki nilai LC_{50} dan LC_{95} terendah atau merupakan ekstrak yang paling efektif terhadap larva. Efektivitas ekstrak *n*-heksana lebih tinggi dan pada insektisida sintetik (Decis 2.5 EC).
4. Pemisahan ekstrak *n*-heksana ke dalam fraksinya menggunakan kolom kromatografi menghasilkan fraksi I yang paling efektif karena mampu menghambat aktivitas makan larva 90,04% dan menyebabkan kematian larva 98%. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa fraksi I terdiri dari senyawa golongan alkaloid dan terpenoid.

5. Dari hasil penelitian ini disarankan, perlu dilakukan lagi pemurnian dengan rekristalisasi terhadap fraksi yang memiliki aktivitas insektisida paling tinggi, yang dapat dianalisis dengan menggunakan resonansi magnet inti dan proses penentuan struktur senyawa insektisida yang lebih akurat, sehingga strukturnya dapat diketahui dengan lebih jelas dan rinci.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustian, H.Y. 2003. Sifat fisiko kimia biodiesel jarak pagar (*Jatropha curcas* L.), suatu sumber energi alternatif terbarukan. Skripsi SI, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, IPB. Bogor.
- Brodjonegoro, T.P., I.K. Reksowardoyo, dan T.H. Soerawidjaya. 2006. Jarak pagar sang primadona [*Ulasan*]. *Sci* 4 : 24. Departemen Teknik Kimia, ITB. Bandung. [terhubung berkala] <http://gerbangkota.multiply.com/reviewus/item/9> [12 Juli 2006].
- Harborne, J.B. 1996. Metode Fitokimia : Penuntun cara modern menganalisis tumbuhan. Terjemahan K. Padmawinata & I. Sudiro. Penerbit ITB. Bandung.
- Juan, L., F. Yang, L. Tang, and C. Fang. 2003. Antitumor effects of curcin from seeds of *Jatropha curcas*. *Acta Parmacol.* 6:1 [terhubung berkala] <http://www.chinaphar.com/1671-4083/24/241.pdf>. [19 November 2006].
- Manurung, R. 2005. Straight Jatropha Oil : promising green fuel. *Jatropha Oil* 46 : 25. [terhubung berkala].
- Muniappan, R., C. Junard, and B. Jesse. 2005. Trap crops for diamondback moth and other crucifer pests in Guam. *Hayati* 1 : 3 [terhubung berkala]. <http://enthomol.Traps.com/journal/hayati> [1 Desember 2005].
- Rusman. 2002. Penapisan senyawa insektisida dan ekstrak daun picung (*Panguium edule* Reinw). Skripsi SI, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, IPB. Bogor.
- Sinaga, E. 2005. *Jatropha curcas* L. Jarak pagar 4 : 3. [terhubung berkala]. http://www.apjii.or.id/artikel/ttg_tanaman_obat/unas/jarakpagar.pdf. [18 Januari 2006].
- Sudjadi. 1983. Penentuan struktur molekul organik. Ghalia Indonesia. Bandung.
- Sudradjat, R. 2006. Memproduksi biodiesel jarak pagar. Seri Argitekno. Penebar Swadaya. Jakarta.