



Aktivitas Larvasida Ekstrak Daun Tumih (*Combretocarpus rotundatus* (Miq.) Danser) terhadap Larva *Aedes aegypti*

*Larvacide Activity of Tumih (*Combretocarpus rotundatus* (Miq.) Danser) Leaf Extracts against *Aedes aegypti**

Renhart Jemi*, Royda Dara Ertini Damanik, & Lies Indrayanti

¹Jurusan Kehutanan Fakultas Pertanian Universitas Palangka Raya,

*E-mail : jemi@for.upr.ac.id

Jl. Yos Sudarso, Palangka, Jekan Raya, Palangka Raya 74874

HASIL PENELITIAN

Riwayat Naskah :

Naskah masuk (received): 23 Oktober 2017

Diterima (accepted): 17 Oktober 2018

KEYWORDS

leaves extract
 mortality
 larvicide
Aedes aegypti
 $LC_{(50)}$

ABSTRACT

This research aimed to measure the content of Combretocarpus Rotundatus (Miq.) Danser leaf extracts and to test its larvicidal activity against Aedes aegypti. The leaves were macerated and fractionated using methanol, n-hexane, ethyl acetate, and ethanol. The extract contents from the leaves extraction were metanol extract of 15%, n-hexane extract of 51%, ethyl acetate extract of 35% and ethanol extract of 85%. The larvicidal activity of extracts was tested with concentration of 0, 5, 10, 25, 50, 75, and 100 ppm. Phytochemicals test exhibited that the methanol extract of Combretocarpus rotundatus (Miq.) Danser leaves contained alkaloids, flavonoids, saponins, and tannins. Larvicidal test conducted on the extracts exhibited an effect on the mortality levels against Aedes aegypti larvae. The larvicidal activity of leaf extracts was optimum in the ethyl acetate extract at $LC_{(50)} = 24.54$ ppm, methanol extract at $LC_{(50)} = 45.65$ ppm, ethanol extract at $LC_{(50)} = 46.77$ ppm, and n-hexane extract at $LC_{(50)} = 48.97$ ppm. It was found that the ethyl acetate extract was the most active larvicide. FT-IR analysis showed existing functional groups of C-H alkanes and C=C aromatics. Those functional groups were assumed to be flavanoid, alkaloid, saponin, and tannin constituents. Results of LC-MS analysis indicated 7 bioactive compounds i.e. hexadecylferulate, 21-o-methyl toosendanopentaol, 23-acetate alismaketone, dehydroxy-24-acetate alisol, prosapogenin 2, and stigmastan-3,6-dione.

INTISARI

Penelitian ini bertujuan untuk mengukur kadar ekstrak daun tumih dan menguji aktivitas larvasidanya terhadap *Aedes aegypti*. Daun tumih dimaserasi dan difraksinasi dengan pelarut metanol, n-heksana, etil asetat, dan etanol. Aktivitas larvasida ekstrak diuji dengan konsentrasi 0, 5, 10, 25, 50, 75, dan 100 ppm. Hasil

KATA KUNCI

ekstrak daun
 mortalitas
 larvasida
Aedes aegypti
 $LC_{(50)}$

penelitian menunjukkan rendemen dari ekstraksi daun tumih pada berbagai larutan adalah sebagai berikut ekstrak metanol sebesar 15%, n-heksana 51%, etil asetat 35% dan etanol 85%. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun tumih positif mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin. Pengujian larvasida ekstrak daun tumih menunjukkan pengaruh terhadap mortalitas larva *Aedes aegypti*. Aktivitas larvasida ekstrak daun tumih optimum pada ekstrak etil asetat dengan $LC_{(50)} = 24,54$ ppm, ekstrak metanol $LC_{(50)} = 45,65$ ppm, ekstrak etanol $LC_{(50)} = 46,77$ ppm dan ekstrak n-heksana $LC_{(50)} = 48,97$ ppm. Ekstrak etil asetat daun tumih merupakan ekstrak teraktif dalam aktivitas larvasidanya. Selanjutnya, analisis FT-IR menunjukkan adanya gugus fungsi C-H alkana dan C = C aromatik. Gugus fungsi tersebut diduga penyusun senyawa alkaloid, flavanoid, saponin, dan tanin. Hasil analisis LCMS mengindikasikan adanya 7 senyawa bioaktif yaitu *hexadecyl-ferulate*, *21-o-methyl toosendanopentaol*, *23-acetate alismaketone*, *dehydroxy-24-acetate alisol*, *physanol*, *prosapogenin 2*, dan *stigmastan-3,6-dione*

© Jurnal Ilmu Kehutanan -All rights reserved

Pendahuluan

Demam berdarah (DBD) merupakan masalah kesehatan yang serius. Penyakit ini disebabkan oleh nyamuk *A. aegypti* yang membawa virus *dengue*. Mengatasi permasalahan perkembangan nyamuk penyebab penyakit demam berdarah selama ini yang dilakukan oleh masyarakat adalah metode semprot dan *fogging*. Namun metode insektisida ini berdampak pada pencemaran lingkungan, membunuh organisme *non target*, menimbulkan resistensi pada vektor nyamuk, dan sangat berbahaya bagi kesehatan manusia. Mengurangi dampak negatif terhadap kesehatan perlu pencegahan penyebab demam berdarah ini dengan menggunakan insektisida alami yang berasal dari bagian tanaman seperti batang, daun, biji, akar, dan buah yang melimpah dan mudah didapat. Hutan tropika Indonesia sangat kaya dengan keragaman jenis tumbuhannya yang merupakan sumber bioaktif sebagai insektisida alami. Salah satunya pohon tumih yang banyak tumbuh pada daerah hutan kerangas dan hutan rawa gambut (Ardiyanto 2011).

Pohon tumih memiliki nilai komersil yang rendah, sehingga membuat masyarakat tidak banyak memanfaatkannya. Masyarakat lokal memanfaatkan sebatas kayu bakar dan daun tumih sebagai obat. Hasil penelitian Kissinger et al. (2012) menunjukkan ekstrak metanol daun tumih dengan $IC_{(50)} = 10,29$ ppm mampu menghambat α -glukosidase untuk

pengujian antidiabetes. Ekstrak tersebut bersifat antioksidan juga dengan $IC_{(50)} = 21,82$ (Kissinger et al. 2013). Limin (2014) mengemukakan keawetan kayu tumih terhadap rayap tanah (*C. curvignathus*) masuk kelas awet II, keawetan terhadap jamur pelapuk (*S. commune*) masuk kelas awet IV, dan pengujian *grave yard test* memiliki nilai keawetan 8.

Berdasarkan latar belakang di atas bahwa daun tumih berpotensi mengandung bioaktif untuk dijadikan bahan alami sebagai penghambat aktivitas insektisida. Namun informasi yang berkaitan tentang senyawa kimia yang diduga terdapat dalam ekstrak daun pohon tumih masih belum lengkap. Untuk itu perlu dilakukan penapisan dan uji ekstrak daun tumih untuk mengetahui daya hambat terhadap aktivitas larvasida nyamuk *A. aegypti*.

Bahan dan Metode

Tempat dan bahan

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Teknologi Hasil Hutan Universitas Palangka Raya (UPR) untuk pembuatan ekstrak kasar, Laboratorium Kimia Analisis Universitas Muhammadiyah Palangka Raya untuk pembuatan ekstrak maserasi dan fraksinasi. Pengujian larvasida di Laboratorium Entomologi P2B2 Tanah Bumbu Kalimantan Selatan. Analisis FT-IR di Laboratorium Kimia BATAN Tangerang Selatan, serta analisis LC-MS di laboratorium Pusat Penelitian kimia Bahan Alam LIPI Serpong.

Penyiapan sampel daun

Sampel uji diambil dari bagian daun pucuk tumih yang segar berasal dari hutan alam Kampus Jurusan Kehutanan UPR (berada pada titik koordinat H:2°13'31.97°S; V:113°52'2.01°). Identifikasi jenis dilakukan di Pusat Penelitian Biologi LIPI Cibinong. Daun digiling dan disaring untuk menghasilkan serbuk berukuran 40-60 mesh, yang kemudian serbuk tersebut disebut sebagai simplisia.

Maserasi dan fraksinasi

Proses maserasi dan faksinasi mengacu kepada prosedur Tempone et al. (2008) dan Lelono et al. (2009). Simplisia daun tumih (250 g) dimaserasi dengan metanol (1:2, b/b) pada suhu ruangan dan tekanan 1 atm. Proses maserasi dilakukan berulang dengan pengadukan setiap tiga jam hingga diperoleh filtrat bening. Ekstrak metanol daun tumih yang diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40°C dan tekanan 1 atm untuk mendapatkan ekstrak kasar. Ekstrak diuji fitokimia untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder.

Ekstrak kasar (20 g) difraksinasi secara bertingkat dengan pelarut berbeda secara berurutan menggunakan *n*-heksana, etil asetat, dan etanol. Campuran ekstrak kasar dikocok dalam corong pemisah selama 10-15 menit kemudian sampai terjadi pemisahan antara ekstrak terlarut *n*-heksana dari ekstrak kasarnya yang larut di metanol. Pencampuran dilakukan sampai filtrat menjadi bening. Fraksi residu difraksinasi lebih lanjut secara urut menggunakan pelarut etil asetat dan etanol. Filtrat ekstrak masing-masing fraksi dipekatkan dengan *rotary vacuum evaporator*.

Uji fitokimia

Ekstrak metanol daun tumih hasil ekstraksi dengan cara maserasi selanjutnya diuji secara fitokimia. Pengujian alkaloid dengan uji Mayer dan uji Wagner (Handayani 2013; Banu & Cathrine 2015), flavanoid

dengan uji reagen alkalin serta uji asetat (Tiwari et al. 2011; Ningsih et al. 2016), saponin dengan reagen KOH (Jeradat et al. 2015), steroid dengan uji Salkow Skiss (Aberround 2012; Bargah 2015); dan tanin dengan uji asetat (Singh & Bag 2015).

Uji aktivitas larvasida

Pemeliharaan larva nyamuk A. aegypti

Larva *Aedes aegypti* diperoleh dari Balai Besar Pengembangan dan Penelitian Bersumber Binatang (P2B2), Tanah Bumbu Kalimantan Selatan. Larva *Aedes aegypti* yang dibutuhkan sebanyak 650 larva instar III. Pemeliharaan dan pengujian larva dilakukan Laboratorium Entomologi P2B2, Tanah Bumbu Kalimantan Selatan.

Pengadaan larutan stock

Sebanyak 0,1 g ekstrak dilarutkan dalam 1 ml DMSO serta ditambah 9 ml aquades. Fraksi larutan stok sudah dibuat, diencerkan menjadi konsentrasi ekstrak yaitu 0, 5, 10, 25, 50, 75, dan 100 ppm. Larutan stok dibuat dan diberi kode serta disimpan di lemari pendingin.

Pengadaan Larva

Pengujian aktivitas larvasida ekstrak menggunakan larva instar III dalam cawan petri. Setiap sampel pengujian menggunakan 10 ekor larva (Rumengan 2010) dua ulangan. Kontrol negatif menggunakan media pelarut aquades dan kontrol positif menggunakan larutan Abate 50 ppm.

Pengujian Aktivitas Larva

Aktivitas larvasida ekstrak diuji dengan parameter mortalitas larva pada berbagai tingkat konsentrasi ekstrak. Pengamatan kematian larva setelah terpapar oleh ekstrak selama 24 jam dalam suhu ruangan. Data tingkat kematian larva dihitung dengan rumus persentase jumlah kematian (mortalitas) larva mengacu kepada cara perhitungan Florence dan Solomon (2016) dan Amir et al. (2017) berikut :

$$\text{Persen kematian (\%)} = \frac{\text{Jumlah larva mati}}{\text{Jumlah larva uji}} \times 100 \%$$

Uji FT-IR dan LC-MS

Ekstrak yang teraktif selanjutnya dianalisis dengan *Fourier Transform Infra Red* (FT-IR) dan *Liquid Chromatography-Mass Spectroscopy* (LC-MS) untuk mengetahui senyawa berdasarkan gugus fungsinya. Proses analisis FT-IR dilakukan untuk 1 mg ekstrak tumih teraktif yang disiapkan dengan metode pelet KBr. Pengukuran dengan alat FT-IR Shimadzu dan data tercatat dalam instrumen dalam bentuk spektra. Selanjutnya, analisis LC-MS-Q-TOF merk XEVO G2S membutuhkan 1 mg ekstrak tumih yang dilarutkan dengan pelarutnya dan dimasukkan dalam *autosampler vial* 2 ml sehingga siap untuk disuntikan ke alat LC-MS. Kondisi pengukuran dengan kolom C18, ukuran 2,5 mm x 25 mm, diameter partikel 1,78 µm, fase gerak asetonitril = 80:20. Hasil Identifikasi senyawa ekstrak teraktif dilakukan interpretasi dengan menggunakan *Wiley library* dan program *Chemspider*.

Analisis statistika

Data persentase kematian larvasida dianalisis probit untuk mengetahui nilai $LC_{(50)}$. Penentuan berdasarkan persamaan logaritma antara konsentrasi ekstrak daun tumih (sumbu x) dengan persentase mortalitas (sumbu y). Perhitungan menggunakan program Microsoft Excel 2007.

Hasil dan Pembahasan

Rendemen ekstrak daun tumih

Hasil kadar ekstrak (rendemen) yang diperoleh dari ekstraksi daun tumih pada berbagai larutan adalah sebagai berikut ekstrak metanol sebesar 15%, *n*-heksana 51%, etil asetat 35%, dan etanol 85%. Perbedaan hasil rendemen tersebut dipengaruhi oleh cara ekstraksi (maserasi dan fraksinasi) dan penggunaan pelarutnya (Munawaroh & Hadayani 2010).

Senyawa dalam ekstrak metanol teridentifikasi dengan uji fitokimia

Hasil identifikasi senyawa fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun tumih positif mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin. Hasil pengujian fitokimia senyawa metabolit sekunder ekstrak metanol daun tumih disajikan pada Tabel 1.

Beberapa hasil penelitian dari berbagai ekstrak tumbuhan yang mengandung bioaktif, mampu mematikan larvasida *A. aegypti*. Seperti hasil penelitian Bagavan et al. (2008), saponin dari *A. aspera* mampu mematikan larva *A. aegypti* pada $LC_{(50)} = 18,20$ ppm. Ekstrak tannin dari daun cengkeh mampu mematikan larva *A. aegypti* (Haditomo 2010). Ekstrak flavonoid mampu mematikan larva *A. aegypti* dan mudah larut dalam air (Geris et al. 2012; Gautam et al. 2013; Ruis-Guerrero et al. 2015; Rohani et al. 2015). Alkaloid dari ekstrak etil asetat kulit *Maytenus oblongata* mampu mematikan larva *A. aegypti* (Touré et al. 2017). Berdasarkan hasil penelitian tersebut menunjukkan bioaktif seperti saponin, tanin, flavonoid, dan alkaloid mampu mematikan larva *A. aegypti* sehingga hasil ini menunjukkan potensi bioaktif yang besar terkandung dalam ekstrak metanol daun tumih terhadap aktivitas larva *A. aegypti*.

Aktivitas larvasida ekstrak daun tumih

Uji mortalitas dilakukan untuk mengetahui tingkat kematian larva *A. aegypti* pada setiap ekstrak daun tumih. Persentase mortalitas pada setiap ekstrak daun tumih disajikan pada Gambar 1 yang menunjukkan ekstrak metanol dan *n*-heksana dari konsentrasi 0 ppm sampai 50 ppm menunjukkan tren persentase mortalitas yang naik dengan nilai

Tabel 1. Hasil uji fitokimia ekstrak metanol daun tumih
Table 1. Phytochemical test results of methanol extract of tumih leaves

Uji Fitokimia	Ekstrak metanol daun tumih
Alkaloid	+
Flavonoid	+
Steroid	-
Saponin	+
Tanin	+

Keterangan : (+) terjadi perubahan warna sesuai uji ; (-) tidak ada perubahan warna
 Remarks : (+) there is a color change according to the test; (-) no color changes

mortalitasnya sebesar 30%. Selanjutnya, nilai turun dari konsentrasi 75 ppm sampai 100 ppm. Ekstrak etil asetat dari konsentrasi 0 ppm sampai dengan 25 ppm mengalami kenaikan persentase mortalitasnya dimana pada konsentrasi tersebut mortalitasnya sebesar 60%. Selanjutnya, persentase mortalitas pada konsentrasi 50 ppm turun dengan mortalitasnya 55%, terus datar grafiknya pada konsentrasi 75 ppm dan 100 ppm. Ekstrak etanol grafik mortalitasnya berfluktuatif yaitu dari konsentrasi 10 ppm - 75 ppm persentase mortalitasnya naik terus, turun pada 100 ppm.

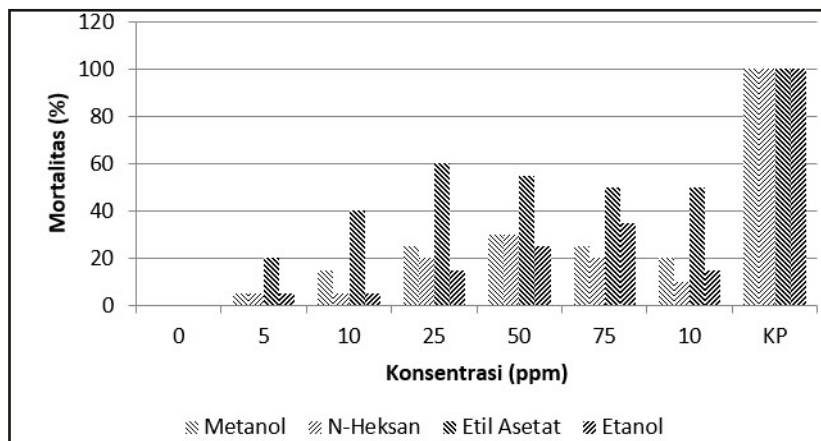
Perbedaan persentase mortalitas dari masing-masing pelarut disebabkan toksisitas ekstrak tumih yang berbeda dari masing-masing pelarutnya (Haditomo 2010; Rumengan 2010). Perbedaan tersebut karena kemampuan pelarut yang berbeda untuk mengekstrak bioaktif yang terkandung dalam daun tumih. Perbandingan ekstrak daun tumih dengan abate *Temephos* 50 ppm (kontrol positif) menunjuk nilai 100% mortalitas larvanya. Kematian tersebut disebabkan oleh adanya kandungan bahan aktif kimia dari *temephos* seperti *tetramethyl thiod p-phenylene*, *phasphorothioate* 1% dan *inert ingredient* 99%. *Temephos* adalah insektisida golongan *organofosfat* yang memiliki kemampuan racun yang mempengaruhi system *neurotransmitter* melalui penghambatan *cholinesterase* sehingga larva mati sebelum mencapai dewasa (Lawrens et al. 2014; Sulistiyaningrum 2015). Ekstrak daun tumih yang larut pada metanol, *n*-heksana, etil asetat, dan etanol mampu mematikan larva *A. aegypti* walaupun tidak sangat toksik dibandingkan dengan abate. Hasil tersebut sama dengan penelitian Nugroho (2011); Cania dan Setyaningrum (2013) yang membandingkan ekstrak serai dengan abate dan ekstrak daum legundi dengan abate.

Hasil presentase mortalitas selanjutnya dianalisis probit dan diperoleh nilai $LC_{(50)}$ yang ditampilkan pada Gambar 2. Hasil grafik (Gambar 2) menyatakan nilai paling optimum dalam mematikan 50% larva *A. aegypti* yaitu fraksi pelarut etil asetat sebesar 24,54 ppm. Fraksi larutan *n*-heksana memberikan $LC_{(50)} = 48,97$ ppm dan merupakan nilai tertinggi tetapi tidak

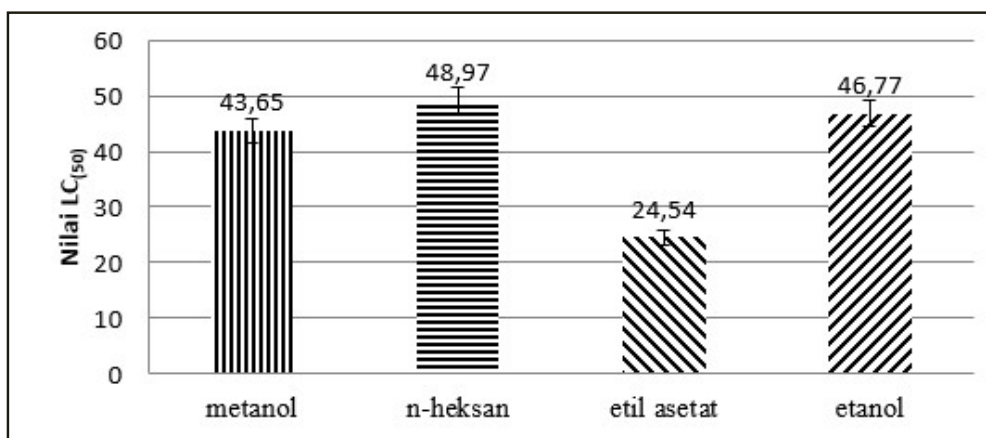
optimal mematikan larva nyamuk dibandingkan ketiga ekstrak lainnya.

Etil asetat merupakan pelarut yang bersifat semi polar sehingga senyawa yang terekstrak adalah senyawa-senyawa dengan tingkat kepolaran antara polar dan non polar (Putri et al. 2013). Etil asetat memiliki toksisitas yang rendah, tidak higroskopis, dan mudah diuapkan (Wardani et al. 2010). Senyawa-senyawa yang dapat terekstraksi dengan menggunakan pelarut etil asetat adalah flavonoid, tanin, dan alkaloid (Tanaya et al. 2013). Alkaloid merupakan *stomach poisoning* atau racun perut bagi larva *A. aegypti*. Mekanisme dari alkaloid yaitu mampu menghambat pertumbuhan serangga terutama tiga hormon utama dalam serangga yaitu hormon otak (*brain hormone*), hormon edikson, dan hormon pertumbuhan (*juvenile hormone*). Tidak berkembangnya hormon tersebut dapat menyebabkan kegagalan metamorphosis. Cara kerja alkaloid adalah dengan bertindak sebagai *stomach poisoning* atau racun perut. Bila senyawa tersebut masuk dalam tubuh larva *A. aegypti* maka alat pencernaannya akan menjadi terganggu (Wardani et al. 2010) sehingga larva lambat laun mengalami kematian.

Senyawa berikutnya yang dapat terekstrak oleh etil asetat yaitu senyawa flavonoid. Flavonoid dapat merusak membran sitoplasma yang dapat menyebabkan bocornya metabolit penting dan menginaktifkan baik sistem enzim. Sistem enzim yang inaktif ini mengakibatkan fosfolipida tidak mampu mempertahankan bentuk membran sitoplasma akibatnya membran sitoplasma akan bocor dan larva akan mengalami hambatan pertumbuhan dan bahkan kematian (Adityo et al. 2013). Senyawa yang terekstrak dalam etil asetat yaitu tanin. Tanin bekerja dengan cara mengendapkan protein serta merusak dinding dan membran sel sehingga membentuk ikatan dengan protein fungsional sel mikroba (Sudira et al. 2011). Pada larva ini dapat menghambat protein yang diperlukan larva untuk pertumbuhan sehingga menyebabkan larva mati.



Gambar 1. Mortalitas larva *A. aegypti* pada keempat ekstrak daun tumih. Keterangan: KP adalah kontrol positif
Figure 1. Mortality of *A. aegypti* larvae in the four of tumih leaf extracts. Remarks: KP is a positive control



Gambar 2. LC₍₅₀₎ ekstrak daun tumih terhadap aktivitas larva *A. aegypti*
Figure 2. LC₍₅₀₎ of tumih leaf extract on the activity of *A. aegypti* larvae

Hasil FTIR dan LC-MS ekstrak teraktif daun tumih

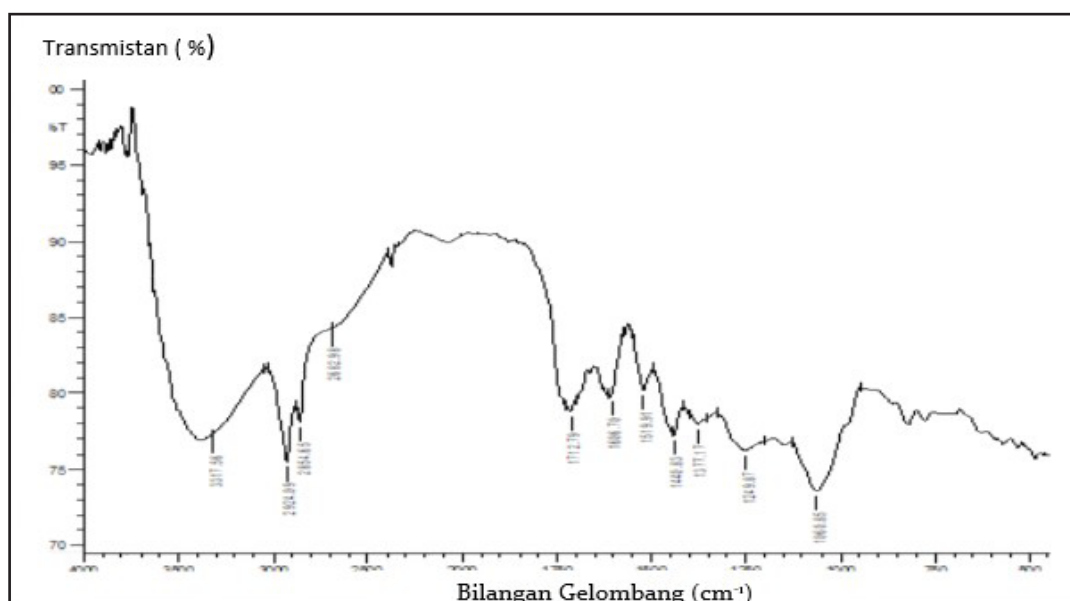
Ekstrak teraktif yaitu ekstrak etil asetat daun tumih dengan LC₍₅₀₎ = 24,54 ppm terhadap aktivitas larva *A. aegypti*. Analisis FT-IR pada ekstrak etil asetat daun tumih disajikan pada Gambar 3. Beberapa gugus fungsi teridentifikasi dengan uji FT-IR yaitu adanya serapan tinggi pada daerah bilangan gelombang 3317,56 cm⁻¹ dan 2924,09 cm⁻¹ yang diduga merupakan gugus fungsi C-H. Serapan sedikit tinggi pada daerah gelombang 2924,09 cm⁻¹ dan 2854,65 cm⁻¹ yang diidentifikasi juga gugus fungsi C-H. Serapan tajam pada tinggi pada gelombang 2662,98 cm⁻¹ gelombang tersebut diidentifikasi sebagai gugus fungsi O=H. Gelombang pada 2100-2300 cm⁻¹ dengan pita melebar diidentifikasi sebagai gugus fungsi C≡O. Pada daerah gelombang 1712,79-1900 merupakan daerah gugus fungsi C=O. Daerah

gelombang 1519,91 cm⁻¹, dan 1606,70 cm⁻¹ terdapat serapan tinggi yang merupakan gugus fungsi C=C. Pada gelombang 1440,83 cm⁻¹ sampai gelombang 1712,79 cm⁻¹ mempunyai serapan yang sama yaitu menunjukkan gugus fungsi C=C. Gelombang terakhir yang teridentifikasi yang mempunyai puncak serapan yang lemah yaitu gelombang 1249,87 cm⁻¹ sampai 1440,83 adalah serapan pada gugus fungsi C=C-H.

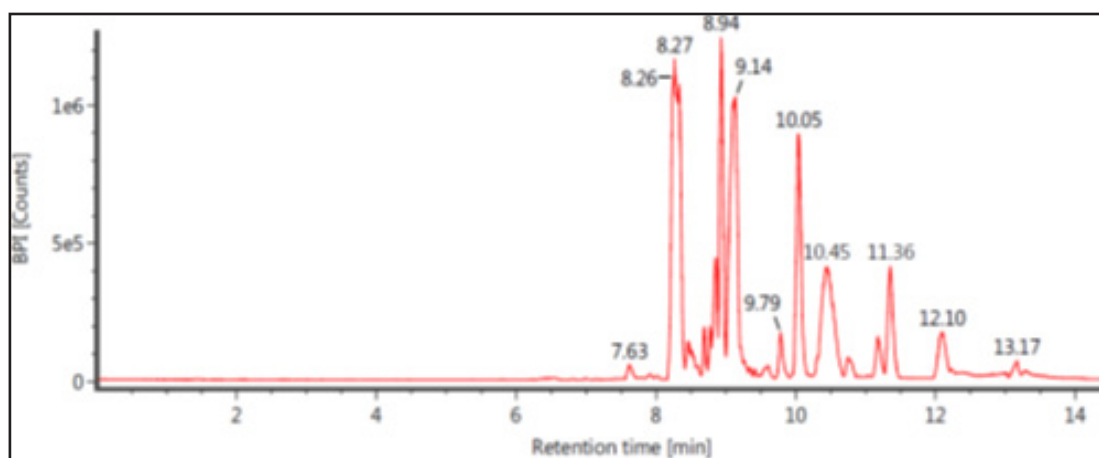
Gugus fungsi yang teridentifikasi yaitu C-H, O=H asam karboksilat, C≡O alkena, C=O, C=C aromatik. Gugus fungsi tersebut diduga penyusun di senyawa alkaloid, flavanoid, saponin, dan tanin (Candra 2012; Maitera & Chukkoii 2016; Kim et al. 2017). Senyawa alkaloid dan flavonoid mampu mempengaruhi metabolisme larvasida sehingga lambat laun mengalami kematian (Gautam et al. 2013; Putri 2013; Guitierrez et al. 2014).

Masing-masing senyawa diidentifikasi dengan LC-MS untuk dapat ditentukan senyawa, rumus dan berat molekulnya (Tabel 2). Hasil identifikasi LCMS-MS pada kromatogram ekstrak etil asetat

daun tumih disajikan pada Gambar 4. Kromatogram menunjukkan adanya beberapa puncak senyawa dengan waktu retensi (Rt, menit) pada 8,26; 8,27; 8,94; 9,14; 10,05; 10,45; 11,36 dan 12,10 menit.



Gambar 3. Spektrogram FTIR ekstrak teraktif etil asetat daun tumih terhadap aktivitas larva *A. aegypti*
Figure 3. FTIR spectrogram of the most active ethyl acetate extract of tumih leaves against *A. aegypti* larvae activity



Gambar 4. LC kromatogram ekstrak teraktif etil asetat daun tumih terhadap aktivitas larva *A. aegypti*
Figure 4. LC chromatogram of the most active ethyl acetate extract of tumih leaves against *A. aegypti*

Tabel 2. Senyawa yang terkandung dalam ekstrak etil asetat daun tumih
Table 2. Compounds contained in the ethyl acetate extract of tumih leaves

Senyawa	Waktu retensi (menit)	Area(%)	Rumus	Berat molekul	Golongan
(E)-Hexadecyl-ferulate	10,45	12,14	C ₂₆ H ₄₂ O ₄	420,290	Aromatis
21-O-Methyl toosendanpentaol	11,19	14,34	C ₃₁ H ₅₂ O ₆	520,751	Steroid
23-Acetate alismaketone	9,20	15,22	C ₃₂ H ₅₀ O ₆	530,746	Triterpen
25-Dehydroxy-24-acetate alisol	11,19	14,78	C ₃₂ H ₅₀ O ₅		Steroid
Physanol	8,84	15,66	C ₃₆ H ₅₀ O ₄	546,792	Steroid
Prosapogenin 2	8,84	16,05	C ₃₂ H ₄₈ O ₈	560,728	Saponin
Stigmastan-3,6-dione	11,36	11,81	C ₂₉ H ₄₈ O ₂	428,701	Steroid

Senyawa-senyawa yang teridentifikasi dari ekstrak etil asetat daun tumih ditampilkan pada Tabel 2. Penyusun senyawanya tersusun gugus fungsi yang seperti terdeteksi juga pada hasil FT-IR pada Gambar 3. Senyawa tersebut juga masuk dalam senyawa kelompok yang terdeteksi hasil fitokimia pada Tabel 1. Berdasarkan hasil analisis LC-MS, ekstrak etil asetat daun tumih yang ditampilkan pada Tabel 2 maka dilakukan telaah pustaka. Dugaan senyawa yang teridentifikasi mempunyai aktivitas anti oksidan, anti inflamatori, anti bakteri, dan anti kanker. Ketujuh senyawa yang terkandung dalam ekstrak daun tumih larut dalam pelarut semi polar. Senyawa dominan dari golongan steroid yaitu *21-o-methyl toosendanpentaol*, *25-dehydroxy-24-acetate alisol*, *physanol* dan *stigmastan-3,6-dione* (Hill et al. 1991; Guitterres et al. 1999; Radulović & Derdević 2011). (*E*)-*hexadecyl-ferulate* masuk dalam golongan aromatis (Liu et al. 2017). Senyawa minornya yaitu *23-acetate alismaketone* golongan senyawa triterpen (Matsuda et al. 1999), sedangkan *prosapogenin 2* masuk dalam golongan saponin (Ogihara et al. 1987).

Hasil beberapa penelitian menunjukkan bahwa senyawa (*E*)-*hexadecyl-ferulate* terdapat juga di akar *Euchresta Horsfieldii* dan *Ipomoea batatas* dan bersifat anti oksidan, serta bunga *Aerva javanica*, *Radix astragali* (Sørensen et al. 2015; Liu et al. 2017). Senyawa *21-o-methyl toosendanpentaol* terdapat pada tumbuhan *Melia toodsemda* dan senyawa ini bersifat *antifeeding* (Huang et al. 1995; Hampel et al. 2014). Senyawa *23-acetate alismaketone* dan *25-dehydroxy-24-acetate aliso* terkandung di rimpang *Alisma orietale* (Nakajima et al. 1994; Zhu et al. 2011; Zhu et al. 2016). Senyawa *physanol* terkandung pada buah *Physalisfranchetii* dan bersifat anti inflamatori dan anti bakteri (Sharma et al. 1974; Kovganko & Survilo 2000; Honget al. 2015). Senyawa *prosapogenin 2* terdapat di *Gleditsia japonica*, *Pithecellobiumdulce* dan *Panax ginseng*; bersifat anti jamur dari buah *Sapindus saponaria* L (Konoshima et al. 1981; Tsuzuki et al. 2007; Kuljanabhadgavad et al. 2008; Lee et al. 2012). Senyawa *stigmastan-3,6-dione* terdapat di jerami gandum *Triticum aestivum* dan bersifat anti kanker dan daun *Cassytha filiformis* (Gaspar et al. 1993; Kuljanabhadgavad et al. 2008; Jiang-Long et al. 2012; Edewo et al. 2016).

Kesimpulan

Fraksi ekstrak terlarut etil asetat daun tumih merupakan ekstrak teraktif terhadap larvasida *A. aegypti* dengan $LC_{(50)} = 24,54$ ppm. Identifikasi ekstrak etil asetat daun tumih dengan FT-IR menunjukkan adanya gugus fungsi C-H alkana, C=C aromatik. Hasil analisis LC-MS ekstrak etil asetat daun tumeh mengandung 7 senyawa bioaktif yaitu *hexadecyl-ferulate*, *21-o-methyl toosendanopentaol*, *23-acetate alismaketone*, *dehydroxy-24-acetate alisol*, *prosapogenin 2*, *stigmastan-3,6-dione*. Ekstrak etil asetat daun tumih perlu dilakukan permunian sampel kembali dengan cara isolasi kromatografi kolom untuk mendapatkan senyawa murni. Selanjutnya perlu diuji aktivitas larvasida *A. aegypti* dan diinterpretasikan struktur molekulnya menggunakan spektrofotometri UV-Vis, FT-IR, MS dan NMR. Selain itu, perlu dilakukan juga penelitian lebih lanjut tentang potensi bioaktivitas lainnya selain anti insekta.

Ucapan Terima Kasih

Kami ucapkan terima kasih kepada Prof. Dr. Muhammad Hanafi yang telah membantu menganalisis ekstrak teraktif daun tumih dengan LC-MS, di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia Pusat Penelitian Kimia Bahan Alam.

Daftar Pustaka

- Aberoinmand A. 2012. Screening of phytochemical compounds and toxic proteinaceous protease inhibitor in some lesser-known food based plants and their effects and potential application in food. *International Journal of Food Science and Nutrition Engineering* 2(2): 1-5.
- Adityo R, Kurniawan B, Mustofa S. 2013. Uji efek fraksi metanol ekstrak batang Kecombrang (*Etlingera elatior*) sebagai larvasida terhadap larva instar III *Aedes aegypti*. MAJORITY (Medical Journal of Lampung University) 10(3):156-164.
- Amir H, Butt BZ, Vehra SE. 2017. Evaluation of larvicidal activity of *Parthenium hysterophorus* against *Aedes aegypti*. *International Journal of Mosquito Research* 4(2): 01-04
- Ardiyanto WN. 2011. Fenologi jenis-jenis pohon hutan rawa gambut.Hlm. 96-102.Prosiding Seminar Hasil Hasil Penelitian BPTKSDA Samboja. Balikpapan, 3 November 2011.
- Bagavan A, Rahuman AA, Kamaraj C, Geetha K. 2008. Larvicidal activity of saponin from *Achyranthes aspera* against *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *Journal Parasitology* 103(3): 223-229.

- Banu KS, Cathrine I. 2015. General techniques involved in phytochemical analysis. *International Journal of Advanced Research in Chemical Science* 3(4): 25-32.
- Bargah KR. 2015. Preliminary test of phytochemical screening of crude ethanolic and aqueous extract of *Moringa pterygosperma* Gaeth. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 4(1): 07-09.
- Cania F, Setyaningrum E. 2013. Uji efektivitas larvasida ekstrak daun legundi (*Vitex trifolia*) terhadap larva *Aedes aegypti*. *Medical Journal of Lampung University* 2(4): 10-15
- Chandra RA. 2012. Isolasi uji aktivitas antitoksidan dan senyawa alkaloid dari ekstrak daun *Phoebe decliana* Ness. Skripsi (Tidak dipublikasikan). Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam UI, Depok.
- Edewor TI, Owa SO, Ologan AO, Akinfemi F. 2016. Quantitative determination of the saponin content and GC-MS study of the medicinal plant *Cassytha filiformis* (Linn.) leaves. *Journal of Coastal Life Medicine* 4(2): 154-156.
- Florence AR, Solomon J. 2016. Larvicidal activity of *Gmelina asiatica* L. leaf extracts against *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. *Annals of Biological Research* 7(1): 12-20.
- Gautam K, Kumar P, Poonia S. 2013. Larvicidal activity and GC-MS analysis of flavonoids of *Vitex negundo*, and *Andrographis paniculata* against two vector mosquitoes *Anopheles stephensi* and *Aedes aegypti*. *Journal of Vector Borne Diseases* 50(3): 171-178.
- Gasparr EMM, Higuinaldo JC, Neves. 1993. Steroid constituents from mature wheat straw. *Phytochemistry* 34(2):523-527.
- Geris R, Ribeiro. RP, Brandão DSM, Heloísa HGDSH, Ionizete. GDS. 2012. Bioactive natural products as potential candidates to control *Aedes aegypti*, the vector of dengue. *Studies in Natural Products Chemistry* 37(4): 277-376
- Guierrez MP, Aubrey, Antepuese NA, Adrian AI, Eugenio, Flieurrelle MI, Santos. 2014. Larvicidal activity of selected plant extracts against the dengue vector *Aedes aegypti* mosquito. *International Research Journal of Biological Science* 3(4): 23-32.
- Guterres A, Rio JCL, Matines MJ, Martines AT. 1999. Fungal degradation of lipophilic extractives in *Eucalyptus globules* wood. *Applied and Environmental Microbiology* 64(4): 1367-1371
- Haditomo I. 2010. Efek larvasida ekstrak daun cengkeh (*Syzygium Aromaticum* L) terhadap *Aedes Aegypti* L. Skripsi (Tidak dipublikasikan). Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Handayani S. 2013. Kandungan flavonoid kulit batang dan daun pohon api-api (*Avicennia marina* (Forsk.) Vierh.) sebagai senyawa aktif antioksidan. Skripsi (Tidak dipublikasikan). Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan IPB, Bogor.
- Hampel D, Robinson AL, Johnson AJ, Ebeler SE. 2014. Direct hydrolysis and analysis of glycosidically bound aroma compounds in grapes and wines: comparison of hydrolysis conditions and sample preparation methods. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 20(3): 1-17.
- Hill RA, Krik DN, Makin HLJ, Murphy GM. 1991. *Dictionary of steroid index*. Chapman & Hall, London.
- Hong JM, Kwon OK, Shin HH, Jeon CM, Oh SR, Han SB, Ahn KS. 2015. Anti-inflammatory activities of *Physalis alkekeng* va. Francheti extract through the inhibition of MMP-9 and AP-1 activation. *Immunobiology* 220(1): 1-9.
- Huang RC, Suenaga H, Jian-Bo Z, Nakatani M. 1995. Insect antifeeding property of limonoids from Okinawan and Chinese *Melia azedarach* and from Chinese *Melia toosendan* (Meliaceas). *Bioscience Biotechnology and Biochemistry* 59(9): 1755-1757.
- Jeradat N, Hussien F, Ali AA. 2015. Preliminary phytochemical screening, quantitative estimation of total flavanoid, total phenol and antioxidant activity of *Ephedra alata* Deene. *Journal of Material and Environmental Science* 6(6): 1771-1778.
- Jian-Long Z, Hai-Yan T, Li J, Jun L, Luo C, Wen-Cai Y, Ren-Wang J. 2012. Steroids with inhibitory activity against the prostate cancer cells and chemical diversity of marine alga *Tydemania expeditionis*. *Fitoterapi* 83(5): 973-978.
- Kissinger, Thamrin G, Muhanayah R. 2012. Konservasi keanekaragaman hayati hutan kerangas berbasis penemuan bioaktivitas tumbuhan sebagai antidiabetes. *Prosiding InSiNes* 1316 (3): 238-241.
- Kissinger, Zuhud EAM, Latifah, Darusman, Iskandar. 2013. Penapisan senyawa fitokimia dan pengujian antioksidan ekstrak daun pohon merapat (*Combretocarpus rotundatus* (Miq.) dari hutan kerangas. *Jurnal Penelitian Hasil Hutan* 31(1): 9-18.
- Kim S, Ahn Y. 2017. Larvicidal activity of lignans and alkaloid identified in *Zanthoxylum piperitum* bark toward insecticide-susceptible and wild *Culex pipiens pallens* and *Aedes aegypti*. *Journal Parasit Vectors* 10(2): 221-226.
- Konoshima T, Fukushima H, Inul H, Sato K, Sawada T. 1981. The structure of prosapogenin obtained from the saponin of *Gleditsia japonica*. *Phytochemistry* 20(1): 139-142.
- Kovganko NV, Survilo VL. 2000. New synthesis of ecdysteroids based on stigmasterol. *Chemistry of Natural Compounds* 36(4):377-380.
- Kuljanabhagavad T, Thongphasuk P, Chamulitrat W, Wink M. 2008. Triterpene saponins from *Chenopodium quinoa* Willd. *Phytochemistry* 69(1):1919-1926.
- Lawrens FIJ, Wahoyongan GJ, Bernaad JB. 2014. Pengaruh dosis abate terhadap jumlah populasi jentik nyamuk *Ades aegypti* di Kecamatan Malayang Kota Manado. Skripsi (Tidak dipublikasikan). Fakultas Pertanian Universitas Sam Ratulangi, Manado.
- Lee AS, Jo KH, Im OB, Kim S, Whang KW, Ko KS. 2012. Change in the contents of prosapogenin in the red ginseng (*Panax ginseng*) depending on steaming batches. *Journal Gingseng Research* 36(1): 102-106.

- Lelono RAA, Tachibana S, Toh K. 2009. Isolation of antifungal compounds from *Gardenia jasminoides*. Pakistan Journal of Biological Sciences 12(3):949-956.
- Limin ZA. 2014. Keawetan alami kayu tumih (*Combreto-carpus rotundatus* (Miq.) Danser) dari serangan rayap kayu kering, rayap tanah dan jamur pelapuk kayu. Skripsi (Tidak dipublikasikan). Fakultas Kehutanan IPB, Bogor.
- Liu Y, Nyberg NT, Jäger AK, Staerk D. 2017. Facilitated visual interpretation of scores in principal component analysis by bioactivity-labeling of 1H NMR spectra - metabolomics investigation and identification of a new -glucosidase inhibitor in *Radix Astragali*. Molecules 22(3): 2-12.
- Maitera ON, Chukkol IB. 2016. Phytochemical and Fourier Transform Infrared Spectroscopy analysis of *Faidherbia Albida* (Del) as a preservative agent. World Journal of Research and Review 3(3): 25-29.
- Matsuda H, Toguchida I, Kageura T, Yoshikawa M. 1999. Effects of sesquiterpenes and triterpenes from the rhizome of *Alisma orientale* on nitric oxide production in lipopolysaccharide-activated macrophages: Absolute stereostructures of alismaketones-b 23-acetate and -c 23-acetate. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 9(21): 3081-3086.
- Munawaroh S, Handayani PA. 2010. Ekstraksi minyak daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C.) dengan pelarut etanol dan *n*-heksana. Jurnal Kompetensi Teknik 2(1): 73-78.
- Nakajima Y, Satoh Y, Katsuma M, Tsujiyama K, Ida Y, Shoji J. 1994. Terpenoid of *Alisma oreintale* rhizome and the crude drug alismatis rhizome. Phytochemistry 36(1): 119-127.
- Ningsih D, Zufahir, Kartika D. 2016. Identifikasi senyawa metabolit sekunder serta uji aktivitas ekstrak daun sirsak sebagai antibakteri. Molekul 11(1):101 - 111.
- Nugroho A. 2011. Kematian larva *Aedes aegypti* setelah pemberian abate dibandingkan dengan pemberian serbuk serai. Jurnal Kesehatan Masyarakat 7(1): 91-96.
- Ogihara Y, Chen Y, Kobayashi Y. 1987. A new prosapogenin from *Hovenia* saponin D by mild alkaline degradation. Chemical and Pharmaceutical Bulletin 35(6): 2574-2575..
- Putri WS, Warditiani NK, Larasanty LPF. 2013. Skrining fitokimia ekstrak etil asetat kulit buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.). Skripsi (Tidak Dipublikasikan). Jurusan Farmasi Universitas Udayana, Bali.
- Putri LN. 2013. Uji aktivitas larvasida fraksi etil asetat ekstrak etanol kulit batang karet India (*Ficus elastica* Nois exb Blume) serta skrining fitokimianya. Skripsi (Tidak dipublikasikan). Fakultas Farmasi Universitas Surakarta, Solo
- Radulović NS, Derđević ND. 2011. Steroids from poison hemlock (*Conium maculatum* L.): a GC-MS analysis. Journal of the Serbian Chemical Society 76(11): 1471-1483.
- Rumengan A. 2010. Uji larvasida nyamuk (*Aedes aegypti*) dari Ascidian (*Didemmun molle*). Jurnal Perikanan dan Kelautan 5(2): 83-86.
- Ruiz-Guerrero R, AlbertoRodríguez-Pérez M, Norzagaray-Campos M. 2015. Toxicity of Mexican native plant extracts against larvae of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). Asia Pacific Journal of Tropical Biomedicine 5(4): 287-291.
- Rohyani IS, Ayanti E, Suropto. 2015. Kandungan fitokimia beberapa jenis tumbuhan lokal yang sering dimanfaatkan sebagai bahan baku obat di Pulau Lombok. Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversiti Indonesia 1(2):388-391.
- Sharma NK, Kulshreshtha DK, Tandon SJ, Bhakuni DS, Dhar MM. 1974. Two new sterols from *Physalis frabchetii* fruit. Phytochemistry 13(10): 2230-2245.
- Singh LH, Bag CC. 2013. Phytochemical analysis and determination of total phenolics content in water extracts of three species of hedychium. International Journal of PharmTech Research 5(4): 1516-1521.
- Sudira IW, Merdana I, Wibawa I. 2011. Uji daya hambat ekstrak daun kedondong (*Lannea Grandis Engl*) terhadap pertumbuhan Bakteri *Erwinia carotovora*. Buletin Veteriner Udayana 3(1):45-50.
- Sulistiyaningrum A. 2015. Artiek revian efectiveness of essential oil as larvacida an *Aedes aegypti*. Jurnal Majority 4(3): 23-28.
- Sørensen MDA, Lyneborg SK, Villeneuve P, Jacobsen C. 2015. Alkyl chain length impacts the antioxidative effect of lipophilized ferulic acid in fish oil enriched milk. Journal of Functional Foods 18(1): 959-967.
- Tanaya, Vivi, Retnowati R, Suratmo. 2015. Fraksi semipolar dari daun mangga Kasturi. Jurnal Ilmu Kimia Universitas Brawijaya 1(1):778-784.
- Tempone AG, Satrolli P, Teixeira D, Prado OF, Calixo AL, Lorenzi H, Melhem SCM. 2008. Brazilian flora extracts of novel antileishmanial and antifungal Compounds. Memorias di Instituto Oswaldo Crus 103(5): 443-449.
- Tiwari P, Kumar B, Kaur M, Kaur G, Kaur H, 2011. Phytochemical screening and extraction : A review. Internationale Pharmaceutica Scientia 1(1): 96-106.
- Touré S, Nirma C, Falkowski M, Dusfour I, BoulogneI, Jahn-OyacA, Coke M, Azam D, Girod R, Moriou C, Odonne G, Stien D, Houël E, Eparvier V. 2017. *Aedes aegypti* larvicidal sesquiterpene alkaloids from *Maytenus oblongata*. Journal of Natural Products 80(2):384-390.
- Tsuzuki O, Svinzinski TIE, Shinobu CS, Silva L, Rodrigues-Filho E, Cortez DAG, Ferreire ICP. 2007. Antifungal activity of the extracts and saponins from *Sapindus saponaria* L. Anais da Academia Brasilierade Ciencias 79(4): 577-583.
- Wardani RS, Mifbakhbudi, Yokorinanti K. 2012. Pengaruh konsentrasi ekstrak daun tembeleken (*Lantana camara*) terhadap kematian larva *Aedes aegypti*. Jurnal Kesehatan Masyarakat Indonesia 6(2): 30-38.
- Zhou X, Xie G, Yan X. 2011. Encyclopedia of traditional Chinese medicines. Vol 1. Isolated compounds A-C. Springer, Berlin.
- Zhou X, Xu T, Liu Y. 2016. *Alisma orientale*, a common traditional Chinese medicine plant a diuretic agent. RPMP 28(2): 461-480.