

Triterpen Tipe Onoceranoida dari Daun Langsep (*Lansium domesticum* Corr.) dan Aktivitas Insektisidanya terhadap Larva *Spodoptera littura*
Onoceranoid Triterpene from Langsep Leaf (*Lansium domesticum* Corr.) and Its Insecticide Activity to *Spodoptera littura* Larvae

I Nyoman Adi Winata^{*}, Achmad Sjaifullah, Dita J. Cahyani, Woro D. Ayu
 Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jember
^{*)}Email: adiwinata152@gmail.com

ABSTRACT

Onoceranoid type of triterpene was isolated from leaf of langsep (*Lansium domesticum* Corr.) Isolation is conducted by vacuum and flash column chromatography technics with Silika Gel 60 F, Silika Gel 60 (70-230 mesh), and Sephadex LH-20 powder as stationery phase and mixture of dichloromethane, methanol, ethyl acetate as mobile phase. The structure was identified by Infrared and NMR spectroscopy. It has moderate insecticidal activity to *Spodoptera littura* larvae with LC50 13,6 ppm.

Keywords : triterpene, onoceranoid, insecticidal, Langsep, *L. domesticum* Corr

PENDAHULUAN

Eksplorasi dan pemanfaatan pestisida nabati sudah banyak dilakukan. Pemanfaatan Nimba (*Azadiracta indica*) sebagai pestisida nabati khususnya sebagai insektisida baik dalam bentuk ekstrak maupun senyawa murni yang ditemukan didalamnya, merupakan bukti nyata keberhasilan penelitian pengembangan pestisida nabati (Pankaj, et.al 2011). Mengingat akan melimpahnya kekayaan hayati yang dimiliki Indonesia, eksplorasi pestisida nabati yang lain masih perlu dilakukan. Asmaliyah, dkk (2010) telah menginventaris jenis tumbuhan dan pemanfaatannya sebagai biopestisida. Sebanyak 131 tanaman yang berasal dari enam propinsi di Sumatera telah digunakan secara tradisional sebagai biopestisida.

L. domesticum Corr. tumbuhan yang tersebar dikawasan Asia Tenggara, mulai Burma, Thailand, Malaysia, Vietnam, Filipina, dan Indonesia. Nama lokal disetiap negara juga beragam. Di Indonesia dikenal dengan nama duku, langsep, dan kokosan (Orwa et al, 2009). Daun dan kayu langsep (*L. domesticum* Corr.) secara tradisional digunakan oleh suku Dayak sebagai obat anti-malaria (Leaman et.al., 1995). Penelitian terhadap kandungan kimia dan aktivitas biologisnya telah banyak dilakukan. Kulit buah langsep (*L.domesticum* Corr.) dilaporkan mengandung senyawa triterpenoid dengan kerangka onoceranoida, andirobin, metilangolensat, mexicanolida, azadiradion, dan dukunolida. Senyawa triterpen jenis onoceranoida yang ditemukan diantaranya asam lansiolat, metil lansiolat, 3 β -

hidroksionocera-8(26), 14-dien-21-on, 21 α -hidroksionocera-8(26),14-dien-3-on, dan asam lansat, lansiosida A, lansiosida B, lansiosida A, iso-onoceratriena, onoceradiendion, 3-keto-22-hidroksi onoceradiena, asam-3-ketolansiolat, asam lansiolat, dan asam lansiolat A (Tanaka et al. 2002, Nishizawa et al. 1983, dan Omar et al. 2007) Enam senyawa terakhir cukup efektif sebagai *antifeedant* terhadap kutu beras (*Sitophilus oryzae*). Mayanti et al (2011) juga menemukan tiga senyawa terpenoid kerangka onoceranoida pada daun dan ranting kokosan (*L.domesticum* cv kokosan) yang aktif sebagai *antifeedant* terhadap larva *Epilachna vigintioctopunctata*.

Senyawa triterpen kelompok andirobin yang telah ditemukan pada daun *L. domesticum* Corr oleh Saewan et.al. (2006), yaitu domesticulida A dan domesticulida B. Domesticulida B cukup aktif sebagai antimalaria dengan IC₅₀ 3,2 μ g/mL, sementara domesticulida A tidak aktif dengan IC₅₀ >20 μ g/mL. Saewan et.al. (2006) juga menemukan ada lima senyawa jenis metilangolensat, dimana empat diantaranya memiliki aktivitas yang tinggi sebagai antimalaria. Domesticulida C, domesticulida D, metilangolensat, metil-6-hidroksi angolensat, dan metil-6-asetoksi angolensat. Hanya metil-6-hidroksi angolensat yang kurang aktif. Selain itu, Saewan et.al. (2006) juga menemukan senyawa triterpen dengan kerangka mexicanolida dan azadiradion yaitu domesticulida E, 6-hidroksimexicanolida, dan 6-asetoksimexicanolida, serta azadiradiona.

Senyawa yang merupakan ciri khas dari *L. domesticum* Corr. adalah kelompok dukunolida. Nishizawa et.al. (1983, 1988) berhasil mengisolasi dukunolida A-F. Keenam senyawa yang merupakan penyebab rasa pahit ini, telah diketahui strukturnya secara pasti melalui difraksi sinar X. Selain itu, hasil penelitian Saewan et.al. (2006) juga menunjukkan dukunolida C bersifat aktif sebagai antimalaria dengan IC_{50} 5,2 μ g/mL.

Studi literatur menunjukkan tanaman ini memiliki keanekaragaman yang tinggi meskipun kerangka molekulnya hampir sama. Kondisi alam dimana sampel diambil mungkin cukup berpengaruh. Cannel (1998) menyatakan bahwa senyawa yang sama akan diproduksi dengan sumber (bahan) yang sama tetapi melalui cara yang berbeda meskipun spesies tumbuhannya sama. Karena proses biosintesisnya (produksi) berbeda, tentu senyawa antara yang terlibat berbeda-beda. Kondisi alam disekitarnya juga berpengaruh terhadap keanekaragaman metabolit sekunder yang dikandungnya, mengingat salah satu fungsi senyawa ini adalah sebagai alat pertahanan. Berikut ini diuraikan isolasi, identifikasi struktur, dan uji aktivitas senyawa bioaktif dari daun langsep (*L. domesticum* Corr.) yang tumbuh di daerah Jember, Jawa Timur.

METODE

Peralatan Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini berupa peralatan gelas yang lazim digunakan dalam penelitian kimia bahan alam, seperti kolom untuk kromatografi kolom vakum (KVC), kolom untuk kromatografi kolom tekan (KKT), evaporator, mikropipet 50-1000 μ L, erlenmeyer, timbangan analitik, gunting, blender, pensil, wadah (bak) plastik, tempat pemeliharaan larva, rak tempat menyimpan wadah plastik berisi larva, sprayer, dan kuas. Untuk penentuan struktur isolat, digunakan instrumen berupa Spektroskopi NMR JEOL 500 MHz dan Spektroskopi FTIR. Uji Spektroskopi NMR dilakukan di LIPI Serpong, Tangerang. Sementara uji Spektroskopi FTIR dilakukan di Laboratorium Analitik Jurusan Kimia ITB, Bandung.

Bahan Penelitian

Daun langsep (*L. domesticum* Corr.) yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari daerah Sukorambi, Jember, Jawa Timur. Spesimen tumbuhan diidentifikasi dan disimpan di Herbarium Jurusan Biologi FMIPA Universitas Jember.

Sementara larva *S. littura* diperoleh dari BALITTAS, Malang

Ekstraksi dan Isolasi

Sebanyak 2,5 kg daun langsep (*L. domesticum* Corr.) yang telah dikeringkan, diblender sampai halus, dan diekstraksi dengan teknik maserasi menggunakan 5 L MeOH selama 24 jam. Ekstraksi dilakukan sebanyak tiga kali dengan jumlah pelarut yang sama. Semua ekstrak dikumpulkan lalu dipekatkan evaporator. Ekstrak dilarutkan kembali dalam MeOH, kemudian dipartisi berturut-turut dengan heksana, H_2O/CH_2Cl_2 , dan $H_2O/EtOAc$. Setiap fraksi difraksinasi lebih lanjut sampai diperoleh senyawa murni (isolat), dengan berbagai teknik kromatografi seperti kromatografi kolom vakum, kromatografi kolom tekan, dan kromatografi permeasi gel menggunakan Silika Gel 60 F for coloum chromatography, Silika Gel 60 (70-230 mesh), dan Sephadex LH-20 sebagai fase diam, dengan eluen campuran MeOH, CH_2Cl_2 , EtOAc, dan aseton. Perbandingan campuran pelarut yang digunakan sebagai eluen, ditelusuri dengan kromatografi lapis tipis. Kromatografi lapis tipis juga digunakan untuk monitoring hasil fraksinasi dengan larutan vanilin 1% dalam etanol sebagai penampak noda. Untuk mengidentifikasi struktur molekul isolat dilakukan dengan cara spektroskopi menggunakan spektroskopi inframerah, dan spektroskopi magnet inti (1H dan ^{13}C NMR).

Uji Insektisida

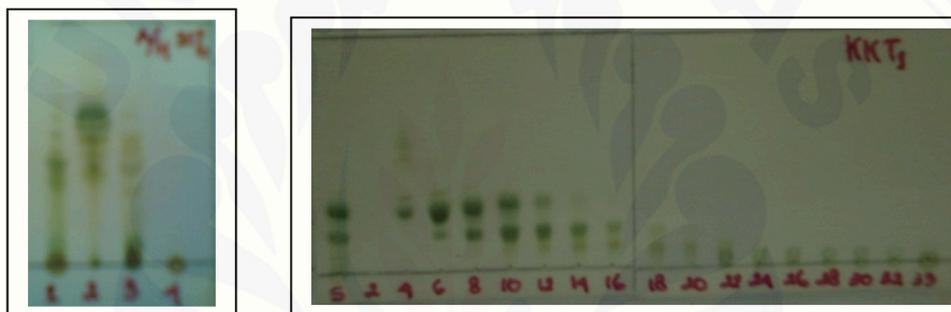
Uji aktivitas insektisida dilakukan dengan metode percobaan pakan, menggunakan daun tembakau sebagai pakan dan larva *S. littura* instar III sebagai hewan uji (Priyono, 1988). Pengujian aktivitas insektisida dilakukan pada berbagai taraf konsentrasi mulai 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0; 2,0; 5,0; dan 10,0 ppm. Pada perlakuan kontrol, larva diberi pakan berupa cakram daun tembakau (Φ 2 cm) yang diolesi dengan pelarut saja. Sementara untuk perlakuan uji aktivitas insektisida, larva diberi pakan cakram daun tembakau yang telah diolesi larutan isolat pada konsentrasi tertentu. Pakan kontrol dan perlakuan ditempatkan dalam cawan petri (Φ 9 cm) yang dialasi kertas tissue. Dengan kuas, kedalam setiap cawan petri dimasukkan 1 ekor larva, yang telah dipuasakan selama 2-4 jam. Untuk setiap perlakuan dilakukan 20 kali ulangan. Setelah pakan kontrol dan perlakuan yang diberikan habis dimakan, maka akan ditambahkan pakan lagi yang tidak diolesi pelarut maupun larutan isolat. Pengamatan mortalitas larva dilakukan setelah 24 jam. Penentuan nilai LC_{50} dilakukan dengan analisis probit.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak metanol serbuk daun *L. domesticum* Corr. Difraksinasi berturut-turut dengan *n*-heksana, CH_2Cl_2/H_2O , dan EtOAc/ H_2O

menggunakan corong pisah, sehingga diperoleh sebanyak 4 fraksi yaitu fraksi *n*-heksana, CH₂Cl₂/H₂O, EtOAc/H₂O, dan MeOH/H₂O. Uji kromatografi lapis tipis (KLT) terhadap masing-masing fraksi menunjukkan bahwa kandungan senyawa metabolit sekunder pada daun *L. domesticum* Corr. cukup beragam dan sebagian besar bersifat non polar, karena distribusinya dominan pada fraksi *n*-heksana dan CH₂Cl₂ (Gambar 1 kiri). Oleh karena itu, kemungkinan ada kemiripan jenis senyawa yang dikandungnya dengan hasil beberapa penelitian yang telah dilaporkan. Penelitian kemudian dilanjutkan pada fraksi CH₂Cl₂ karena tingkat keberagaman spotnya paling tinggi. Sebanyak 49,12 gram cairan kental berwarna hijau gelap dari fraksi CH₂Cl₂ difraksinasi lebih lanjut secara bertahap dengan

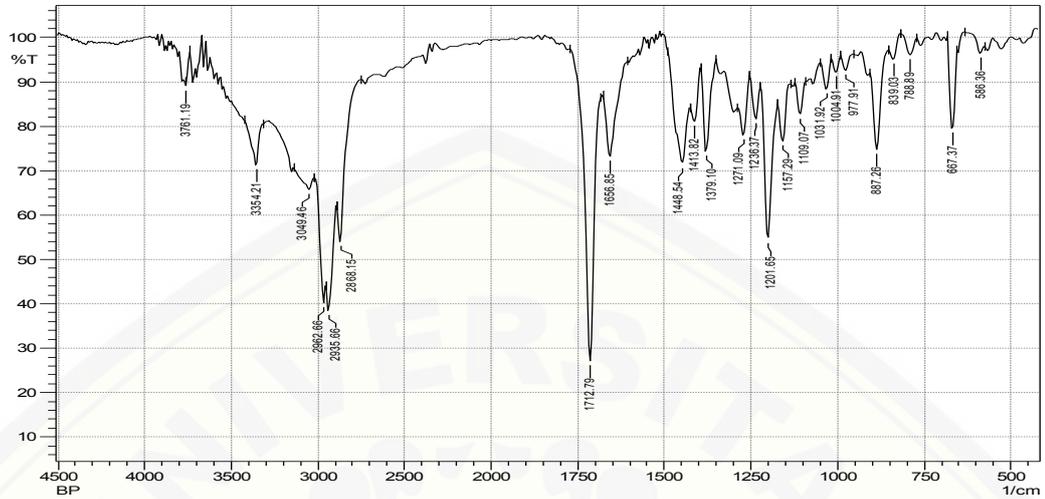
KKV dan KKT menggunakan campuran aseton, *n*-heksana dan etil asetat dengan berbagai perbandingan sebagai fase gerak (Gambar 1, kanan). Hasil fraksinasi masing-masing tahap selalu dimonitor dengan KLT. Setelah melakukan satu kali KKV dan dua kali KKT, diperoleh padatan berwarna putih kehijauan pada salah satu fraksi. Setelah dilakukan rekristalisasi menggunakan pelarut *n*-heksana dan etilasetat, diperoleh serbuk putih sebanyak 30 mg. Uji KLT terhadap endapan ini menunjukkan hasil satu noda, sehingga dilanjutkan dengan analisa struktural menggunakan spektroskopi FTIR dan NMR, serta dilakukan uji insektisida terhadap larva *S. littura* instar 3.



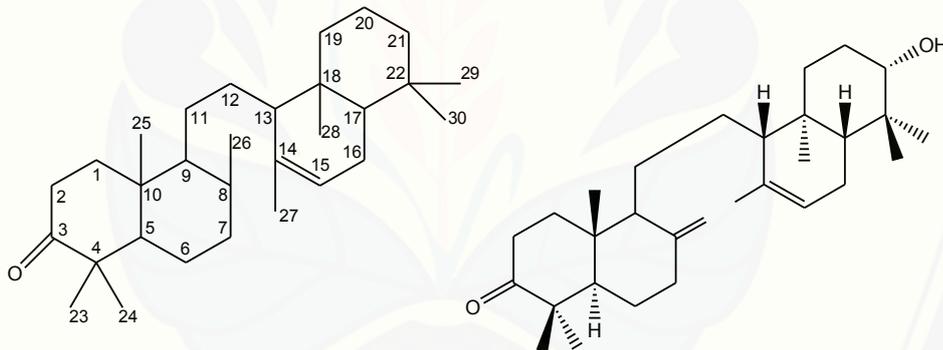
Gambar 1. Kromatogram Hasil Fraksinasi Ekstrak MeOH Daun *Lansium domesticum* Corr. Keterangan (1) Ekstrak MeOH, (2) Fraksi *n*-heksana, (3) Fraksi CH₂Cl₂, (4) Fraksi MeOH/H₂O (Kiri), Kromatogram Hasil Kromatografi Kolom Tekan Fraksi CH₂Cl₂ (Kanan)

Untuk menentukan rumus struktur senyawa A, dilakukan analisa spektroskopi inframerah dan ¹H dan ¹³C NMR. Analisa struktural senyawa A dengan spektroskopi IR (Gambar 2) menunjukkan bahwa senyawa A mengandung -C=CH- (puncak 3049 dan 1659 cm⁻¹), C-H alifatik (2962, 2935, dan 2863 cm⁻¹), dan C=O keton (1712 cm⁻¹). Berdasarkan data spektroskopi FTIR dan data kemotaksonomi, kemungkinan senyawa A adalah senyawa terpenoid dalam hal ini golongan triterpen. Tabulasi data ¹H dan ¹³C NMR senyawa A dan data ¹³C NMR dari senyawa 21α-

hidroksionocera-8(26),14-dien-3-on (Tabel 1) yang berhasil diisolasi Tanaka et.al (2002) dari kulit buah *L. domesticum*. Corr., menunjukkan adanya kemiripan. Jumlah sinyal karbon dan sebagian besar geseran kimianya sama. Perbedaan hanya terlihat pada geseran kimia atom C nomer 7,8,9,dan 26 akibat adanya gugus alkena serta atom C nomer 19 akibat adanya gugus OH pada senyawa pembanding. Hal ini tentu menguatkan dugaan bahwa senyawa A merupakan triterpen golongan onoceranoida (Gambar 3).



Gambar 2. Spektrum IR Senyawa A



Gambar 3. Senyawa A (kiri) dan 21 α -hidroksionocera-8(26),14-dien-3-on (kanan)

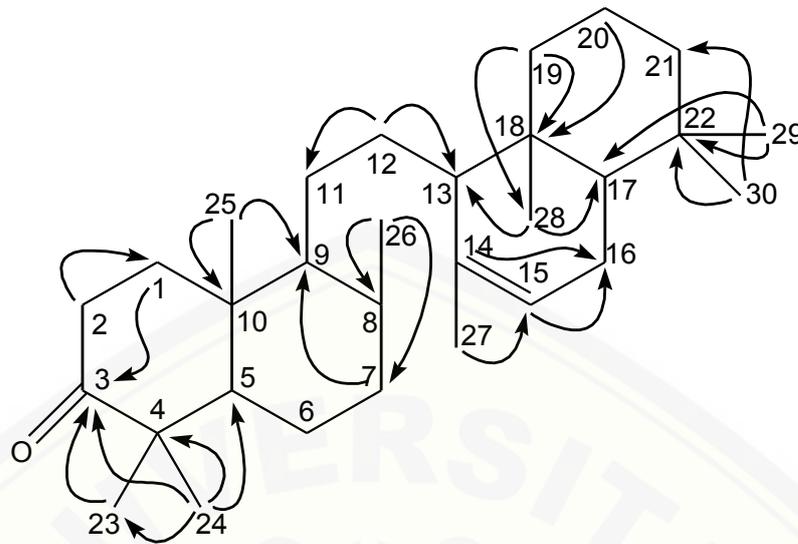
Tabel 1. Data Geseran Kimia ^1H dan ^{13}C NMR Senyawa A dan Senyawa Pembanding

No.	δ_{C}	δ_{H} (multiplisitas)	Jumlah H	$\delta_{\text{C}}^{(a)}$
1	37,5	2,25 dan 2,66 (m dan m)	2	37,8
2	33,4	1,78 dan 1,82 (m dan m)	2	34,7
3	216,0			217,2
4	50,3			47,8
5	47,7	1,62 (m)	1	55,2
6	25,8	1,95 (m)	2	25,7
7	22,8	1,28 (m)	2	37,9
8	29,5	0,50 (m)	1	147,4
9	31,7	1,25 (m)	1	56,6
10	41,5			38,7
11	32,7	1,53 (m)	2	23,5
12	21,4	1,54 (m)	2	25,1
13	47,6	2,29 (m)	1	55,3
14	132,0			135,2
15	123,0	5,07 (d)	1	122,1
16	17,8	1,56 (m)	2	25,8
17	29,2	0,78 (m)	1	49,6
18	27,3			36,5
19	35,0	1,32 (m)	2	37,2
20	26,7	1,32 (m)	2	27,4
21	30,0	1,25 (m)	2	79,2
22	45,3			39,2
23	22,3	1,03 (s)	3	26,0
24	20,9	1,08 (s)	3	21,6
25	22,8	0,84 (s)	3	14,2
26	14,3	0,87 (s)	3	107,6
27	25,8	1,66 (s)	3	22,3
28	19,4	0,88 (s)	3	13,6
29	11,6	0,86 (s)	3	15,1
30	17,8	1,07 (s)	3	17,9

(a) Data ^{13}C NMR 21 α -hidroksionocera-8(26),14-dien-3-on sebagai Pembanding

Data spektroskopi NMR 2-D dalam hal ini HMBC yang bisa menjelaskan korelasi atau interaksi antar proton dan karbon yang bertetangga dalam suatu senyawa, juga menguatkan bahwa senyawa A merupakan triterpen jenis onoceranoida dengan rumus struktur seperti yang digambarkan pada Gambar 3 (kiri). Data HMBC menunjukkan bahwa ada korelasi antara C=O (C_3) dengan gugus CH_3 pada δ 1,03 (C_{23}) dan δ 1,08 (C_{24}), serta korelasi antara CH_2 pada δ 37,5 (C_1) dengan C=O (C_3) dan CH_2 pada δ 33,4 (C_2). Ada korelasi antara CH_3 pada 0,84 (C_{25}) dan CH_2 pada δ 1,28 (C_7) dengan CH pada δ 1,25 (C_9), korelasi antara CH_3 pada 0,84 (C_{25}) dengan C pada δ 41,5 (C_{10}), korelasi antara CH_3 pada δ 0,87 (C_{26}) dengan CH_2 pada δ 1,28 (C_7) dan CH pada δ 0,50 (C_8), korelasi antara CH_2 pada δ 1,54 (C_{12}) dengan CH pada δ 2,29 (C_{13}) dan CH pada δ 1,53 (C_{11}). Ada korelasi

antara CH pada δ 5,07 (C_{15}) dengan CH_3 pada δ 1,66 (C_{27}) dan CH_2 pada δ 1,56 (C_{16}), dan korelasi antara C pada δ 132 (C_{14}) dengan CH pada δ 1,56 (C_{16}). Ada korelasi antara CH_3 pada 0,88 (C_{28}) dengan CH pada δ 0,78 (C_{17}), CH pada δ 2,29 (C_{13}), dan CH_2 pada δ 1,32 (C_{19}). Ada korelasi antara C pada δ 27,3 (C_{18}) dengan CH_2 pada δ 1,32 (C_{19}) dan CH_2 pada δ 1,32 (C_{20}). Selanjutnya ada korelasi antara C pada δ 45,3 (C_{22}) dengan CH_3 pada δ 0,86 (C_{29}) dan δ 1,07 (C_{30}), korelasi antara CH_3 pada δ 0,86 (C_{29}) dengan CH pada δ 0,78 (C_{17}), serta korelasi antara CH_3 pada δ 1,07 (C_{30}) dengan CH_2 pada δ 1,25 (C_{21}). Secara keseluruhan, data HMBC tertera pada Gambar 4. Hasil penelusuran literatur menunjukkan belum pernah ditemukan senyawa kerangka onoceranoida yang strukturnya seperti senyawa A pada tumbuhan *L. domesticum* Corr.



Gambar 4. Korelasi HMBC pada Senyawa A

Aktivitas insektisida dari Senyawa A terhadap larva *S. littura* telah dilakukan. Data hasil pengujian tertera pada Tabel 2., dan hasil

perhitungan dengan program Probit Analysis menunjukkan bahwa senyawa A cukup aktif dengan LC_{50} adalah 13,6 ppm.

Tabel 2. Data Uji Insektisida Senyawa A terhadap Larva *S. littura*

Konsentrasi (ppm)	Total Ulat	Σ Ulat Mati	Σ Ulat Hidup	Σ Mati perTotal
10,0	20	11	9	0,88
5,0	20	7	13	0,72
2,0	20	12	8	0,62
1,0	20	7	13	0,46
0,8	20	11	9	0,37
0,6	20	8	12	0,23
0,4	20	8	12	0,13
0,2	20	3	17	0,03
Kontrol (0 ppm)	20	3	17	0,03

KESIMPULAN

Daun langsep (*L. domesticum* Corr.) yang diambil dari wilayah Jember, Jawa Timur, mengandung senyawa A yaitu suatu senyawa triterpen dengan kerangka onocenaroida, yang memiliki aktivitas insektisida yang cukup tinggi terhadap larva *Spodoptera littura* dengan LC_{50} 13,6 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

- Asmaliyah, Wati, E.E., Utami, S., Mulyadi, K., Yudhistira, dan Sari, F.W. 2010, *Pengenalan Tumbuhan Penghasil Pestisida Nabati dan Pemanfaatannya Secara Tradisional*, Balitbang Kehutanan, Pusat Penelitian dan Pengembangan Produktivitas Hutan, Kementerian Kehutanan, Palembang
- Cannel, R.J.P., 1998, *Methods in Biotechnology vol 4 "Natural Products*

- Isolation", ed. Cannel, R.J.P., Humana Press, New Jersey
- Leaman, D.J., Arnason, J.T., Yusuf, R., Roemantyo, S.H., Soedjito, H., Angerhofer, C.K., and Pezzuto, J.M., 1995, *Malaria Remedies of The Kenyah of The Apo Kayan, East Kalimantan, Indonesia Borneo: A Quantitative Assesment of Local Consensus as an Indicator of Biological Efficacy.*, Journal of Ethnopharmacology, 49, 1-16
- Mayanti, Tjokronegoro, Supratman, Mukhtar, Awang, and Hadi, 2011, *Antifeedant Triterpenoids from the Seeds and Bark of Lansium domesticum cv Kokossan (Meliaceae)*, Molecules, 16, 2785-2795
- Nishizawa, M., Nishide, H., Kosela, S., Shiro, M., and Hayasi, Y., 1983, *Structure of Lansiosides: Biologically Active New Triterpene Glycosides from Lansium domesticum*, Journal of Organic Chemistry, 48, 4462-4466
- Nishizawa, M., Nademoto, Y., Sastrapradja, S., Shiro, M., dan Hayasi, Y., 1988, *Dukunolide D, E and F: New Tetranortriterpenoids from The Seeds of Lansium domesticum*, Phytochemistry, 27(1), 237-239
- Omar, S., Marcotte, M., Fields, P., Sanches, P.E., Poveda, L., Mata, R., Jimenez, A., Durst, T., Zhang, J., MacKinnon, S., Leaman, D., Arnason, J.T., dan Philogene, B.J.R., 2007, *Antifeedant Activities of Terpenoids Isolated from Tropical Rutales*, Journal of Stored Products Research, 43, 92-96
- Orwa, C., Mutua, A., Kindt, R., Jamnadass, R., and Simons, A., 2009. *Agroforestry Database: a tree reference and selection guide version 4.0* (<http://www.worldagroforestry.org/af/treedb/>)
- Pankaj, S., Lokeswar, T., Mukesh, B., and Vishnu, B., 2011, *Review on Neem (Azadiracta indica) ; Thousand Problem One Solution*, Int. Research Journal of Pharmacy, 2(12), 97-102
- Prijono, D., *Pengujian Insektisida*, IPB, Bogor, 82-83, 1988
- Saewan, N., Sutherland, J.D., dan Chantrapromma, K., 2006, *Antimalarial Tetranortriterpenoids from The Seeds of Lansium domesticum*, Phytochemistry, 67, 2288-2293
- Tanaka, T., Ishibashi, M., Fujimoto, H., Okuyama, E., Koyano, T., Hayasi, M., Kowithayakorn, T., and Komiyama, K., 2002, *New Onoceranoid Triterpene Constituents of Lansium domesticum*, Journal of Natural Products, 65, 1709-1711

