

## Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Fraksi Aktif Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas L.*) dan Uji Aktivitas Larvasida terhadap Larva Nyamuk *Aedes aegypti*

Ika Pratiwi Khosimah Adinata<sup>a</sup>, Khairul Anam<sup>a\*</sup>, Dewi Kusri<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Organic Chemistry Laboratory, Chemistry Department, Faculty of Sciences and Mathematics, Diponegoro University, Jalan Prof. Soedarto, Tembalang, Semarang

\* Corresponding author: [k.anam@live.undip.ac.id](mailto:k.anam@live.undip.ac.id)

Article Info	Abstract
<p>Keywords : Identification, Phenolic acid, <i>Jatropha curcas L.</i>, Larvacide</p>	<p>Identification of secondary metabolite compound active fraction of jatropha (<i>Jatropha curcas L.</i>) and larvicidal activity test against <i>Aedes aegypti</i> mosquito have been done. The aims of this research were to know the ability of <i>Jatropha curcas L.</i> extract as larvae of <i>Aedes aegypti</i> mosquito and to isolate and identify the type of larvicidal compound contained in <i>Jatropha curcas L.</i> extract. The extraction was done by maceration method using ethanol solvent. The ethanol condensed extract was partitioned successively with n-hexane and ethyl acetate. From the results of larvaside activity test to fraction of n-hexane, ethyl acetate and water, it was found that ethyl acetate fraction had the highest activity with LC<sub>50</sub> value 0.11%. The ethyl acetate fraction is then fractionated using vacuum liquid chromatography twice to obtain the active isolate (EG<sub>3</sub> fraction). The active fraction isolates were suspected to contain phenolic acids that absorbed UV-Vis rays at 227 nm and 251 nm. The results of this analysis are reinforced by infrared spectrum analysis showing the presence of functional O-H functioning, aromatic C-H aromatic C and C=C aromatics which indicate the presence of phenol compounds. The presence of a C=O, C-O functional group of the carboxylic acid and the substituted benzene denotes the presence of a carboxylic acid, in which the functional group belonging to the isolate is identical to the phenolic acid functional group in general.</p>
<p>Kata Kunci: Identifikasi, Asam fenolat, <i>Jatropha curcas L.</i>, Larvasida</p>	<p>Abstrak</p> <p>Identifikasi senyawa metabolit sekunder fraksi aktif daun jarak pagar (<i>Jatropha curcas L.</i>) dan uji aktivitas larvasida terhadap nyamuk <i>Aedes aegypti</i> telah dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan ekstrak daun jarak pagar (<i>Jatropha curcas L.</i>) sebagai larvasida nyamuk <i>Aedes aegypti</i> serta mengisolasi dan mengidentifikasi jenis senyawa larvasida yang terkandung dalam ekstrak daun jarak pagar (<i>Jatropha curcas L.</i>). Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol. Ekstrak kental etanol dipartisi berturut-turut dengan n-heksana dan etil asetat. Dari hasil uji aktifitas larvasida terhadap fraksi n-heksana, etil asetat dan air diperoleh bahwa fraksi etil asetat memiliki aktifitas paling tinggi dengan nilai LC<sub>50</sub> 0,11%. Fraksi etil asetat kemudian difraksinasi menggunakan kromatografi cair vakum sebanyak dua kali hingga diperoleh isolat aktif (fraksi EG<sub>3</sub>). Isolat fraksi aktif diduga mengandung asam fenolat yang menyerap sinar UV-Vis pada λ<sub>max</sub> 227 nm dan 251 nm. Hasil analisis ini diperkuat dengan analisis spektrum inframerah yang menunjukkan adanya gugus fungsi O-H ulur, C-H aromatik ulur dan C=C aromatik yang menandakan adanya senyawa fenol. Adanya gugus fungsi C=O, C-O dari asam karboksilat dan benzen tersubstitusi menandakan adanya asam karboksilat, di mana gugus fungsi yang dimiliki isolat identik dengan gugus fungsi asam fenolat secara umum.</p>

## 1. Pendahuluan

Demam Berdarah Dengue (DBD) atau Dengue Haemorrhagic Fever (DHF) merupakan penyakit dengan angka kejadian yang cenderung meningkat di daerah tropis dan sub tropis. Demam Berdarah Dengue ditemukan pertama kali di Indonesia pada tahun 1968 melalui pelabuhan di Surabaya dan pada tahun 1980 DBD dilaporkan telah tersebar secara meluas serta melanda di seluruh propinsi di Indonesia [1]. Penyebab utama demam berdarah adalah nyamuk *Aedes aegypti* yang termasuk kelas Insekta. Penyakit yang ditularkan serangga saat ini masih merupakan masalah kesehatan di Indonesia, terutama malaria dan demam berdarah. Usaha pencegahan dan pengendalian terhadap serangan nyamuk *Aedes aegypti* sebagai vektor demam berdarah telah banyak dilakukan, yaitu dengan cara menurunkan populasi nyamuk atau dengan cara memutuskan siklus hidupnya. Salah satu cara pencegahan dan pengendalian terhadap serangan nyamuk *A. aegypti* dilakukan dengan memutus siklus hidup vektor menggunakan pestisida maupun pengendali hayati.

Untuk mengurangi dampak negatif yang diakibatkan oleh penggunaan insektisida sintetik perlu dicari cara pengendalian yang efektif terhadap penurunan populasi nyamuk dan aman terhadap lingkungan. Salah satu alternatif yang perlu dicoba adalah menggunakan insektisida nabati. Insektisida nabati merupakan bahan alami, bersifat mudah terurai di alam (*biodegradable*) sehingga tidak mencemari lingkungan dan relatif aman bagi manusia maupun ternak karena residunya mudah hilang [2].

Penelitian tentang tanaman yang berpotensi sebagai larvasida telah banyak dilakukan diantaranya adalah ekstrak tumbuhan kecubung yang bersifat toksik terhadap larva *Aedes aegypti* karena adanya senyawa saponin, kuinon dan steroid yang bekerja secara sinergis. Penelitian Kumar dan Maneemegalai [3] juga melaporkan bahwa pada ekstrak metanol dan etanol daun *Lantana camara L.* mengandung saponin dan flavonoid yang berfungsi sebagai larvasida *Aedes aegypti*. Salah satu tumbuhan dari genus *Jatropha* yang telah diketahui khasiatnya sebagai insektisida nabati adalah *Jatropha curcas L.* yaitu pada minyak bijinya. Minyak biji jarak pagar telah dilaporkan terbukti sebagai larvasida *Aedes aegypti*. Hasil analisis menunjukkan bahwa minyak biji jarak pagar mengandung senyawa aktif piperine golongan alkaloid jenis piperidine yang diduga sebagai larvasida. Bagian lain dari tumbuhan ini yang sering dimanfaatkan adalah pada daunnya sebagai obat penyakit koreng dan gatal-gatal. Namun penelitian tentang daun jarak pagar sebagai larvasida nyamuk *Aedes aegypti* belum pernah dilaporkan. Nwokocha dkk. [4] menyebutkan bahwa daun jarak pagar (*Jatropha curcas L.*) mengandung senyawa alkaloid, saponin, tanin, fenolik dan flavonoid. Untuk itu, perlu diteliti apakah ekstrak daun jarak pagar (*Jatropha curcas L.*) juga bersifat sebagai larvasida nyamuk *Aedes aegypti* karena daun jarak pagar (*Jatropha curcas L.*) juga mengandung senyawa saponin, tannin, alkaloid, flavonoid dan fenolik.

## 2. Metode Penelitian

### Alat & Bahan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian adalah blender, gelas plastik, sendok plastik, botol semprot, erlenmeyer, botol vial, tabung reaksi, pipet tetes, pengaduk, gelas ukur, gelas beaker, plat tetes, corong pisah, corong kaca, rotary vacuum evaporator, neraca analitik, hot plate, pipa kapiler, seperangkat alat kromatografi (KLT dan kolom), spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu) dan spektrometer FTIR (Shimadzu). Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun jarak pagar, larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III, etanol, n-heksana, etil asetat, akuades, kertas saring, asam klorida, silika gel 60-H, plat silika gel GF254, benzena, metanol, kloroform, natrium asetat, asam asetat, diklorometana, aluminium klorida, metilen klorida, pereaksi Meyer (merkuri klorida p.a, kalium iodida p.a), pereaksi Dragendorff (larutan iodium, kalium iodida p.a, akuades), serbuk magnesium, asam sulfat p.a, uap amoniak, kloroform (teknis), pereaksi Steasny (formaldehid 30%, asam klorida (2:1)), pereaksi besi (III) klorida 1%, asam klorida pekat, akuades), ferri klorida 1%, diazo p-nitroanilin (natrium asetat p.a 20%, p-nitroanilin p.a 0,5% dalam asam klorida p.a 2 N, natrium nitrit p.a 5%), pereaksi Libermann-Buchad (anhidrida asam asetat p.a, asam sulfat pekat p.a).

### Prosedur Kerja

Sampel dalam penelitian ini adalah daun jarak pagar. Penyiapan bahan penelitian yang dilakukan diantaranya determinasi tanaman, pembersihan dari kotoran, pengeringan bahan dengan cara dianginanginkan dan penggilingan menjadi serbuk menggunakan blender. Sebanyak 2 Kg serbuk daun jarak pagar di maserasi dengan menggunakan pelarut etanol teknis sampai semua komponen habis terekstraksi. Ekstrak etanol yang diperoleh diuapkan dengan penguap putar vakum sampai kering dan bebas pelarut. Ekstrak etanol yang diperoleh kemudian dilarutkan dengan akuades panas lalu dipartisi dengan n-heksana dan etil asetat sehingga didapatkan fraksi n-heksana, etil asetat dan air. Pada serbuk daun, ekstrak etanol, fraksi n-heksana, etil asetat dan air daun jarak pagar (*Jatropha curcas L.*) dilakukan penapisan fitokimia [5]. Tahap selanjutnya yaitu pada masing-masing fraksi yang diperoleh, diuji aktivitas biologisnya terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*, sedangkan ekstrak. Fraksi yang paling aktif/ toksik kemudian dimurnikan dengan kromatografi lapis tipis dan kromatografi kolom. Hasil fraksi yang didapatkan dari pemisahan dengan kromatografi kolom selanjutnya digabungkan menggunakan KLT penggabungan.

Uji aktifitas larvasida pada masing-masing fraksi (fraksi n-heksana, etil asetat dan air) dilakukan dua kali. Uji yang pertama menggunakan konsentrasi masing-masing fraksi yaitu 0% (sebagai kontrol), 0,075%, 0,15%, dan 0,3% (b/v). Berdasarkan nilai LC<sub>50</sub> yang diperoleh dari uji pendahuluan, ditentukan 5 tingkatan konsentrasi uji pada fraksi n-heksana, etil asetat dan air serta 1 perlakuan kontrol. Setiap perlakuan menggunakan tiga ulangan dan setiap ulangan menggunakan 25 larva instar

III. Pengamatan dilakukan setelah 24 jam terhadap kematian larva nyamuk. Analisis data dilakukan untuk mencari konsentrasi kematian (LC<sub>50</sub>). Setelah proses pemisahan dan pemurnian terhadap isolat murni yang paling aktif dilakukan maka dilanjutkan dengan identifikasi dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-vis dan IR.

### 3. Hasil Dan Pembahasan

Hasil ekstraksi 2 Kg jarak pagar dengan cara maserasi menggunakan etanol didapatkan ekstrak kering etanol yang berwarna coklat kehitaman. Ekstrak etanol selanjutnya dilarutkan dengan 100 mL akuades panas dengan perbandingan 7:3 dan dipartisi dengan pelarut n-heksana dan etil asetat lalu fraksi hasil partisi yaitu fraksi n-heksana, etil asetat dan air diuji aktifitas larvasidanya. Hasil uji penapisan fitokimia pada serbuk daun, ekstrak etanol, fraksi n-heksana, etil asetat dan air daun jarak pagar (*Jatropha curcas L.*) dapat dilihat pada tabel 1.

Hasil uji masing-masing fraksi menunjukkan bahwa fraksi etil asetat adalah fraksi yang bersifat paling aktif terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* dengan nilai LC<sub>50</sub> 0,11%. Hasil uji aktifitas larvasida ditunjukkan pada tabel 2.

Fraksi etil asetat diuji fitokimia untuk identifikasi awal kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat di dalamnya. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa terdapat senyawa golongan steroid, alkaloid, flavonoid, dan tanin. Diduga, senyawa-senyawa tersebut yang berpotensi sebagai larvasida. Komponen tanin berperan sebagai pertahanan tanaman terhadap serangga dengan cara menghalangi serangga dalam mencerna makanan. Tanin dapat mengganggu serangga dalam mencerna makanan karena tanin akan mengikat protein dalam sistem pencernaan yang diperlukan serangga untuk pertumbuhan sehingga proses penyerapan protein dalam sistem pencernaan menjadi terganggu, akibatnya akan terjadi penurunan pertumbuhan. Sementara itu, alkaloid, terpenoid, dan flavonoid merupakan senyawa pertahanan tumbuhan yang dapat bersifat menghambat makan serangga dan juga bersifat toksik.

Tabel 1: Hasil uji fitokimia pada serbuk, ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air daun jarak pagar (*Jatropha curcas L.*)

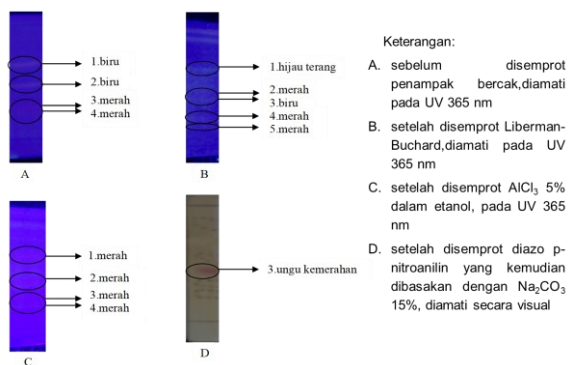
Golongan	Serbuk daun	Ekstrak Etanol	Fraksi n-heksan	Fraksi etil asetat	Fraksi air
Alkaloid	+	+	-	+	+
Flavonoid	+	+	-	+	-
Tanin	+	+	-	+	-
Saponin	+	+	-	-	+
Kuinon	-	-	-	-	-
Steroid/Triterpenoid	+	+	+	+	-

Tabel 2: Mortalitas Larva *Aedes aegypti* pada Perlakuan berbagai Fraksi pada Uji Utama

Bahan uji	Konsentrasi (%)	Lama Uji (jam)	Persen Mort. (%)	Nilai LC <sub>50</sub>
Fraksi n-heksana	0,04	24	4	0,16%
	0,08	24	8	
	0,16	24	36	
	0,32	24	96	
	0,64	24	100	
Fraksi etil asetat	0,03	24	0	0,11%
	0,06	24	16	
	0,12	24	68	
	0,24	24	88	
	0,48	24	98	
Fraksi air	0,29	24	12	1,85%
	0,58	24	16	
	1,16	24	32	
	2,32	24	60	
	4,64	24	76	
Kontrol	0	24	0	

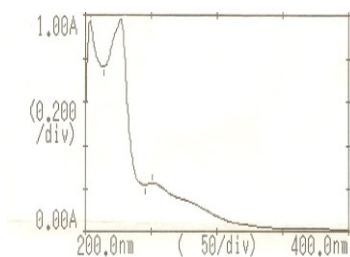
Pemisahan dan pemurnian komponen-komponen kimia pada fraksi etil asetat dilakukan dengan teknik kromatografi cair vakum (KCV). Sebanyak 10 gram fraksi etil asetat difraksinasi dengan KCV menggunakan fasa diam silika gel 60-H dengan fasa gerak campuran pelarut n-heksana-diklorometan-etil asetat-metanol dengan kepolaran meningkat. Hasil fraksinasi dianalisis komponen penyusunnya menggunakan metode KLT dengan fasa diam silika gel GF<sub>254</sub> dan fase geraknya kloroform-diklorometan (9:1). Fraksinasi menghasilkan 205 botol vial dan digabung menjadi 8 fraksi. Diketahui fraksi EG adalah fraksi dengan noda paling dominan lalu dari fraksi ini dilakukan KCV kembali dan hasil fraksinasi kemudian dianalisis komponen penyusunnya menggunakan metode KLT dengan fasa diam silika gel GF<sub>254</sub> dan fase geraknya kloroform-diklorometan (8:2). Fraksinasi menghasilkan menghasilkan 69 vial dan digabung menjadi 5 fraksi. Diketahui fraksi EG<sub>3</sub> memiliki noda paling dominan setelah disemprot dengan asam sulfat selanjutnya fraksi EG<sub>3</sub> diidentifikasi dengan berbagai penampak bercak Dragendrof (penampak bercak untuk alkaloid), AlCl<sub>3</sub> 5% dalam etanol (penampak bercak untuk flavanoid), Liberman-Buchard (penampak bercak untuk steroid/ triterpenoid), dan diazo p-nitroanilin yang kemudian dibasakan dengan Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 15% (penampak bercak untuk asam fenolat)). Hasil KLT fraksi EG<sub>3</sub> ditunjukkan pada gambar 1. Isolat yang memberikan reaksi positif terhadap penampak bercak (noda 3 pada gambar D) selanjutnya diuji kemurniannya menggunakan kromatografi lapis tipis dengan berbagai pelarut yang memiliki tingkat kepolaran berbeda, diantaranya n-heksana:etilasetat:metanol (30:2:1) nilai R<sub>f</sub> 0,57 ; benzena:diklorometan (9:1) nilai R<sub>f</sub> 0,78 ; benzena:asam asetat (9:1) nilai R<sub>f</sub> 0,67 ; aseton:etanol (8:2) nilai R<sub>f</sub> 0,45 ; benzena:kloroform (8:2) nilai R<sub>f</sub> 0,83. Hasil uji kemurnian menunjukkan bahwa isolat hasil isolasi hanya mengandung satu senyawa, yang ditunjukkan dengan

timbulnya satu noda dengan berbagai campuran eluen yang digunakan.



Gambar 1. Profil KLT fraksi EG3 dari ekstrak etil asetat daun jarak pagar dengan fase geraknya n-heksana-etil asetat-etanol (30:2:1)

Identifikasi dengan spektrofotometer UV-Vis menunjukkan isolat noda 3 memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang 227 nm dan 251 nm. Hasil spektrofotometri UV-Vis isolat noda 3 dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Spektra UV-Vis hasil isolasi (isolat noda 3) fraksi aktif (fraksi etil asetat) daun jarak pagar (*Jatropha curcas L.*)

Golongan senyawa asam fenolat tidak mempunyai panjang gelombang yang khas pada spektra UV-Vis. Nilai panjang gelombang dari beberapa asam fenolat dalam pelarut metanol ditunjukkan pada tabel 3.

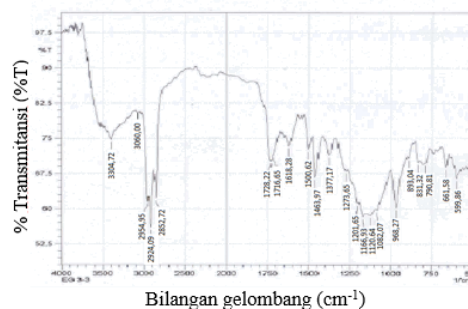
Tabel 3: Panjang gelombang maksimum ( $\lambda_{maks}$ ) senyawa asam fenolat

Asam Fenolat	$\lambda_{maksimum}$
Asam vanilat	249
Asam p-kumarat	292
Asam siringat	334
Asam kafeat	330
Asam benzoat	271
Asam salisilat	303
Asam ferulat	235

Panjang gelombang isolat noda 3 yang memberikan serapan pada panjang gelombang sebesar 227 nm dan 251 nm mendekati nilai panjang gelombang asam fenolat jenis asam vanilat (249 nm), namun belum bisa dipastikan bahwa isolat tersebut adalah asam fenolat jenis asan vanilat.

Karakterisasi dilanjutkan melalui analisis dengan metode spektrofotometri FTIR terhadap isolat menggunakan pelet KBr. Analisis dengan

spektrofotometri FTIR dilakukan untuk mengetahui gugus fungsi yang terdapat dalam isolat. Hasil spektra FTIR isolat noda 3 dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Spektra FTIR hasil isolasi (isolat noda 3) fraksi aktif (fraksi etil asetat) daun jarak pagar (*Jatropha curcas L.*)

Pada spektra TFIR di atas, dapat terlihat bahwa isolat memiliki gugus fungsi memiliki gugus fungsi O-H ulur, C-H aromatik ulur, C=C aromatik dan C-H aromatik tekuk yang menunjukkan adanya senyaw fenol. Gugus fungsi O-H (ulur dan tekuk ), C=O asam karboksilat ulur, C-O asam karboksilat ulur dan benzen tersubstitusi menunjukkan adanya asam karboksilat, dimana gugus fungsi yang dimiliki isolat identik dengan gugus fungsi asam fenolat secara umum. Berdasarkan hasil analisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan FTIR, jenis senyawa yang terdapat dalam isolat hasil isolasi adalah golongan asam fenolat.

#### 4. Kesimpulan

Fraksi n-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air daun jarak pagar (*Jatropha curcas L.*) memiliki aktivitas sebagai larvasida nyamuk *Aedes aegypti*. Fraksi etil asetat memiliki aktivitas paling kuat dengan nilai LC<sub>50</sub> sebesar 0,11%. Senyawa dominan yang terdapat dalam fraksi etil asetat daun jarak pagar (*Jatropha curcas L.*) adalah golongan asam fenolat.

#### 5. Daftar Pustaka

- [1] S. Gandahasada, H. H. D. Illahude, W. Pribadi, Parasitologi kedokteran, Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, Indonesia, 2006.
- [2] Evi Naria, Insektisida Nabati Untuk Rumah Tangga, USU e-journal, Sumatera Utara, 2009.
- [3] M Sathish Kumar, S Maneemegalai, Evaluation of larvicidal effect of Lantana camara Linn against mosquito species *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*, Advances in Biological Research, 2, 3-4, (2008) 39-43
- [4] A Nwokocha, IO Blessing, IO Agbagwa, BE Okoli, Comparative phytochemical screening of *Jatropha L.* species in the Niger Delta, Research Journal of Phytochemistry, 5, 2, (2011) 107-114 <http://dx.doi.org/10.3923/rjphyto.2011>.
- [5] Norman R. Farnsworth, Biological and phytochemical screening of plants, Journal of Pharmaceutical Sciences, 55, 3, (1966) 225-276 <http://dx.doi.org/10.1002/jps.2600550302>