Buletin Hama dan Penyakit Tumbuhan 12(1): 27-32 (2000)
Bulletin of Plant Pests and Diseases, ISSN 0854-3836

PENGHAMBATAN AKTIVITAS MAKAN LARVA *Plutella xylostella* (L). (LEPIDOPTERA: YPONOMEUTIDAE) YANG DIPERLAKUKAN EKSTRAK BIJI *Swietenia mahogani* JACQ. (MELIACEAE)

Dadang[1] dan Kanju Ohsawa[2]
[1] Staf Pengajar Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian. Institut Pertanian Bogor
[2] Division of Bioregulation Studies, Graduate School of Agriculture, Tokyo University of Agriculture
Sakuragaoka 1-1-1, Setagayaku, Tokyo 156, Japan

ABSTRACT

Feeding inhibition of *Plutella* xylostella (L.) (Lepidoptera: Yponomeutidae) larvae treated with seed extract of *Swietenia mahogany* Jacq. (Meliaceae)

Swietenia mahogani *Jacq. (Meliaceae) seeds were extracted with methanol. In choice and no-choice leaf disc methods, the crude extract at 5% completely inhibited feeding activity of third instar larvae of the diamondback moth,* Plutella xylostella *(L.) (Lepidoptera: Yponomeutidae). Fractionation of the extract by combination of counter-current distribution method, silica gel column chromatography and preparative TLC yielded one fraction which strongly inhibited* P. xylostella *larval feeding activity by 98.3% at a concentration of 0.2%.*

Key words: antifeedant, *Plutella xylostella, Swietenia mahogani.*

ABSTRAK

Penghambatan aktivitas makan larva *Plutella xylostella* (L). (Lepidoptera: Yponomeutidae) yang diperlakukan ekstrak biji *Swietenia mahogani* Jacq. (Meliaceae)

Biji Swietenia mahogani *Jacq. (Meliaceae) diekstrak dengan metanol. Ekstrak kasar menghambat makan larva* Plutella xylostella *(L.) (Lepidopterea: Yponomeutidae) baik dengan metode pilihan maupun tanpa pilihan. Tidak ada aktivitas makan ketika larva diberi lempengan daun kubis yang diperlakukan ekstrak* S. mahogani *pada konsentrasi 5%. Fraksinasi ekstrak kasar dengan menggunakan kombinasi metode* counter-current distribution, *kromatografi kolom gel silika dan kromatografi lapis tipis menghasilkan satu fraksi aktif yang dapat menghambat aktivitas makan larva hingga 98,3% pada konsentrasi 0,2%.*

Kata kunci: Penghambat makan, *Plutella xylostella, Swietenia mahogani.*

PENDAHULUAN

Plutella xylostella (L.) (Lepidoptera: Yponomeutidae) merupakan salah satu serangga hama penting pada tanaman famili Cruciferae/Brassicaceae yang· penyebarannya bersifat kosmopolitan. Serangan serangga ini dapat merusak tanaman kubis-kubisan yang mengakibatkan kehilangan hasil baik secara kuantitatif maupun kualitatif (Talekar & Shelton 1993). Di Indonesia, strategi pengendalian yang sangat umum dilakukan untuk menekan populasi *P. xylostella* adalah dengan aplikasi insektisida sintetik. Aplikasi insektisida sintetik yang dilakukan secara intensif dan tidak bijaksana telah menyebabkan terjadinya perkembangan resistensi pada serangga ini. Upaya-upaya untuk menekan serangga hama ini terus dilakukan melalui pencarian strategi-strategi pengendalian dengan menggunakan senyawa kimia yang lebih aman baik terhadap produk tanaman, lingkungan dan serangga hama sendiri.

Ide penggunaan senyawa-senyawa kimia dari tumbuhan yang dapat menghambat aktivitas makan serangga sebagai agens pengendalian serangga hama telah menarik banyak perhatian para peneliti (Isman *et al.* 1996). Pengendalian serangga hama dengan menggunakan senyawa-senyawa yang bersifat menghambat aktivitas makan memberikan beberapa kelebihan seperti tidak menimbulkan resistensi, selektivitas yang tinggi, dapat membantu dalam pemecahan masalah resistensi, mudah terdegradasi dan relatif tidak beracun terhadap manusia. Dengan adanya kelebihan-kelebihan tersebut, senyawa kimia tumbuhan yang bersifat demikian dapat memenuhi persyaratan dalam sistem pengendalian hama terpadu sehingga aplikasinya dapat dipadukan dengan komponen/strategi pengendalian yang lainnya.

Secara umum, hama tanaman tidak dapat dihilangkan sama sekali namun upaya-upaya untuk menurunkan populasi hama perlu dilakukan. Aplikasi senyawa-senyawa yang dapat bersifat penghambat aktivitas makan serangga mungkin dapat memberikan kontribusi dalam kegiatan pengendalian serangga hama. Penggunaan secara praktis senyawa-senyawa penghambat aktivitas makan serangga dapat dilakukan pada beberapa tahap dalam budidaya tanaman seperti pembibitan padi atau aplikasi pada buah-buah yang siap panen.

Tumbuhan memiliki kemampuan untuk melindungi dirinya terhadap serangan organisme lain termasuk serangga fitofag baik secara fisik maupun kimia. Banyak senyawa-senyawa kimia seperti dari kelompok terpenoid, alkaloid, dan fenol yang telah diisolasi dari berbagai tumbuhan mempunyai aktivitas penghambatan makan serangga.

Spesies-spesies dari famili Meliaceae dicirikan sebagai anggota tumbuhan yang memproduksi senyawa sekunder dari kelompok limonoid. Senyawa-senyawa yang tergolong limonoid ini banyak yang memberikan efek biologis kepada serangga seperti penghambatan makan dan kematian serangga. Dengan memperhatikan potensi yang terkandung dalam famili Meliaceae dalam kaitannya dengan penggunaannya sebagai agens pengendalian serangga hama, maka banyak peneliti memfokuskan penelitian mereka pada beberapa anggota Meliaceae seperti *Aglaia odorata*, *Aglaia odoratissima*, *Dysoxylum mollisimum*, *Swietenia mahogani* dan *Trichilia trijuga*.

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari lebih lanjut potensi biji *S. mahogani* yang memberikan pengaruh penghambatan aktivitas makan larva *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Yponomeutidae). *S. mahogani* merupakan salah satu anggota famili Meliaceae yang berasal dari kawasan Amerika tropik. Di Pulau Jawa, *S. mahogani* banyak ditanam di daerah kering yang dapat tumbuh hingga mencapai tinggi 30 meter dengan diameter batang lebih dari 1 meter. Batang pohon ini banyak digunakan sebagai bahan-bahan karya seni (Anonymous 1986).

BAHAN DAN METODE

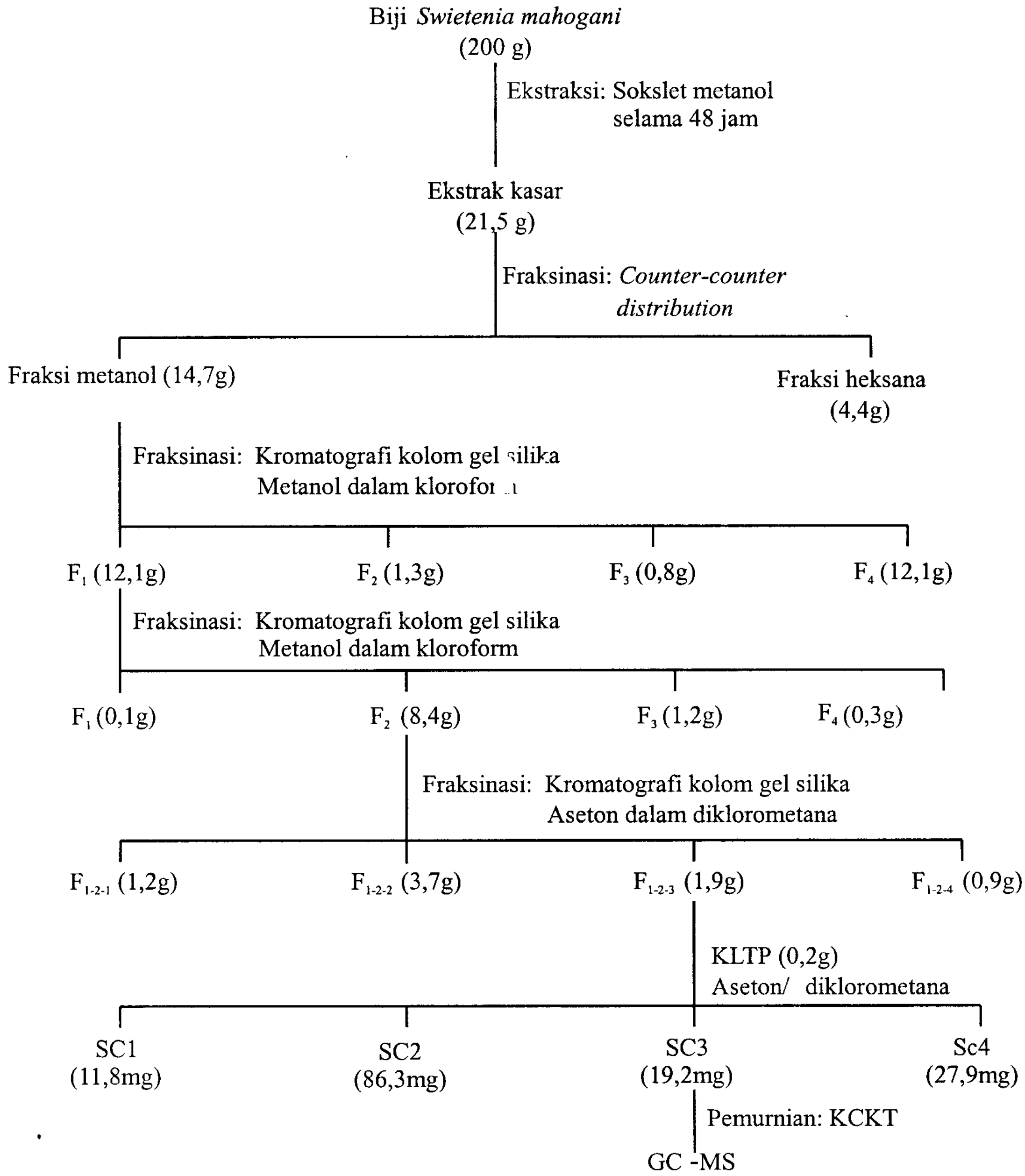
a. Serangga

Pemeliharaan dan pembiakan serangga dilakukan pada sebuah ruangan serangga dengan suhu ruangan 25 ± 1°C dan fotoperiode terang gelap 12:12 (L:D). Larva *P. xylostella* diperoleh dari pembiakan massal. Larva diberi pakan bibit lobak (*Raphanus sativus* L.) yang berumur 6-10 hari dan disimpan dalam sebuah kurungan serangga (40 x 40 x 40 cm). Imago yang baru keluar dari pupa dipindahkan ke kurungan lain yang telah disediakan bibit-bibit lobak dan dibiarkan untuk kawin dan meletakkan telur. Kapas yang telah dicelupkan pada larutan madu (10%) digantungkan pada kurungan serangga sebagai sumber pakan imago. Bibit-bibit yang telah diteluri dipindahkan ke kurungan lain. Untuk pengujian digunakan larva instar tiga.

b. Ekstraksi dan Fraksinasi

Biji-biji *S. mahogani* (200 g) yang telah dipisahkan dari kulit bijinya digiling dengan menggunakan sebuah blender hingga diperoleh tepung. Tepung biji *S. mahogani* diekstrak dengan pelarut metanol menggunakan sokslet selama 48 jam. Metanol dalam filtrat kemudian diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* untuk mendapatkan ekstrak kasar (21,5 g). Ekstrak kasar difraksinasi dengan menggunakan metode *counter-current distribution* menjadi fraksi heksana (4,4 g) dan fraksi metanol (14,7 g).

Fraksi metanol (14,5 g) diseparasi dengan menggunakan kromatografi kolom (50 x 5 cm) dengan fase pasif gel silika (Wakogel C-300) dan fase aktif (eluen) metanol dan kloroform dengan peningkatan konsentrasi metanol. Fraksi aktif (12,1 g) lebih jauh diseparasi kembali dengan kromatografi kolom (50 x 5 cm) dengan gel silika (Wakogel C-300) sebagai fase pasif dan metanol dan kloroform sebagai fase aktif dengan peningkatan konsentrasi metanol. Fraksi aktif sekali lagi diseparasi dengan kromatografi kolom (30 x 3 cm) dengan gel silika (Wakogel C-300) sebagai fase pasif, sementara aseton dan diklorometana sebagai fase aktif dengan peningkatan konsentrasi aseton. Fraksi aktif (0,2 g) kemudian diseparasi dengan kromatografi lapis tipis preparatife (KLTP) (Kieselgel 60 F_{254}, ketebalan 1 mm) dengan diklorometana dan aseton (9:1, v/v) sebagai larutan pengembang. Kemudian fraksi aktif dimurnikan dengan kromatografi cair kinerja tinggi (Shimadzu LC-8A, kolom: Nucleosil 50-5, Chemopack 7,5x300 cm, sistem eluen: metanol dan kloroform (1:9/v:v) dengan laju 2 ml/ minute, dilengkapi dengan spektrofotometer UV (SPD-6A) pada panjang gelombang 254 nm dan pencatat C-R4A). Puncak-puncak utama dikumpulkan dengan menggunakan pengumpul fraksi (Shimadzu FCV-100B). Fraksi-fraksi yang dikumpulkan didasarkan pada waktu retensi (Gambar 1).



Gambar 1. Skema pemisahan fraksi aktif dari ekstrak biji *Swietenia mahogani*

c. Instrumen analisis

Kromatografi gas-spektroskopi massa (GC-MS) diukur menggunakan spektrofotometer Jeol DX-303 (kolom: 5% OV-17, 3 mm x 2 m, gradien temperatur 200-240°C dengan peningkatan 5°C/min., gas He sebagai pembawa dengan laju 40 ml/min.).

d. Uji Hayati

Evaluasi aktivitas penghambatan makan ekstrak kasar biji *S. mahogani* dilakukan dengan dua metode yaitu metode pilihan dan tanpa pilihan, sedangkan evaluasi hasil pemisahan ekstrak hanya menggunakan metode tanpa pilihan dengan pertimbangan untuk menghemat material ekstrak.

Lempengan-lempengan daun kubis, *Brassica oleracea* L. (Brassicaceae), dibuat dengan melubangi daun kubis dengan pelubang gabus (*cork borer*; diameter 12 mm). Sejumlah ekstrak kasar atau fraksi aktif dilarutkan dengan metanol lalu ditambahkan air yang mengandung 0,02% Triton X-114. Konsentrasi akhir metanol dalam sediaan ekstrak 10%. Dalam pengujian ini kosentrasi yang digunakan adalah konsentrasi ekuivalen.

Pada metode tanpa pilihan, empat lempengan daun ditimbang lalu dicelupkan ke dalam sediaan ekstrak selama 5-10 detik lalu dikeringanginkan. Lempengan daun yang dicelupkan ke dalam air yang mengandung 0,02% Triton X-114 dan 10% metanol digunakan sebagai kontrol. Empat lempengan daun yang diperlakukan dan empat lempengan daun kontrol diletakkan dalam cawan petri (diameter 9 cm) yang dialasi kertas saring (Advantec no.2) lembab.

Sementara itu untuk metode pilihan, setiap dua lempengan daun ditimbang lalu masing-masing dua lempengan daun dicelupkan ke dalam sediaan ekstrak dan dua lempengan daun lainnya dicelupkan ke dalam sediaan kontrol. Daun-daun tadi disusun secara bergantian dalam sebuah cawan petri (diameter 9 cm) yang telah dialasi kertas saring lembab. Sepuluh larva instar III dimasukkan ke setiap cawan petri dan dibiarkan makan selama 24 jam. Untuk mencegah keluarnya larva dari cawan petri, sebelum diletakkan tutup petri, diberikan kain kasa (10 x 10 cm). Setelah 24 jam, seluruh lempengan daun diambil, kemudian dikeringkan dalam sebuah oven pada suhu 80°C selama 12 jam lalu ditimbang. Untuk menduga kadar air awal lempengan daun, lempengan-lempengan daun (empat lempengan daun dalam kelompok) ditimbang lalu dioven pada suhu 80°C selama 12 jam lalu ditimbang. Setiap perlakuan diulang tiga kali. Aktivitas penghambatan makan dievaluasi dengan menghitung persen penghambatan makan dengan menggunakan formula (Alford & Bentley 1986).

$$\text{Penghambatan makan (FR)} = \left(1 - \frac{\text{Berat daun yang dimakan pada perlakuan}}{\text{Berat daun yang dimakan pada kontrol}}\right) \times 100\%$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Serangga akan menghadapi dua hal untuk memulai aktivitas makannya yaitu yang pertama adanya rangsangan-rangsangan untuk inisiasi aktivitas makan (*feeding stimulant*) dalam tanaman yang memberikan masukan isyarat untuk pengenalan jenis makanan dan menjaga aktivitas makan, dan yang kedua adalah pendeteksian kehadiran senyawa-senyawa asing (*foreign compound*) yang dapat bersifat sebagai penghambat makan sehingga dapat memperpendek aktivitas makan atau bahkan menghentikan aktivitas makan sama sekali.

Dalam kaitannya dengan aktivitas makan larva *P. xylostella* pada lempengan daun kubis yang diberi perlakuan ekstrak biji *S. mahogani* pada konsentrasi 5%, tampak bahwa larva menolak untuk makan daun kubis tersebut baik pada metode pilihan maupun tanpa pilihan. Pada uji dengan metode tanpa pilihan, larva pada awalnya mencoba untuk memakan daun-daun kubis namun kemudian menghindar kembali dan memilih tidak memakan daun hingga akhir pemaparan. Pada uji dengan metode pilihan, tampak semua larva memakan daun-daun kontrol. Dari hasil ini dapat dinyatakan pemberian ekstrak biji *S. mahogani* pada konsentrasi 5% dapat menghambat makan larva *P. xylostella* secara total. Serangga dapat mengenali senyawa-senyawa asing dalam makanannya walaupun dalam konsentrasi rendah dan akan merespon atas kehadiran senyawa tersebut dalam makanannya (Bell *et al.* 1990). Biji *S. mahogani* memberikan rasa yang sangat pahit dan ini barangkali yang bertanggung jawab untuk aktivitas penghambatan makan larva *P. xylostella*. Walaupun demikian belum ada bukti yang menunjukkan bahwa peningkatan rasa pahit dalam ekstrak (dalam makanan serangga) berkorelasi positip dengan peningkatan penghambatan aktivitas makan serangga (Munakata 1977).

Pemisahan dengan metode *counter-current distribution* menghasilkan dua fraksi yaitu fraksi metanol dan fraksi heksana. Fraksi metanol memberikan penghambatan aktivitas makan yang lebih kuat yaitu 90% daripada fraksi heksana yaitu 60% pada konsentrasi berturut-turut 4 dan 2% (didasarkan pada konsentrasi ekuivalen). Pemisahan fraksi metanol menggunakan kromatografi kolom menghasilkan empat fraksi yaitu fraksi F_1 (12,1 g), F_2 (1,3 g), F_3 (0,8 g) dan F_4 (1,1 g) yang secara berturut-turut dielusi oleh 0-15%, 15-10%, 30-70%, dan 20-30% metanol dalam kloroform. Fraksi F_1 yang diujihayati pada konsentrasi 3% memberikan aktivitas penghambatan makan yang paling tinggi yaitu 94,2%, sedangkan fraksi lainnya memberikan aktivitas penghambatan makan yang rendah yaitu 8,5; 2,0; dan 2,4% berturut-turut untuk fraksi F_2 (0,5%), F_3 (0,2%), dan F_4 (0,3%). Pemisahan dengan meningkatkan konsentrasi metanol dalam kloroform setiap 5% memberikan hasil pemisahan yang kurang sempurna. Fraksi F_1 yang menunjukkan aktivitas penghambatan makan yang paling tinggi mengandung berat ekstrak 82,3%. Hal ini mengakibatkan perlu dilakukan pemisahan kembali dengan kenaikan konsentrasi metanol yang lebih rendah. Pada pemisahan selanjutnya menggunakan kromatografi kolom dengan jenis fase aktif yang sama namun kenaikan konsentrasi metanol dalam kloroform sebesar 1%.

Hasil pemisahan fraksi F_1 menghasilkan banyak fraksi namun hasil uji hayati hanya dicantumkan empat fraksi yang memberikan aktivitas penghambatan makan yang cukup tinggi yaitu fraksi $F_{1\text{-}1}$, $F_{1\text{-}2}$, $F_{1\text{-}3}$, dan $F_{1\text{-}4}$. Semua fraksi yang didapatkan dielusi oleh pelarut metanol dalam kloroform dengan konsentrasi metanol yang sangat rendah yaitu antara 0 hingga 7%. Hasil uji hayati fraksi-fraksi dari fraksi F_1 menunjukkan bahwa fraksi $F_{1\text{-}2}$ yang dielusi dengan 2% metanol dalam diklorometana paling tinggi yaitu 92,9% pada konsentrasi ekstrak 2%. Fraksi lainnya hanya memberikan penghambatan aktivitas makan sebesar 24,1; 70,0; dan 50,9%, masing-masing untuk fraksi $F_{1\text{-}1}$ (0,1%), $F_{1\text{-}3}$ (0,5%), dan $F_{1\text{-}4}$ (0,2%).

Pemisahan fraksi $F_{1\text{-}2}$ kembali dilakukan dengan menggunakan kromatografi kolom dengan diklorometana dan aseton sebagai fase aktif dengan peningkatan konsentrasi aseton. Empat fraksi telah dikumpulkan yaitu $F_{1\text{-}2\text{-}1}$ yang dielusi oleh 0-5%, $F_{1\text{-}2\text{-}2}$ (5%), $F_{1\text{-}2\text{-}3}$ (5-10%), dan $F_{1\text{-}2\text{-}4}$ (10-15%). Fraksi $F_{1\text{-}2\text{-}3}$ memberikan penghambatan aktivitas makan yang paling tinggi yaitu 94,7% pada 0,5%; sementara itu fraksi lainnya memberikan 38,5; 28,7; dan 73,4% pada 0,5; 1,0; dan 0,5% berturut-turut untuk fraksi $F_{1\text{-}2\text{-}1}$, $F_{1\text{-}2\text{-}2}$, and $F_{1\text{-}2\text{-}4}$.

Pemisahan fraksi $F_{1\text{-}2\text{-}3}$ sebagai fraksi yang paling aktif dilakukan dengan menggunakan kromatografi lapis tipis preparatif dengan diklorometana dan aseton sebagai larutan pengembang. Empat garis (*band*) utama yang terpisah teramati ketika dianalisis di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm. Masing-masing garis dikerok (*scrapped*) sehingga dihasilkan empat fraksi dengan nilai Rf 0,75; 0,71; 0,59; dan 0,50 berturut-turut untuk fraksi Sc_1, Sc_2, Sc_3 dan Sc_4. Fraksi Sc_3 (Rf 0,59) memberikan penghambatan aktivitas makan yang paling kuat yaitu 98,3% pada 0,2%, sedangkan fraksi lain hanya memberikan penghambatan kurang dari 70%. Fraksi Sc_3 ini kemudian dimurnikan dengan menggunakan kromatografi cairan kinerja tinggi (KCKT).

Pemurnian fraksi Sc3 menghasilkan satu puncak utama yang diduga mempunyai aktivitas biologi sehingga dilakukan pengumpulan berulang-ulang. Hasil pemurnian tersebut kemudian dianalisis dengan menggunakan kombinasi kromatografi gas dan spektroskopi massa. Hasil analisis dengan kromatografi gas menunjukkan kehadiran beberapa puncak yang menunjukkan bahwa belum murninya hasil isolasi dari KCKT. Secara umum, semua puncak-puncak dari spektra kromatografi gas setelah dievaluasi menggunakan spektrokopi massa menunjukkan molekul ion [M^+] sekitar *m/z* 609. Dengan didasarkan pada berat molekul tersebut dan dengan membandingkan dengan beberapa spektra rujukan maka identifikasi sementara senyawa-senyawa yang dapat menyebabkan penghambatan makan larva *P. xylostella* adalah senyawa-senyawa dari kelompok triterpenoid. Pemurnian dan identifikasi secara detail sedang dalam tahap pelaksanaan.

KESIMPULAN

Pada konsentrasi 5%, ekstrak biji *Swietenia mahogani* memberikan penghambatan makan 100%

larva *Plutella xylostella*. Dengan kombinasi berbagai metode pemisahan didapatkan sebuah fraksi aktif yang pada konsentrasi 0,2% dapat menghambat aktivitas makan larva sebesar 98,3%. Identifikasi sementara kelompok senyawa yang menyebabkan penghambatan aktivitas makan larva adalah senyawa-senyawa dari kelompok triterpenoid.

DAFTAR PUSTAKA

Alford, A R, MD Bentley. 1986. Citrus limonoids as potential antifeedant for the spruce budworm (Lepidoptera: Tortricidae). *J. Econ. Entomol.* 79:35-38.

Anonymous. 1986. Medicinal herb idex in Indonesia. PT. EISAI. Indonesia.

Bell, EA, LE. Fellows, MSJ. Simmonds. 1990. Natural products from plants for the control of insect pests. In Safer Insecticides: Development and Use. Marcel Dekker. New York.

Isman, MB., H. Matsuura, S. MacKinnon, T. Durst, GHN. Towers, JT Arnason. 1996. Phytochemistry of Meliaceae, so many terpenoids, so few insecticides. In *Phytochemical and redundancy in ecological interactions*. Plenum Press. New York.

Munakata, K. 1977. Insect feeding deterrents in plants. In chemical control of insect behavior, Theory and Application. John Wiley& Sons. USA.

Talekar NT, AM Shelton. 1993. Biology, ecology, and management of the diamondback moth. *Ann. Rev. of Entomol.* 38:275-301.