

**FITOKIMIA DAN UJI BIOINSEKTISIDA ISOLAT DARI EKSTRAK KULIT BATANG
TUMBUHAN NYIRI BATU TERHADAP ULAT GRAYAK**

**PHYTOCHEMICAL and BIO-INSECTICIDES TEST ISOLATES FROM STEM BARK OF
NYIRI BATU PLANTS EXTRACT AGAINST ARMYWORM (*Spodoptera litura*)**

Nurul Aini* dan Tukiran

Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural sciences

State University of Surabaya

Jl. Ketintang Surabaya (60231), Telp. 031-8298761

*Corresponding author, email: nhey_capond@yahoo.com

Abstrak. Telah dilakukan penelitian tentang uji fitokimia dan uji bioinsektisida isolat dari ekstrak kulit batang tumbuhan nyiri batu (*Xylocarpus moluccensis*) terhadap ulat grayak. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan kimia kulit batang tumbuhan nyiri batu serta untuk mengetahui potensi isolat kloroform sebagai insektisida nabati yang dapat membunuh ulat grayak *Spodoptera litura*. Kandungan kimia yang diuji pada penelitian ini meliputi alkaloid, steroid/triterpenoid, flavonoid, tanin, saponin, fenolik, dan aromatik. Sementara untuk uji bioinsektisida jenis ulat grayak yang digunakan yaitu *Spodoptera litura* instar ketiga. Pada uji bioinsektisida ini menggunakan 7 variasi konsentrasi (0, 2, 4, 8, 16, 32 dan 64 mg/L) yang diamati selama 3 hari. Nilai LC_{50} ditentukan dengan analisis probit menggunakan program Minitab versi 14. Hasil penelitian untuk uji fitokimia menunjukkan bahwa kulit batang tumbuhan nyiri batu mengandung komponen kimia yakni steroid, fenolik, flavonoid, saponin, dan tanin. Kemudian hasil penelitian untuk uji bioinsektisida isolat kloroform nyiri batu dapat mematikan ulat grayak *Spodoptera litura* instar ketiga dengan nilai LC_{50} sebesar 98,6339 mg/L.

Kata kunci: fitokimia, bioinsektisida, nyiri batu, ulat grayak.

Abstract. Research on phytochemicals and bioinsecticide test isolates from the stem bark extract of the plant nyiri batu has been done. Research aimed to determine the chemical constituents of the plant bark and nyiri batu chloroform isolate potential as natural insecticide that can kill armyworms. Chemical content was tested in this research including alkaloids, steroidal, triterpenoid, flavonoids, tannins, saponins, phenolic and aromatic. While of bioinsecticide test for assay of Armyworm used is *Spodoptera litura* third instar. On this bioinsecticide test used 7 variations of concentration (0, 2, 4, 8, 16, 32 and 64 mg/L) observed for 3 days. LC_{50} values determined by the probit analysis using Minitab program version 14. Results of the reserarch to phytochemicals test showed that plants contain chemical components such as steroids, saponins, flavonoids, phenolic and tannin. Then the results of the research to bioinsecticide test isolates of chloroform nyiri batu can cause deadly Armyworm *Spodoptera litura* third instar with LC_{50} values of 98,6339 mg/L.

Keyword: bioinsecticides, nyiri batu, phytochemicals, *Spodoptera litura*.

PENDAHULUAN

Bioinsektisida umumnya tidak menimbulkan residu sehingga aman bagi kesehatan manusia. Oleh karena itu penelitian terkait bioinsektisida secara kontinyu dikembangkan sebagai solusi masalah penggunaan insektisida sintetik. Famili tumbuhan yang dianggap merupakan sumber potensi insektisida nabati adalah Meliaceae [1].

Tumbuhan pada famili ini memiliki genus *Xylocarpus* yang dilaporkan mengandung senyawa metabolit sekunder yang memiliki aktivitas sebagai insektisida nabati. Tumbuhan ini merupakan jenis mangrove sejati yang kaya akan senyawa steroid, saponin, flavonoid, dan tanin [2]. Tumbuhan yang termasuk dalam genus *Xylocarpus* adalah *Xylocarpus granatum*, *Xylocarpus rumphii*, dan *Xylocarpus moluccensis* [3].

Delapan senyawa 8,9,30-phragmalin orto ester baru seperti xylocensin O dan xylocensin P, yang mana dari bagian kulit batang tumbuhan nyiri batu memperlihatkan aktivitas antifeedant kuat terhadap larva instar ketiga dari ulat grayak pada konsentrasi 500 ppm [3].

Di Sedati, Sidoarjo terdapat tumbuhan *Xylocarpus moluccensis* (nama lokal: Nyiri Batu). Berdasarkan kemotaksonomi tumbuhan *Xylocarpus moluccensis* mengandung senyawa kimia yang tidak jauh berbeda dari tumbuhan *Xylocarpus granatum*. Pada analisis fitokimia tumbuhan *Xylocarpus moluccensis* pada ekstrak kloroform diperoleh senyawa triterpenoid, steroid, alkaloid, saponin, flavonoid, dan senyawa fenolik [4].

Pada ekstrak heksana kulit batang tumbuhan nyiri batu telah berhasil diisolasi senyawa stigmasterol dan β -sitosterol [5], sedangkan pada ekstrak kloroform berhasil diisolasi senyawa 1-nonadecene, kamposterol, β -sitosterol, stigmasterol, dan 2-ethylhexyl-(4-methoxy)-cinnamate [6]. Hasil isolasi tersebut mempunyai aktivitas bioinsektisida terhadap larva instar kedua dari *Spodoptera litura*.

Berdasarkan literatur yang telah dilakukan belum pernah ada penelitian mengenai uji bioinsektisida isolat kloroform kulit batang tumbuhan nyiri batu menggunakan ulat grayak instar ketiga. Hal ini dikarenakan ulat grayak bersifat polifag atau mempunyai kisaran inang yang cukup luas, sehingga diperlukan solusi yang tepat agar tanaman terbebas dari ulat grayak [7]. Sementara dipilihnya instar ketiga dikarenakan pada instar ketiga merupakan instar yang paling merusak pada tumbuhan [8].

Namun sebagai langkah awal potensi kulit batang tumbuhan nyiri batu sebagai insektisida nabati

tersebut dapat ditelusuri melalui uji fitokimia. Adapun komponen fitokimia yang akan diuji meliputi kandungan steroid/triterpenoid, alkaloid, flavonoid, fenolik, saponin, tanin, dan aromatik.

METODE

penelitian ini merupakan penelitian eksperimen (*True experimental*) dengan rancangan penelitian menggunakan jenis *the one shot case study*. Populasi penelitian ini adalah ulat grayak (*Spodoptera littura* Fabr.) yang diperoleh berasal dari BALITTAS di daerah Malang. Pada penelitian ini tujuh variasi konsentrasi isolat kloroform merupakan variabel manipulasi. Aquades, pakan ulat grayak, ulat grayak instar ketiga merupakan variabel kontrol, dan variabel terikatnya adalah mortalitas ulat grayak dengan pengamatan selama 3 hari.

Alat. Gelas kimia, corong, gelas ukur, timbangan digital, pipet tetes, kertas label, botol vial.

Bahan. Kloroform p.a, metanol teknis, pereaksi Mayer, FeCl_3 , pita Mg, aquades, soda kue, asam sulfat pekat, asam klorida pekat, NaCl 10%, gelatin 1%, kertas saring, ulat grayak instar ketiga.

Prosedur Kerja

Tahap Persiapan Sampel Nyiri Batu

Kulit batang tumbuhan nyiri batu dikupas kulitnya hingga terbebas dari kotoran yang menempel, dipotong kecil-kecil kemudian dikeringanginkan dan digiling hingga menjadi serbuk kering.

Tahap Ekstraksi Sampel Nyiri Batu

Sebanyak 9 kg serbuk kering nyiri batu diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan metanol selama 24 jam (1 hari) yang diulang hingga 3 kali. Filtrat dari hasil penyaringan dengan Buchner dilakukan evaporasi sampai terbentuk ekstrak kental metanol. Selanjutnya ekstrak kental metanol tersebut dilakukan ekstraksi kembali dengan cara partisi menggunakan pelarut kloroform p.a. Partisi yang dilakukan perlu pengocokan yang kuat agar dapat terjadinya pemisahan menjadi 2 fasa. Fasa bawah merupakan filtrat kloroform yang akan dievaporasi untuk mendapatkan ekstrak kental kloroform.

Tahap Uji Kandungan Fitokimia

Uji Alkaloid. Uji alkaloid dalam penelitian ini menggunakan metode Mayer. Sampel sebanyak 3 mL diletakkan dalam cawan porselin kemudian ditambahkan 5 mL HCl 2M, diaduk dan kemudian didinginkan pada suhu kamar. Setelah sampel dingin ditambahkan 0,5 g NaCl lalu diaduk dan disaring. Filtrat yang diperoleh ditambahkan HCl 2M sebanyak

3 tetes, kemudian ditambah dengan pereaksi Mayer. Apabila terbentuk endapan pada penambahan pereaksi Mayer maka menunjukkan sampel mengandung adanya alkaloid [9].

Uji Steroid. Sampel sebanyak 2 tetes ditempatkan dalam cawan porselin kemudian ditambah dengan larutan kloroform 2 tetes, 3 tetes larutan asetat anhidrat dan 2 tetes asam sulfat pekat. Uji ini biasanya disebut dengan uji Lieberman-Burchard. Apabila sampel berwarna hijau atau biru menandakan sampel mengandung senyawa steroid, dan apabila sampel berwarna merah, ungu, atau jingga maka sampel mengandung triterpenoid [9].

Uji Flavonoid. Sampel sebanyak 1 mL ditambah dengan pita magnesium kemudian diberi larutan HCl pekat sebanyak 2 tetes. Uji ini disebut uji Shinoda. Apabila hasil yang diperoleh berwarna orange, kuning, jingga atau merah maka sampel mengandung senyawa flavonoid [9].

Uji Tanin. Sampel sebanyak 1 mL ditambah dengan NaCl 10% untuk mengendapkan zat-zat lain dan kemudian disaring. Kemudian filtrat ditambah dengan larutan gelatin 1% dan larutan NaCl 10%. Apabila terdapat endapan maka sampel ekstrak kloroform menunjukkan adanya tanin.

Uji Fenolik. Sampel sebanyak 2 tetes ditempatkan pada cawan porselin. Kemudian ditambah 2-3 tetes larutan $FeCl_3$. Hasil positif diperlihatkan dengan terbentuknya warna hitam kebiruan, hijau, kuning, atau orange [9].

Uji Saponin. Uji saponin dilakukan dengan metode Forth yaitu dengan cara memasukkan 2 mL sampel ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 10 mL aquades dan dikocok selama 30 detik dan diamati perubahan yang terjadi. Apabila terbentuk buih atau busa yang tidak hilang selama 30 detik maka sampel mengandung saponin [9].

Uji Aromatik. Sampel sebanyak 1 mL ditambah dengan soda kue dan dikocok. Apabila timbul banyak busa maka sampel mengandung senyawa aromatik.

Tahap Uji Bioinsektisida

Pembuatan Larutan Induk

Membuat larutan induk 64 mg/L isolat kloroform. Sebanyak 0,016 gram isolat kloroform kulit batang tumbuhan nyiri batu dilarutkan dengan aquades. Kemudian diaduk hingga homogen. Setelah itu larutan tersebut dimasukkan ke dalam labu ukur 250 mL dan disaring dengan kertas saring, lalu ditambahkan aquades sampai tanda batas. Untuk membuat larutan isolat kloroform dengan beberapa konsentrasi yakni 0, 2, 4, 8, 16, 32 dan 64 mg/L dapat dilakukan dengan cara mengambil 0, 3,125, 6,25,

12,5, 25, 50 dan 100 mL dari larutan induk 64 mg/L. Larutan tersebut dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, ditambah Tween 80 dan dikocok sampai homogen. Setelah itu ditambah dengan aquades sampai tanda batas.

Pengujian Bioinsektisida

Larutan uji dimasukkan ke dalam tabung menara semprot potter dengan volume 10 mL. daun jarak kepyar yang sudah disemprot selanjutnya akan diangin-anginkan dalam udara terbuka. Setelah itu daun akan dimasukkan ke dalam toples plastik. Sementara itu, serangga uji yang digunakan yaitu ulat grayak instar ketiga sebanyak 15 ekor, disemprot juga dengan larutan uji. Toples ditutup dengan plastik yang diberi lubang sedikit. Pengamatan tingkat mortalitas dilakukan setiap hari selama 3x24 jam.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kulit batang nyiri batu diperoleh dari daerah Sedati, Sidoarjo, Jawa Timur. Sebanyak 30 kg, sampel dibersihkan, dipotong kecil-kecil, dan digiling hingga menjadi serbuk. Serbuk kulit batang dilakukan maserasi menggunakan pelarut metanol selama 24 jam. Ekstraksi dengan pelarut metanol ini bertujuan untuk mengikat senyawa-senyawa yang terdapat dalam kulit batang tumbuhan nyiri batu. Dari hasil maserasi akan didapatkan ekstrak metanol. Ekstrak metanol yang didapat selanjutnya dipartisi dengan pelarut kloroform menggunakan corong Buchner. Hasil pemisahan secara partisi diperoleh 2 fase yaitu fase atas merupakan komponen yang larut dalam metanol sedangkan fase bawah merupakan komponen yang larut dalam kloroform. Kemudian fase bawah dilakukan evaporasi yang diperoleh ekstrak kloroform nyiri batu.

Senyawa yang terkandung dalam ekstrak kloroform nyiri batu perlu dilakukan uji fitokimia. Uji ini meliputi uji steroid/triterpenoid, uji alkaloid, uji fenolik, uji aromatik, uji saponin, uji tanin, dan uji flavonoid. Hasil uji fitokimia ekstrak kloroform nyiri batu ditunjukkan pada Tabel 1 berikut.

Tabel 1. Data hasil uji fitokimia ekstrak kloroform nyiri batu

No	Kandungan Kimia	Hasil	Ket.
1.	Steroid/Triterpenoid	Hijau	+ (steroid)
2.	Alkaloid	Kuning (tidak ada endapan)	-
3.	Fenolik	Hijau	+
4.	Aromatik	Orange (tidak timbul buih)	-
5.	Saponin	Timbul busa	+
6.	Tanin	Endapan kuning	+
7.	Flavonoid	Orange	+

Hasil pengujian bioinsektisida isolat kloroform kulit batang tumbuhan nyiri batu dalam waktu pengamatan 3 hsp menunjukkan jumlah kematian larva yang ditunjukkan pada tabel 2 sebagai berikut.

Tabel 2. Data Jumlah Kematian Larva yang Mati Hingga 3 hsp

Konsentrasi (mg/L)	Jumlah Ulat (n)	Mortalitas Ulat (Jam)		
		24	48	72
0	45	0	0	0
2	45	1	2	2
4	45	2	2	3
8	45	3	6	8
16	45	7	9	12
32	45	10	15	23
64	45	12	21	28

Dilihat dari hasil di atas menunjukkan bahwa isolat kloroform memiliki daya toksik yang mematikan untuk ulat grayak instar ketiga pada setiap konsentrasi yang diujikan. Tingkat mortalitas ulat grayak *Spodoptera litura* dalam persen (%) dengan berbagai konsentrasi isolat kloroform kulit batang tumbuhan nyiri batu dapat dilihat pada tabel 3 berikut.

Tabel 3. Pengaruh Konsentrasi Terhadap Persen Mortalitas Ulat Grayak

Konsentrasi (mg/L)	Jumlah Ulat (n)	Mortalitas (%)
0	45	0
2	45	4,44
4	45	6,67
8	45	17,78
16	45	26,67
32	45	51,11
64	45	62,22

Dari data tabel di atas memperlihatkan bahwa untuk nilai persentase mortalitas *Spodoptera litura* 50% pada isolat kloroform tercapai pada konsentrasi 16-32 mg/L yaitu sebesar 26,67-51,11%.

Berdasarkan hasil dari analisis probit isolat kloroform nyiri batu untuk 1-3 hsp diperoleh nilai LC_{50} seperti pada tabel 4 berikut.

Tabel 4. Data Analisis Probit Nilai LC_{50}

hsp	LC_{50} (mg/L)
1	148,647
2	115,882
3	98,6339

Hasil analisis probit isolat kloroform nyiri batu terhadap ulat grayak *Spodoptera litura* menunjukkan bahwa hari yang ketiga bersifat paling toksik, yakni dengan nilai LC_{50} sebesar 98,6339 mg/L.

KESIMPULAN

- Berdasarkan analisis data di atas maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak kloroform kulit batang tumbuhan nyiri batu mengandung komponen kimia flavonoid, fenolik, steroid, tanin, dan saponin.
- Isolat kloroform kulit batang tumbuhan nyiri batu dapat mematikan ulat grayak *Spodoptera litura* instar ketiga dengan nilai LC_{50} sebesar 98,6339 mg/L.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kelancaran pelaksanaan penelitian ini atas dasar dukungan dana dari DP2M, Dikti TA 2013 pada akhir penelitian Hibah Bersaing sesuai dengan SK Rektor No. 081/UN38/HK/LT/2013 tanggal 7 Februari 2013. Untuk itu, penulis menghaturkan ucapan banyak terima kasih.

DAFTAR PUSTAKA

1. Setiawati, Wiwin, Rini Murtiningsih, Neni Gunaeni, Tati Rubiati. 2008. Tumbuhan bahan Pestisida nabati. Lembang : Balai Penelitian Tanaman Sayuran. *Prima Tani Balitsa*, ISBN : 978-979-8304-58-3.
2. Bandaranayake, W. M. 2002. Bioactivities, Bioactive Compounds and Chemical Constituents of Mangrove Plants. *Wetlands Ecology and Management*, 10, 421-452.
3. Wu, Jun. 2008. *Natural Product of Mangrove Plants and Marine Dinoflagellates*. China : Chinese Academy of Sciences.
4. Tukiran. 2013. Phytochemical Analysis of Some Plants In Indonesia. Surabaya : State University of Surabaya. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare*, 3(4), 2224-3208.
5. Taufiqurrahman, Mochammad. 2010. Isolasi, Identifikasi dan Uji Bioaktivitas Insektisida. *Skripsi* tidak dipublikasikan. Surabaya : Unesa.
6. Cahyasari, Septiani Setyo. 2011. Isolasi dan Identifikasi Suatu Senyawa Metabolit Sekunder serta Uji Bioaktivitas Insektisida Isolat dan Ekstrak Kloroform Kulit Batang Tumbuhan Nyiri Batu (*Xylocarpus moluccencis* (Lamk) M.Roem) (Meliaceae). *Skripsi* tidak dipublikasikan. Surabaya : Unesa.
7. Hakim, Lukman. 2011. *Hama Ulat Grayak (Spodoptera littura) Pada Tanaman Kedelai dan Teknik Pengendaliannya*. Aceh : Universitas Syiah Kuala.
8. Siswanto. 2013. Hama Utama Pada Cabai : Ulat Grayak, *Spodoptera littura* (Fabricius). <http://pengenalanhama.blogspot.com>., diakses tanggal 12 April 2014.
9. Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia : Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. ITB : Bandung.