



IDENTIFIKASI DAN UJI TOKSISITAS AZADIRACHTIN DARI DAUN MIMBA SEBAGAI BIOINSEKTISIDA WALANG SANGIT

Sumaryono*), Latifah dan Sri Mantini Rahayu Sedyawati

Jurusan Kimia FMIPA Universitas Negeri Semarang

Gedung D6 Kampus Sekaran Gunungpati Telp. (024)8508112 Semarang 50229

Info Artikel

Sejarah Artikel:
Diterima Pebruari 2013
Disetujui Pebruari 2013
Dipublikasikan Mei 2013

Kata kunci:
daun mimba
azadirachtin
walang sangit

Abstrak

Mimba (*Azadirachta indica*), merupakan tanaman yang mengandung senyawa Azadirachtin yang dapat digunakan sebagai bioinsektisida. Penelitian dilakukan dengan metode maserasi dan ekstraksi menggunakan pelarut n heksan dan etanol kemudian diekstraksi dengan petroleum eter dan etil asetat. Ekstrak yang didapatkan kemudian di analisis dengan IR dan HPLC. Ekstrak daun mimba dilakukan uji tosisitas dengan cara disemprotkan pada walang sangit yang berada di dalam wadah dengan kosentrasi ekstrak daun mimba yang bervariasi. Dari hasil analisis spektrum IR menunjukkan adanya gugus -OH, C-H, C=O, C=C, -CH₂, C-H₃ dan C-O hasil dari kromatografi HPLC sampel mempunyai waktu retensi (t_R) 2,8 hal ini menunjukkan dalam ekstrak daun mimba terdapat senyawa azadirachtin yang di cocokan dengan waktu retensi azadirachtin standar. Kadar azadirachtin dalam sampel 3,29%, 22,72% dan 23,55%. Dari hasil uji toksisitas ekstrak daun mimba yang disemprotkan pada walang sangit dengan metode LD₅₀ di dapatkan dosis 29,3 % untuk mematikan setengah dari jumlah walang sangit.

Abstract

Neem (*Azadirachta indica*), a plant that contains Azadirachtin compound that can be used as bioinsektisida. The study was performed by maceration method and solvent extraction using n-hexane and ethanol then extracted with petroleum ether and ethyl acetate. Extracts were obtained and then analyzed by IR and HPLC. Neem leaf extract toxicity test performed by spraying the walang sangit pest inside the container with the concentration of neem leaf extracts varied. From the analysis of the IR spectrum showed the presence of the -OH, CH, C=O, C=C-CH₂, C-H₃ and CO results from HPLC chromatography sample has a retention time (t_R) 2.8, this shows the neem leaf extract there is a match on azadirachtin compound with a retention time standard azadirachtin. Levels of azadirachtin in sampel 3.29%, 22.72% and 23.55%. From the results of toxicity tests neem leaf extract sprayed on rice pest walang method in getting LD₅₀ doses of 29.3% to shut half of walang sangit pest.

Pendahuluan

Perkembangan pengendalian hama dan penyakit melalui insektisida sintetik telah menimbulkan banyak efek yang membahayakan bagi kesehatan. Salah satunya adalah timbulnya efek residu pada tanaman objek. Hal ini memberikan transfer pengaruh residu toksik baik pada manusia secara langsung atau hewan-hewan lain.

Meningkatnya harga pestisida sintetik dipasaran maka perlu dicarikan solusi masalah tersebut. Ketergantungan petani Indonesia akan penggunaan pestisida sintesis masih sangat tinggi 20% produksi pestisida yang ada di dunia pada tahun 1984 diserap oleh Indonesia. Pada periode 1982-1987 penggunaan pestisida di Indonesia meningkat 236 % dibanding dengan periode sebelumnya dan diprediksikan akan meningkat setiap tahunnya (Novizan, 2002).

Residu pestisida sintesis sangat sulit terurai secara alami. Bahkan untuk beberapa jenis pestisida memiliki residu yang dapat bertahan hingga puluhan tahun. Dari beberapa hasil monitoring yang dilaksanakan, diketahui bahwa saat ini residu pestisida yang sulit terurai hampir ditemukan di setiap lingkungan sekitar kita. Kondisi ini secara tidak langsung dapat menyebabkan pengaruh negatif terhadap organisme yang bukan sasaran. Oleh karena sifatnya yang beracun serta relatif resisten di lingkungan, residu yang tertinggal di lingkungan akan menjadi masalah. Menurut WHO (*World Health Organisation*) paling tidak 20.000 orang meninggal akibat keracunan pestisida, sekitar 5.000-10.000 orang per tahun mengalami dampak yang sangat fatal seperti kanker, cacat tubuh, kemandulan, dan penyakit liver (Barus, 2007).

Untuk mengatasi dampak negatif yang ditimbulkan pestisida sintesis, maka para peneliti tertarik untuk mencari pestisida alternatif yang berasal dari tumbuhan. Pestisida ini lebih selektif terhadap serangga sasaran dan lebih bersahabat dengan lingkungan. Untuk itu para peneliti memulai lagi melakukan pengujian terhadap tumbuhan yang telah diketahui bersifat pestisida seperti daun mimba (Nursal, 2004).

Penggunaan insektisida alami nabati (botani) relatif tidak meracuni manusia, hewan, dan tanaman lainnya karena sifatnya yang mudah terurai sehingga residu yang ditimbulkan juga mudah terurai, insektisida alami nabati juga tidak menimbulkan efek samping pada lingkungan, bahan bakunya dapat diperoleh

dengan mudah dan murah, serta dapat dibuat dengan cara yang sederhana sehingga mudah untuk diadopsi oleh petani (Setiawan, 2010)

Tanaman mimba (*Azadirachta indica*), terutama dalam biji dan daunnya mengandung beberapa komponen dari produksi metabolit sekunder seperti azadirachtin, salanin, meliantriol, nimbin dan nimbidin yang diduga sangat bermanfaat, baik dalam bidang pertanian (pestisida dan pupuk), maupun farmasi (kosmetik dan obat-obatan), (Aradilla, 2009). Dzakiya,(2010) menggunakan ekstrak daun mimba sebagai pestisida alam yang aman bagi makhluk hidup dan lingkungan yang diaplikasikan pada tanaman terong (*Solanum melongena L*) untuk mengatasi dari hewan pengganggu seperti belalang dan ulat. Dari penelitian tersebut diketahui bahwa mimba tidak membunuh serangga secara langsung tetapi mekanisme kerjanya menurunkan nafsu makan dan menghambat pertumbuhan dan reproduksi. Di dalam ekstrak daun mimba terdapat senyawa azadirachtin yang merupakan penurun nafsu makan dan *ecdysone blocker* (penghambat hormon pertumbuhan serangga).

Walang sangit merupakan salah satu hama yang sangat mempengaruhi hasil produksi pertanian. Pertumbuhan populasinya yang sangat cepat sangat merugikan hasil panen padi petani. Selain populasi yang sangat cepat, walang sangit tidak hanya makan daun dari tanaman padi tapi juga pada saat bulir masak susu yang menyebabkan bulir menjadi hampa (kosong). Apabila diganggu, serangga ini akan mempertahankan diri dengan mengeluarkan bau. Selain sebagai mekanisme pertahanan diri, bau yang dikeluarkan juga digunakan untuk menarik walang sangit lain dari spesies yang sama. Walang sangit merusak tanaman ketika mencapai fase berbunga sampai matang susu. Kerusakan yang ditimbulkannya menyebabkan beras berubah warna dan mengapur, serta gabah menjadi hampa atau kosong (Warti, 2006).

Metode Penelitian

Populasi pada penelitian ini adalah daun mimba kering yang diambil dari daerah Gunungpati Semarang. Sampel adalah sebagian diambil dari populasi, sehingga sampel dalam penelitian ini adalah 500 gram daun mimba kering. Variabel bebas pada penelitian ini adalah waktu yang digunakan untuk maserasi 24 jam, 48 jam dan 72 jam dan volume ekstrak daun mimba untuk uji toksisitas tanpa ekstrak daun mimba, 100, 200, 300 dan 400 mL yang dilarutkan masing-masing dalam 500 mL

aquades. Untuk variabel terikat pada percobaan ini adalah toksisitas azadirachtin sebagai bio insektisida walang sangit. Untuk variabel terkontrol adalah lamanya ekstraksi, cara kerja, suhu pemanasan dan alat-alat yang digunakan.

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah Daun mimba yang diambil dari Gunungpati Semarang, akuades, etanol, metanol 95% (pa, merck), etil asetat, petroleum eter (pa, merck), n-heksana, silika gel GF265, Na₂SO₄ anhidrat.

Alat yang digunakan dalam penelitian adalah spektrofotometer IR Shimadzu FTIR 820 IPC, seperangkat alat *High Pressure Liquid Chromatography* (HPLC), kolom kromatografi, evaporator.

Ekstraksi daun mimba dilakukan dengan metode maserasi. Daun mimba yang sudah dikeringkan dan diblender hingga 100 mesh. Sebanyak 500 gram serbuk daun mimba dimaserasi dengan n-heksana sebanyak 1 L. Kemudian hasil residu diekstraksi dengan etanol, kemudian filtrat dipartisi dengan petroleum eter-metanol dengan perbandingan 1:1. Dilanjutkan dengan partisi dengan menggunakan etil asetat-air dengan perbandingan 1:1. Selanjutnya di murnikan dengan kromatografi kolom dengan silika gel 15 gram sebagai fase diam, panjang kolom 30 cm, diameter kolom 2 cm dan dengan eluen etil asetat dan n heksana dengan perbandingan 3:1. Eluen diuji menggunakan spektrofotometer IR dan HPLC.

Untuk uji toksisitas disiapkan walang sangit dalam setiap toples sebanyak 20 ekor dan toples di tutup dengan kain jaringa sebagai pernapasan untuk walang sangit. Ekstrak mimba yang diambil setelah maserasi dengan etanol sebanyak, 100, 200, 300, dan 400 mL diencerkan dengan air sampai volume 500 mL. Ekstrak mimba berbagai konsentrasi disemprotkan ke dalam toples yang terisi walang sangit. Pengamatan dilakukan setiap 60 menit selama 6 jam. Dihitung jumlah walang sangit yang mati di setiap toplesnya.

Hasil dan Pembahasan

Hasil ekstraksi daun mimba kering dapat dilihat pada Tabel 1. Setelah dilakukan dua kali ekstraksi dengan pelarut n-heksana dan etanol kemudian di evaporasi untuk mengurangi pelarut yang terkandung didalam ekstrak etanol.

Penentuan kadar Azadirachtin dilakukan dengan uji HPLC dengan cara melihat kesamaan pick larutan standar azadirachtin dari

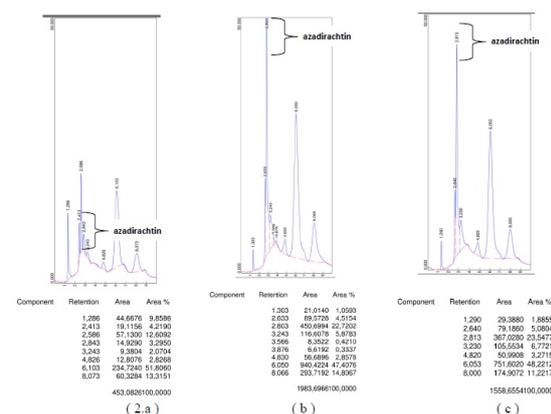
neem oil yang sudah ada dipasaran dengan pick sampel yang akan diuji kadar azadirachtin. Larutan neem oil yang sudah di partisi dengan petroleum eter dan methanol kemudian di uji dengan HPLC untuk mengetahui waktu retensi (t_R) senyawa azadirachtin yang terkandung di dalam larutan neem oil. Waktu retensi (t_R) dari neem oil tersebut digunakan sebagai standar dalam menentukan kandungan senyawa azadirachtin dalam setiap sampel yang di diujikan. Dari hasil HPLC larutan standar neem oil mempunyai waktu retensi (t_R) 2,943. Untuk gambar kromatogramnya dapat dilihat dalam Gambar 1.

Tabel 1. Hasil ekstraksi daun mimba kering dengan pelarut n heksana dan etanol

Waktu maserasi dalam jam	Hasil maserasi		Hasil evaporasi (mL)
	Pelarut n heksana (mL)	Pelarut etanol (mL)	
24	1000 mL	670 mL	68 mL
48	1000 mL	660 mL	69 mL
72	1000 mL	700 mL	66 mL



Gambar 1. Kromatogram HPLC Azadirachtin dari standart neem oil

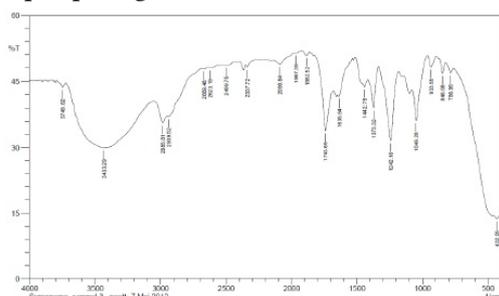


Gambar 2. (a) Kromatogram HPLC Azadirachtin dari ekstrak daun mimba yang dimaserasi selama 24 jam (b) 48 jam (c) 72 jam

Berdasarkan kromatogram hasil HPLC menunjukkan bahwa didalam ekstrak Daun Mimba mengandung senyawa azadirachtin yang mempunyai waktu retensi (t_R) 2,843 menit memiliki kadar 3,29% pada sampel yang di maserasi selama 24 jam, waktu retensi (t_R) 2,803

menit memiliki kadar 22,72% pada sampel yang dimaserasi selama 48 jam, dan waktu retensi (t_R) 2,813 menit memiliki kadar 23,54% pada sampel yang di maserasi selama 72 jam. Hal ini disesuaikan dengan waktu retensi dari sampel standar minyak neem oil pada Gambar 1.

Spektrofotometer infra merah digunakan untuk menganalisis gugus fungsi dari senyawa kimia yang terdapat pada daun mimba dengan pelarut etil asetat. Uji dengan spektrometer inframerah menghasilkan spektra IR seperti tampak pada gambar di bawah ini.



Gambar 3. Spektrum inframerah (IR) Azadirachtin dalam fraksi etil asetat yang dimaserasi selama 72 jam

Hasil identifikasi ekstrak sampel daun mimba fraksi etil asetat yang dimaserasi selama 72 jam dengan etanol yang di uji menggunakan spektrofotometer IR yang ditunjukkan dengan Gambar 3. menunjukkan adanya serapan yang khas di daerah bilangan gelombang 3433,29 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus $-\text{OH}$, pada bilangan gelombang 2985,81 cm^{-1} dan 2939,52 cm^{-1} menunjukkan adanya ikatan C-H alifatik, pada bilangan gelombang 1743,65 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus C=O, pada bilangan gelombang 1635,64 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus C=C alkena, pada bilangan gelombang 1442,75 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus $-\text{CH}_2$, pada bilangan gelombang 1373,32 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus $-\text{CH}_3$, pada bilangan gelombang 1242,16 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus C-O.

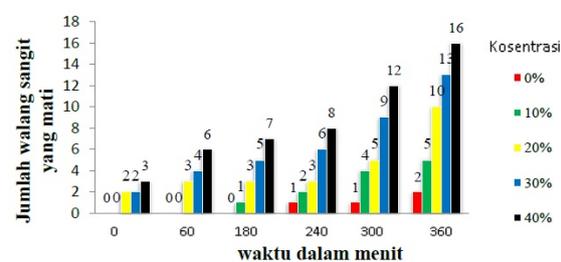
Ekstrak daun mimba dapat digunakan sebagai uji toksisitas terhadap walang sangit. Penelitian ini dilakukan dengan skala kecil pada walang sangit dengan cara menyemprotkan ekstrak daun mimba yang sudah divariasi dengan kadar tertentu. Kemudian walang sangit yang sudah dipersiapkan dimasukan kedalam setiap wadahnya, kemudian disemprotkan ekstrak daun mimba dan ditutup dengan plastik yang sudah dilubangi. Setelah itu diamati setiap jamnya dan di hitung berapa yang mati dan berapa yang masih hidup. Hasilnya dapat

dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Jumlah walang sangit yang mati pada setiap kelompok yang terdiri dari 20 walang sangit setelah disemprotkan ekstrak daun mimba diamati sampai 360 menit

No	Kosentrasi/ dosis	Jumlah walang sangit yang mati pada menit ke:					
		60 menit	120 menit	180 menit	240 menit	300 menit	360 menit
1	0 %	0	0	0	1	1	2
2	10 %	0	0	1	2	4	5
3	20%	2	3	3	3	5	10
4	30%	2	4	5	6	9	13
5	40%	3	5	7	8	12	16

Sampel walang sangit yang disemprot dengan ekstrak daun mimba menunjukkan peningkatan jumlah kematian dengan bertambahnya konsentrasi ekstrak daun mimba yang sudah ditentukan. Untuk melihat peningkatan jumlah kematian walang sangit dapat di lihat pada diagram batang di bawah ini.



Gambar 4. Waktu vs walang sangit yang mati pada berbagai konsentrasi ekstrak daun mimba

Dalam uji toksisitas suatu bahan kimia yang biasanya digunakan adalah dengan metode LD_{50} atau yang sering disebut dengan dosis lethal 50 %. Dosis lethal 50% adalah dosis suatu obat atau bahan kimia yang dapat menyebabkan kematian sampai 50% dari jumlah hewan yang diuji.

Dalam perhitungan penentuan LD_{50} dapat menggunakan metode lichfield dan wilcoxon yaitu dengan menghitung jumlah persentase kematian dari berbagai macam dosis atau konsentrasi sampel yang digunakan (Winarto, 2009:163). Dari Gambar 3 terlihat pada akhir pengamatan menit ke 360 menunjukkan pada kelompok 1 terdapat 2 walang sangit yang mati, kelompok 2 terdapat 5 walang sangit yang mati, kelompok 3 terdapat 10 walang sangit yang mati, kelompok 4 terdapat 13 walang sangit yang mati dan kelompok 5 terdapat 16 walang sangit yang mati. Untuk penentuan LD_{50} , maka dibuat Tabel 3 berikut

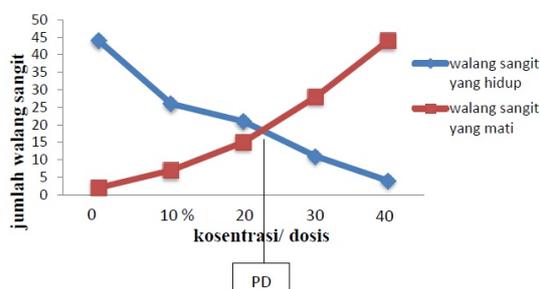
Pada Tabel 3. kolom A adalah dosis ekstrak, kolom B merupakan jumlah walang sangit yang masih hidup selama penelitian dan kolom C adalah jumlah walang sangit yang mati selama penelitian pada setiap konsentrasi

atau dosis. Kolom D merupakan jumlah komulatif walang sangit yang masih hidup, yang akan tetap hidup kalau walang sangit kelompok ini diberikan dosis yang lebih rendah. Dengan demikian kolom D merupakan penjumlahan dari kolom B dari baris paling bawah ke atas dan penjumlahan kolom C dimulai dari baris paling atas kebawah. Kolom E berisi peresentase jumlah walang sangit yang mati pada setiap dosis selama penelitian. Kalau walang sangit pada dosis tertentu mati, maka apabila disemprotkan dengan dosis yang lebih tinggi, maka walang sangit tersebut tentunya akan mati, sehingga jumlah kolom E merupakan penjumlahan kolom C dimulai dari atas ke bawah.

Tabel 3. Presentase kematian walang sangit dalam penentuan *Lethal Doses* 50 (LD₅₀)

A	B	C	D	E	
Kosentr asi/ dosis	Jml walang sangit Hidup	Jml walang sangit Mati	Jml total Walang sangit Hidup	Jml total Walang sangit Mati	Presentase mati (%)
0 %	18	2	44	2	3,35
10 %	15	5	26	7	21,21
20%	10	10	21	15	41,67
30%	7	13	11	28	71,79
40%	4	16	4	44	91,67

Pada Tabel 3 nampak bahwa tingkat kematian pada dosis 0 %, 10% dan 20 % ekstrak daun mimba, adalah 3,35 %, 21,21% dan 41,67 %, suatu presentase yang masih lebih kecil dari 50 % yang berarti berada dibawah LD 50. Sedangkan pada tingkat kematian walang sangit pada dosis 30 % dan 40 % ekstrak daun mimba adalah 71,79 % dan 91,67 % menunjukkan suatu persentase yang melebihi 50 %. Dengan demikian letak LD 50 berada diantara 20 % dan 30 % dosis ekstrak daun mimba . untuk menentukan berapa persen dosis untuk kematian 50 % yang mati maka dibuat grafik seperti pada Gambar 5.



Gambar 5. Jumlah walang sangit yang hidup maupun yang mati setelah diamati 360 menit dan penentuan proposional distance

Jarak proportional distance (PD) dihitung dengan rumus yang sesuai dengan penelitian Winarto,(2009:164) sebagai berikut

$$PD = \frac{50 \% - (\% \text{ kematian dosis walang sangit rendah})}{(\% \text{ kematian dosis walang sangit yang tinggi}) - (\% \text{ kematian dosis walang sangit rendah})}$$

$$PD = \frac{50 \% - 41,67 \%}{91,67 \% - 41,67 \%}$$

$$= 0,167$$

Untuk menghitung LD₅₀ menggunakan rumus sebagai berikut

$$LD_{50} = \text{Anti log} [\{ \log \text{ dosis rendah} \} + \{ PD \times (\log \text{ factor pengenceran}) \}]$$

$$= \text{anti log} [\{ \log 20 \} + \{ 0,167 \times \log 10 \}]$$

$$= \text{anti log} [\{ \log 20 \} + \{ 0,167 \}]$$

$$= \text{anti log} [1,3 + 0,167]$$

$$= \text{anti log} 1,467$$

$$= 29,3 \%$$

LD₅₀ ekstrak daun mimba pada walang sangit pada penelitian ini didapatkan sebesar 29,3%. dengan demikian dari perhitungan LD50 bahwa ekstrak mimba dapat membunuh walang sangit sebesar 50 % apabila dosis yang digunakan adalah 29,3 %.

Simpulan

Kadar azadirachtin di dalam sampel daun mimba sebesar 23,54% yang mempunyai waktu retensi 2,813 dengan waktu maserasi 72 jam, sebesar 22,72% yang mempunyai waktu retensi 2,805 dengan waktu maserasi 48 jam dan sebesar 3,29% yang mempunyai waktu retensi 2,843 dengan waktu maserasi 24 jam. Sedangkan toksisitas ekstrak daun mimba sebagai bioinsektisida walang sangit yang mempunyai toksisitas 19,95% akan dapat membunuh 50% jumlah walang sangit yang diukur dengan metode LD₅₀.

Daftar Pustaka

- Aradilla, A. 2009. Uji efektivitas larvasida ekstrak ethanol daun mimba (*azadirachta indica*). Terhadap larva *aedes aegypti*. Skripsi Semarang: Universitas Diponegoro
- Barus, A. 2007. Uji Efektifitas Beberapa Pertisida Nabati Untuk Mengendalikan Penyakit Pada Tanaman Kacang Kedelain. Skripsi. Medan: Universitas Negeri Medan, 15
- Dzakiya, N. 2010. Pemanfaatan daun mimba (*azadirachta indica* Juss) Sebagai pestisida alami yang aman Bagi makhluk hidup dan ramah lingkungan. Jurnal. Malang: Universitas Negeri Malang.
- Novizan. 2002. Membuat dan Memanfaatkan Pestisida Ramah Lingkungan. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Setiawan, D. 2010. Kajian Daya Insektisida Ekstrak Daun Mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) Terhadap Perkembangan Serangga Hama Gudang *Sitophilus oryzae* Linn. *Jurnal penelitian sains*. Sriwijaya: Universitas Sriwijaya, 1006-12-47
- Warti .2006. Perkembangan Hama Tana Man

Padi Pada Tiga Sistem Budidaya Winarto. 2009. Penentuan LD 50 Penyakit
Pertanian. Skripsi. Bogor: Institut Infeksi *toxoplasma gondii* pada mencit
Pertanian Bogor balb/c. Artikel volume 43 nomor 4 tahun