

ISOLASI SENYAWA BIOAKTIF PENOLAK (*REPELLENT*) NYAMUK DARI EKSTRAK ASETON BATANG TUMBUHAN LEGUNDI (*Vitex trifolia*)

Mustanir dan Rosnani

Jurusan Kimia FMIPA Universitas Syiah Kuala, Darusalam Banda Aceh

ABSTRAK

Isolasi senyawa bioaktif penolak nyamuk dari ekstrak aseton batang tumbuhan legundi (*Vitex trifolia*) telah dilakukan di Jurusan Kimia FMIPA Universitas Syiah Kuala sejak Juni - Nopember 2006. Hasil uji fitokimia, kelompok metabolit sekunder di dalam batang legundi adalah senyawa : alkaloid, steroid, terpenoid, saponin dan flavonoid. Hasil maserasi sampel sebanyak 2.500 g diperoleh ekstrak metanol kasar sebanyak 169,76 g. Ekstrak tersebut dipartisi dengan pelarut aseton, diperoleh ekstrak aseton sebanyak 50 g, sedangkan ekstrak metanol (hasil partisi) sebanyak 92,71 g. Hasil kromatografi kolom vakum cair (KKVC) ekstrak aseton diperoleh 4 kelompok fraksi, masing-masing beratnya : 0,01 g; 0,1 g; 0,5 g dan 0,8 g. Selanjutnya ekstrak aseton fraksi 3 dan 4 diuji sifat penolaknya terhadap nyamuk dengan konsentrasi 1, 5, dan 10% terhadap tiga orang relawan selama satu jam. Secara umum dihasilkan bahwa baik ekstrak kasar maupun hasil fraksi aseton aktif sebagai repellent terhadap nyamuk. Berdasarkan kromatografi gas-spektrum massa (KG-SM), ekstrak aseton mengandung senyawa pestisida antara lain : sekondifolan dan jasmolin.

Kata kunci : *Vitex trifolia*, bioaktif, repellent

ABSTRACT

Isolation of Bioactive Repellent Compound from Acetone Extract of Vitex Trifolia Stalk

Study on repellency of acetone extract on legundi (Vitex trifolia) stalk to mosquitoes (Culicidae) was carried out at Departement of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Syiah Kuala University Since June to November 2006. Phytochemical analysis indicated that the extracts

contain of alkaloid, steroid, terpenoid, flavonoid and saponin. Vitex trifolia stalk of 2,500 g was maserated with methanol to obtain acetone extract amounting to 169.76 g. Partition of those extract with acetone, resulted in of 50 g extract, while methanol extract only of 92.71 g. Four fractions of acetone separated by liquid column vacuum chromatography (LCVC) were 0.01; 0.1; 0.5 and 0.8 g, respectively. The 3th and 4th of extract fractions of acetone legundi stalk were tested for its activity to mosquitoes with variation on concentration 1; 5 and 10%, and involve three volunteers at one hour. The result proved the activities of crude extract and extract fractions of acetone to repulsive mosquitoes. Characterization on the extract by using Gas Chromatography-Mass Spectra (GC-MS) showed that samples of acetone extract contained some pesticides such as secocondifolan, and jasmolin.

Keywords : *Vitex trifolia*, bioactive, repellent

PENDAHULUAN

Nyamuk merupakan serangga yang berbahaya bagi manusia, dan dapat menularkan penyakit kepada lebih dari 700 juta jiwa setiap tahunnya (Fradin *et al.*, 2002). Perlindungan terhadap gigitan serangga terutama nyamuk dapat dilakukan dengan cara menghindari habitat yang ditempati nyamuk, menggunakan pakaian yang terlindung dari serangan nyamuk, dan penggunaan pestisida, termasuk senyawa penolak serangga (*repellent*).

Penggunaan *repellent* umumnya tidak langsung mematikan serangga, namun lebih berfungsi untuk menolak kehadiran serangga, terutama

disebabkan oleh baunya yang menyengat (Novizan, 1992). *Repellent* yang banyak digunakan oleh masyarakat untuk menolak serangga adalah *repellent* sintetik yang merupakan hasil sintesis di laboratorium. Contoh dari *repellent* sintetik tersebut adalah *N,N*-dietil-*m*-toluamida yang digunakan untuk menolak nyamuk, dan *di-n*-propil-2,5-piridin dikarboksilat yang digunakan untuk menolak lalat rumah. Mengingat penggunaan *repellent* sintetik menimbulkan banyak efek negatif, perlu alternatif penggantinya. Hal ini disebabkan oleh bahan kimia yang diperdagangkan secara luas untuk bahan dasar dalam mensintesis *repellent* tersebut mengandung hidrokarbon terhalogenasi yang diketahui mempunyai waktu paruh turai relatif panjang dan dikuatirkan sifat racunnya (Flint and robert Van den Bosch, 1995). Berdasarkan hal tersebut, maka upaya pencarian senyawa alami yang dapat digunakan sebagai *repellent* lebih diutamakan.

Salah satu tumbuhan yang sering digunakan oleh masyarakat sebagai *repellent* adalah legundi (*Vitex trifolia*). *V. trifolia* banyak dijumpai di Aceh, dikenal dengan nama krepeng. Tumbuhan ini dapat digunakan sebagai anti malaria dan anti mikroba (Chowwanapoonpohn *et al.*, 2000). Penelitian terhadap pemanfaatan legundi sebagai *repellent* sangat terbatas. Secara tradisional ranting tumbuhan ini dipakai sebagai pengusir tikus, lipas atau nyamuk. Ekstrak heksana dan etil asetat dari tumbuhan ini aktif mengusir nyamuk, namun untuk ekstrak aseton dan metanol belum dilakukan. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat mengenai

efektifitas ekstrak aseton dari legundi beserta fraksi-fraksinya terhadap nyamuk (*Culicidae*), serta memberikan informasi baru di bidang ilmu pengetahuan mengenai senyawa yang bersifat *repellent*.

BAHAN DAN METODE

Sampel yang digunakan adalah batang legundi (*Vitex trifolia*) Famili *Verbenaceae* yang diambil di sekitar Desa Limpok, Kecamatan Darussalam, Aceh Besar, seperti terlihat pada Gambar 1.

Bioindikator yang digunakan adalah nyamuk (*Culicidae*) yang di biakkan terlebih dahulu dan sebagai alternatif juga digunakan nyamuk dari alam bebas. Sementara objek pengujian yang dilakukan adalah tiga orang relawan wanita yang berusia 21 tahun, sehingga diharapkan baik bioindikator maupun objek pengujian relatif homogen.



Coastal vitex growing on the frontal dune.

Gambar 1. Tumbuhan legundi (*Vitex trifolia*)

Figure 1. Legundi (*Vitex trifolia*) tree

Pemisahan ekstrak aseton dan ekstrak metanol batang legundi

Sampel batang tumbuhan legundi sebanyak 2.500 g dikeringanginkan pada suhu ruang, lalu dimaserasi dengan pelarut metanol. Selanjutnya disaring, filtratnya diuapkan dengan *rotary evaporator*, hasil penguapan ini diperoleh ekstrak metanol sebanyak 169,76 g. Ekstrak kasar metanol kemudian dipartisi dengan pelarut aseton. Hasil dari partisi tersebut diperoleh ekstrak metanol sebanyak 92,71 g dan ekstrak aseton sebanyak 50 g (2,04%). Selanjutnya 21 g (0,84%) ekstrak aseton dipisahkan dengan menggunakan kromatografi kolom vakum cair (KKVC) dengan fasa diam (silika gel GF₂₅₄ 60) dan fasa gerak (pelarut dengan gradien elusi) yaitu (*n*-heksana; 100%, *n*-heksana : aseton; 2:8). Setelah dilakukan KKVC diperoleh 18 fraksi. Kepolaran fraksi ini dimonitor dengan kromatografi lapis tipis (KLT).

Pengujian dan pengamatan aktivitas repellent terhadap nyamuk

Pengujian aktivitas repellent terhadap nyamuk dilakukan dengan mengoleskan ekstrak aseton dan ekstrak metanol batang legundi maupun fraksi-fraksinya pada lengan 3 orang relawan dengan 5 perlakuan yaitu : kontrol positif (losion anti nyamuk kemasan), kontrol negatif (pelarut), sampel dengan konsentrasi 1, 5 dan 10%. Diamati hinggapan nyamuk selama 1 jam dengan melakukan tiga kali ulangan.

Analisa data

Analisa data secara statistik dilakukan untuk menguji kebenaran

hipotesis dan guna mendukung data yang diperoleh dari penelitian. Uji statistik yang digunakan adalah metode analisa varian dan uji Tukey. Persen keaktifan diukur dengan menggunakan persamaan : (Rajkumar and Jebanesan, 2005).

$$ER(\%) = \frac{NC - NT}{NC} \times 100(\%)$$

Dimana :

ER = persen efektif repellency

NC = jumlah nyamuk kontrol

NT = jumlah nyamuk perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengujian fitokimia

Hasil pengujian fitokimia berdasarkan metode standar (Harborn, 1987) menunjukkan bahwa batang segar legundi mengandung metabolit sekunder seperti alkaloid, terpenoid, flavonoid dan steroid. Pada ekstrak aseton terdapat metabolit sekunder : alkaloid, terpenoid dan steroid. Sementara uji flavonoid dalam ekstrak aseton hasilnya negatif, kemungkinan kelompok senyawa ini tertarik ke pelarut yang lebih polar seperti metanol. Hasil pengujian keberadaan metabolit sekunder dapat dilihat pada Tabel 1.

Berdasarkan Tabel 1, batang segar maupun ekstrak aseton batang legundi mengandung jenis metabolit sekunder yang cukup bervariasi. Hasil uji fitokimia yang didapatkan akan digunakan sebagai acuan untuk menentukan kelompok senyawa aktif batang legundi yang dapat berfungsi sebagai repellent. Mursito (2002), menyatakan bahwa legundi memiliki kandungan kimia alkaloid dan terpenoid.

Tabel 1. Kandungan metabolit sekunder pada ekstrak segar, ekstrak aseton, dan fraksi-fraksi batang legundi

Table 1. Secondary metabolite content in fresh, acetone, and fractions extract of legundi stalk

No	Metabolit sekunder/ <i>secondary metabolite</i>	Sampel/Sample			
		Batang segar/ <i>fresh stalk</i>	Ekstrak aseton/ <i>fraction acetone</i>	Fraksi III/ <i>3th fraction</i>	Fraksi IV/ <i>4th fraction</i>
1.	Alkaloid	+	+	-	+
2.	Terpenoid	+	+	+	-
3.	Saponin	-	-	-	-
4.	Steroid	+	+	-	-
5.	Flavonoid	+	-	-	-

Keterangan : + = ada komponen senyawa, - = tidak ada komponen senyawa

Note : + mean there is compound component, - mean no compound component

Secara umum produk-produk metabolit sekunder merupakan suatu produk alami. Metabolit sekunder ini meskipun tidak sangat penting bagi eksistensi suatu individu, akan tetapi senyawa ini berperan pada kelangsungan hidup suatu spesies dalam menghadapi spesies lain (Manitto, 1992).

Kandungan kimia batang segar maupun ekstrak aseton yang dominan adalah alkaloid. Kemungkinan alkaloid inilah yang berfungsi sebagai *repellent*. Menurut Harborne (1987) alkaloid bersifat sebagai penghalau serangga. Selain itu, terpenoid juga dapat berfungsi sebagai *repellent*.

Karakterisasi ekstrak aseton dengan kromatografi gas-spektro-skopi massa (KG-SM)

Hasil karakterisasi ekstrak aseton dengan KG-SM, setelah diinterpretasi dengan mengacu data LIBRARY WILEY 229, NIST 62, dan PESTICD LIB yang ada di dalam data base dari KG-SM, maka diperoleh 10

senyawa penyusun utama ekstrak aseton batang legundi (Tabel 2).

Kesepuluh senyawa yang terkandung dalam batang legundi, dan yang paling dominan adalah : asam heksadekanoat dan jasmolin. Menurut Robinson (1995) jasmolin adalah suatu senyawa turunan *pyretrin* yang termasuk kelompok terpenoid dan merupakan salah satu senyawa yang dapat digunakan sebagai *repellent*. Asam heksadekanoat merupakan suatu asam karboksilat yang berbau khas. Jasmolin dan asam heksadekanoat diduga senyawa yang berperan sebagai *repellent* pada ekstrak aseton batang legundi. Selain itu, senyawa sekondifolan yang termasuk kelompok alkaloid, juga diduga sebagai *repellent*.

Tabel 2. Komponen dan komposisi penyusun ekstrak aseton batang legundi
 Table 2. Component and composition of legundi stalk extracted with acetone

No	Komponen/ component	Waktu retensi/ retention time	Komposisi (%)/ Composition (%)
1.	4-metil 4-hidroksi 2-Pentanon	5,150	4,6
2.	Benzil alkohol	9,767	4,52
3.	Metil ester-asam eikosanoid	25,383	2,53
4.	Asam heksadekanoat	26,008	28,22
5.	3-Desin-2-ol	27,750	2,79
6.	Dodekanal	27,900	4,29
7.	3,4-Sekokondifolan-3-on	28,283	5,10
8.	Jasmolin	28,358	23,35
9.	Di-(9-oktadesinol)-gliserol	28,417	15,55
10.	Asam oktadekanoat	28,648	9,07

Senyawa 4-hidroksi-4-metil-2-pentanon, ($C_6H_{12}O_2$) (a) dan 4-sekokondifolan-3-one, $C_{22}H_{30}N_2O_6$ (j) merupakan senyawa turunan keton yang terdeteksi dalam ekstrak aseton (WILEY 229. LIB). Senyawa sekokondifolan termasuk kelompok alkaloid, kemungkinan senyawa ini bekerja sebagai *repellent*. Menurut Harborne (1987) turunan senyawa alkaloid umumnya aktif sebagai bahan obat-obatan. Dodekanal (f) merupakan turunan aldehida. Menurut Fesesenden (1986) aldehida dan keton mempunyai bau yang khas. Bau yang dimiliki ini, diduga dapat merangsang saraf nyamuk. Sehingga, nyamuk akan pergi meninggalkan sampel.

Desinol, ($C_{10}H_{18}O$) (e) dan benzil alkohol, $C_{12}H_{24}O$ (b) merupakan suatu turunan alkohol (WILEY 229. LIB). Menurut Siswandono (1995) desinol adalah senyawa yang dapat digunakan sebagai *plasticizer* (pelunak), zat pelumas dan sebagai herbisida. Benzil alkohol biasanya digunakan dalam bidang obat-obatan, pewangi, pengawet dan sebagai bumbu masakan.

Senyawa turunan asam karboksilat dan ester yang terdapat dalam ekstrak aseton diantaranya : metil ester-asam eikosanoid, $C_{21}H_{42}O_2$ (c), asam heksadekanoat, $C_{16}H_{32}O_2$ (d), asam oktadekanoat, $C_{18}H_{36}O_2$ (h) dan di(9-oktadesinol)-gliserol, $C_{39}H_{72}O_5$ (g). Bau yang menyengat dari asam-asam lemak ini, kemungkinan dapat menolak atau menarik nyamuk untuk datang. Turunan piretrin yang terdapat dalam ekstrak aseton adalah jasmolin, $C_{21}H_{30}O_3$ (i) yang menurut Novizan (2002) dapat mengganggu jaringan saraf serangga/nyamuk, kemungkinan nyamuk akan menjauhi sampel.

Uji aktivitas *repellent* ekstrak aseton batang legundi terhadap nyamuk

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak aseton maupun fraksi-fraksi aseton hasil KKVC, kurang dihindangi nyamuk pada semua konsentrasi uji, artinya senyawa tersebut dapat menolak nyamuk. Bila dilihat jumlah nyamuk yang hinggap pada pelarut cukup banyak, dapat disimpulkan bahwa pelarut dapat berfungsi

dengan baik sebagai kontrol negatif. Begitu juga halnya dengan losion anti nyamuk kemasan dapat berfungsi dengan efektif sebagai kontrol positif (standar teruji). Hal ini mengidentifikasi bahwa ekstrak aseton dan juga fraksi-fraksinya efektif dapat berfungsi sebagai *repellent*. Hasil analisis menunjukkan ekstrak kasar aseton menghasilkan $F_h = 10,74 > F_{(\alpha=5\%)} = 3,48$; $F_{(\alpha=1\%)} = 5,99$. Fraksi III ekstrak aseton menghasilkan $F_h = 19,60 > F_{(\alpha=5\%)} = 3,48$; $F_{(\alpha=1\%)} = 5,99$. Sedangkan, Fraksi IV ekstrak aseton menghasilkan $F_{(\alpha=1\%)} = 5,99 > F_h = 4,00 > F_{(\alpha=5\%)} = 3,48$. Ekstrak aseton dan fraksi-fraksi eseton dapat digunakan sebagai *repellent* (penolak) nyamuk. Hasil analisis Tukey terhadap ekstrak aseton didapatkan bahwa kontrol positif sangat berbeda nyata dengan kontrol negatif. Terlihat bahwa $Q_h > Q_t$, ($Q_h = 18,67 > Q_t (\alpha = 0,05) = 8,00$ dan $Q_t (\alpha = 0,01) = 10,44$). Kontrol positif tidak berbeda nyata dengan sampel 10% ($Q_h = 4,00 < Q_t (\alpha = 0,01) = 10,44$ dan $Q_t (\alpha = 0,05) = 8,00$), diduga senyawa yang terdapat dalam ekstrak aseton aktif sebagai *repellent* terhadap nyamuk. Kontrol negatif tidak berbeda nyata dengan sampel 1%, hal ini kemungkinan karena pada ekstrak 1% mengandung senyawa aktif dengan dosis/kadar yang rendah.

Fraksi III hasil KKVC ekstrak aseton, menunjukkan bahwa kontrol positif sangat berbeda nyata dengan kontrol negatif. Sedangkan, kontrol positif berbeda nyata dengan sampel 10% ($Q_t (\alpha = 0,01) = 4,36 > Q_h = 3,34 > Q_t (\alpha = 0,05) = 3,30$). Kontrol negatif sangat berbeda nyata dengan sampel.

Fraksi IV hasil KKVC ekstrak aseton, antara kontrol negatif (pelarut) tidak berbeda nyata dengan sampel ($Q_t (\alpha = 0,05) = 10,23$ dan $Q_t (\alpha = 0,01) = 13,51 > Q_h = 7,00$), hal ini kemungkinan senyawa fraksi IV tidak aktif sebagai *repellent* terhadap nyamuk.

Perlakuan variasi konsentrasi sampel tidak berpengaruh dalam menolak nyamuk. Berdasarkan uji Tukey (Q) bahwa ekstrak aseton memiliki nilai $Q_h < Q_t$, ($Q_h = 3,67 < Q_t = 10,44$: 8,00), begitu juga dengan fraksi III dan fraksi IV. Berdasarkan analisis statistik, fraksi IV kurang aktif. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh kelompok senyawa yang bertindak sebagai *repellent* dalam fraksi ini sangat sedikit sehingga tidak mampu menolak nyamuk. Secara keseluruhan dari semua sampel yang diuji, sampel yang efektif dalam menolak adalah ekstrak aseton. Hal ini mungkin disebabkan senyawa-senyawa ekstrak bekerja secara sinergis. Aktivitas penolak pada ekstrak aseton hasil partisi ditemui pada fraksi kelompok III dan IV adalah 78,94; 63,63; dan 50%.

KESIMPULAN

Hasil pengujian fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak aseton batang legundi mengandung metabolit sekunder : alkaloid, terpenoid dan steroid. Ekstrak aseton pada konsentrasi 10% memperlihatkan aktivitas yang baik dalam menolak nyamuk dibandingkan dengan kontrol negatif. Ekstrak aseton dan fraksi, batang tumbuhan legundi dapat digunakan sebagai penolak nyamuk (*repellent*), dengan aktivitas penolak : 78,94; 63,63; dan 50%.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan kepada Direktorat Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat (P3M), Direktorat Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional RI melalui dana penelitian, sehingga terlaksananya penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Chowwanapoonpohn, Sombat and B. Apiwat, 2000. Antimalarial activity *in vitro* of some natural extracts from *Vitex trifolia*. J. Sci. Fac. Chiang Mai Univ. 27 (1) : 9-13.
- Fesesenden, R., J., 1986. Kimia Organik, Jilid II, Erlangga, Jakarta. hal. 2-51.
- Flint, M. L. and R. Van den Bosch, 1995. Penerjemah: Kartini indah dan Jhon priyadi, Pengendalian Hama Terpadu. Kanisius, Yogyakarta, hal. 9-141.
- Fradin, M.D., S. Mark, and F. Day, 2002. Comparative efficacy of insect repellents against Mosquito Bites, The New England Journal of medicine 347 (1) : 13-18.
- Harbone, J. B., 1987. Metode Fitokimia Penentuan Cara Modern Menganalisa Tumbuhan (Penerjemah : Kokasih. P), Terbitan Kedua, ITB, Bandung, hal. 123-240.
- Manitto, P., 1992. Biosynthesis of Natural Product. Ellis Horwood Limited, Chichester, England. 3 p.
- Mursito, B., 2002. Ramuan Tradisional Untuk Penyakit Malaria, Penerbit Swadaya, Jakarta, hal. 58.
- Novizan, 2002. Membuat dan memanfaatkan Pestisida Ramah Lingkungan, Agro Media Pustaka, Jakarta, 22 hal.
- Rajkumar, S., and A. Jebanesan, 2005. Oviposition deterrent and skin repellent activities of *Solanum trilobatum* leaf extract against the malarial vector *Anopheles stephensi*. Journal of Insect Science 5 : 15-18.
- Robinson, T., 1995. Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi, (Penerjemah: Kosasih. P), ITB, Bandung, hal. 23.
- Siswandono, 1995. Kimia Medisinal. Fakultas Farmasi Unair, Surabaya. hal. 15.