

# PENGARUH FRAKSI AKTIF *AGLAIHA HARMSIANA* PERKINS (MELIACEAE) TERHADAP FISILOGI LARVA *SPODOPTERA LITURA* (F.) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

Eka Candra Lina<sup>1</sup>, Djoko Prijono<sup>2</sup>, Dadang<sup>2</sup>

## ABSTRACT

*The effect of active fraction Aglalia harmsiana Perkins (Meliaceae) to physiology of Spodoptera litura (F.) (Lepidoptera : Noctuidae) larvae.* This study was conducted to evaluate the physiological interferences in the soybean armyworm *Spodoptera litura* caused by active fractions of *Aglalia harmsiana* seed extract. The activity of the test materials was assessed by dietary preparation and topical application method. Repeated fractionations of *A. harmsiana* extract by chromatographic methods yielded two active fractions, designated as fraction 2-7 (0.0184%) and 2-8 (0.3773%). The results showed that fraction 2-8 had strong insecticidal activity against *S. litura* larvae, with LC<sub>50</sub> by topical application and dietary preparation were 0.49% and 0.0044%, respectively. A sublethal treatment with the active fraction (LC<sub>25</sub>) reduced the relative growth rate, efficiency of conversion of ingested food, and efficiency of conversion of digested food by 52.9%, 42.9%, 49.6% with topical application and 66.7%, 50%, 63.8% with dietary preparation method. The treatments with that fraction at LC<sub>10</sub> and LC<sub>25</sub> to the fourth instars reduced the activity of invertase enzyme by 34% and 47%, but increased the activity of trehalase by 6.2% and 12.5% as compared with controls.

**Key words :** *A. harmsiana*, *S. litura*, botanical insecticide, metabolic enzymes

## PENDAHULUAN

Dampak negatif insektisida sintetik, di antaranya resistensi dan resurgensi hama sasaran, terbunuhnya musuh alami dan organisme bukan sasaran lainnya, pencemaran lingkungan serta bahaya residu pada hasil panen (Metcalf 1982; Kuroki 1998) telah mendorong orang untuk mencari alternatif yang lebih aman. Bahan insektisida dari tumbuhan (insektisida botani) menjadi pilihan karena memiliki dampak negatif yang relatif lebih lunak dibandingkan dengan insektisida sintetik, yaitu lebih mudah terurai di lingkungan dan umumnya cukup aman terhadap musuh alami hama (Isman 1995; Schmutterer 1997).

Anggota famili Meliaceae, di antaranya genus *Aglalia*, telah dikenal sebagai sumber insektisida botani yang potensial. Salah satu spesies *Aglalia* yang menjanjikan ialah *A. harmsiana*. Hartati & Prijono (1994) melaporkan bahwa ekstrak metanol biji *A. harmsiana* mempunyai efek *antifeedant* dan menghambat perkembangan larva *Crociodolomia pavonana* (F.) (Lepidoptera: Pyralidae). Fraksi aktif ekstrak biji *A. harmsiana* pada konsentrasi subletal juga menurunkan jumlah sel darah larva *C. pavonana* sebesar 47%, sehingga menurunkan enkapsulasi telur dan larva parasitoid oleh inang yang diberi perlakuan fraksi tersebut (Dono *et al.* 1998). Wiyantono *et al.* (2001) menyebutkan bahwa perlakuan subletal secara

kontak fraksi CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> biji *A. harmsiana* pada LD<sub>25</sub> menurunkan laju pertumbuhan, efisiensi konversi makanan dikonsumsi dan efisiensi konversi makanan dicerna larva instar ke-3 *C. pavonana*.

Senyawa aktif yang berhasil diisolasi dari daun *A. harmsiana* termasuk golongan benzofuran turunan dari rokaglamida, yang memiliki efek *antifeedant*, penghambat perkembangan, dan insektisida. Tujuh turunan rokaglamida yang berhasil diisolasi tersebut memiliki aktivitas insektisida terhadap *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lepidoptera: Noctuidae) dengan LC<sub>50</sub> antara 0,8 dan 19,7 ppm (Nugroho *et al.* 1997).

Sampai sekarang landasan fisiologi yang dapat digunakan untuk menjelaskan berbagai pengaruh dari ekstrak *A. harmsiana* di atas belum diketahui dengan pasti. Sebagai tahap awal untuk mengungkapkan hal tersebut, terutama yang terkait dengan efek *antifeedant* dan penurunan efisiensi asimilasi makanan, perlu dilakukan percobaan untuk mengetahui pengaruh sediaan *A. harmsiana* terhadap aktivitas enzim metabolik. Selain itu, pemisahan komponen aktif juga perlu dilakukan.

Penelitian ini bertujuan menguji pengaruh fraksi aktif ekstrak biji *A. harmsiana* terhadap mortalitas dan pertumbuhan larva *Spodoptera litura* pada pakan buatan serta terhadap aktivitas enzim invertase dan trehalase.

<sup>1</sup> Dosen Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Andalas, Kampus Limau Manis, Padang

<sup>2</sup> Dosen Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Jl. Kamper Kampus IPB Darmaga, Bogor

## METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Fisiologi dan Toksikologi Serangga, Departemen Hama dan Penyakit Tumbuhan (HPT), Institut Pertanian Bogor (IPB), dari Januari 2002 sampai Desember 2003.

**Pemeliharaan Serangga Uji.** Larva *S. litura* diperbanyak di Laboratorium Fisiologi dan Toksikologi Serangga, Departemen HPT-IPB. Larva diberi pakan buatan dalam wadah plastik (13 cm x 11 cm x 5 cm) yang bagian atasnya berjendela kasa sampai larva mencapai instar ke-2. Setelah menjadi instar ke-3, larva dipindahkan ke tabung plastik (diameter 4 cm, tinggi 4,5 cm) yang telah diisi pakan buatan. Pakan buatan yang berbahan dasar kacang merah dibuat berdasarkan resep yang dikemukakan oleh King & Hartley (1985).

Menjelang pembentukan pupa, ke dalam tabung plastik dimasukkan serbuk gergaji steril sebagai tempat berpupa. Pupa yang terbentuk dikeluarkan dari kokon kemudian dipindahkan ke dalam kurungan plastik-kasa berbingkai kayu (40 cm x 40 cm x 40 cm). Imago yang muncul diberi makan larutan madu (10%) yang diserapkan pada kapas. Dua hari setelah kemunculan imago, ke dalam kurungan dimasukkan daun kedelai yang ditempatkan dalam botol film berisi air sebagai tempat peletakan telur. Telur yang menempel di permukaan daun dipindahkan ke cawan petri (diameter 15 cm) sampai menetas. Larva instar ke-2 yang diperoleh digunakan untuk perlakuan dan perbanyakannya selanjutnya.

**Ekstraksi dan Fraksinasi.** Biji kering *A. harmsiana* yang diperoleh dari Kebun Raya Bogor dihaluskan dengan blender dan diayak dengan pengayak bermata 0,5 mm. Serbuk yang diperoleh diekstrak dengan metanol (1:10 w/v) dalam labu erlenmeyer dan dikocok dengan pengocok magnetik sekurang-kurangnya 24 jam. Ekstrak disaring menggunakan corong Büchner yang dialasi kertas saring Whatman No. 41. Pelarut diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50 °C dan tekanan 337-600 mmHg.

Ekstrak yang diperoleh dipartisi dalam campuran heksana dan metanol 95%, kemudian fraksi yang aktif dipartisi dalam campuran etil asetat dan air. Fraksi yang aktif dipisahkan lebih lanjut dengan teknik kromatografi vakum cair (KVC) seperti yang dikemukakan oleh Coll & Bowden (1986). Pelarut yang digunakan adalah heksana, diklorometana, dan

diklorometana:isopropanol (10:1). Fraksi yang aktif dipisahkan lebih lanjut pada kolom kromatografi dengan penjerap Silika Gel 60 (0,040-0,063 mm) dan eluen diklorometana:isopropanol (19:1). Fraksi yang diperoleh diperiksa kehomogenannya dengan kromatografi lapisan tipis (KLT). Fraksi pada pelat KLT diperiksa menggunakan lampu ultraviolet pada  $\lambda$  254 nm. Setiap fraksi diuji aktivitasnya terhadap larva *S. litura* dengan cara seperti yang diuraikan pada Percobaan 1. Fraksi yang aktif dimurnikan lebih lanjut dengan kolom kromatografi dengan penjerap Silika Gel 60 (0,040-0,063 mm) dan eluen diklorometana:isopropanol (39:1). Fraksi aktif diperiksa kemurniannya dengan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT), dengan kolom C18 dan eluen metanol:air (7:3) kemudian dideteksi dengan sinar ultraviolet pada  $\lambda$  254 nm.

### Percobaan 1. Toksisitas Fraksi Aktif Biji *A. harmsiana* terhadap Larva *S. litura*

Pengujian menggunakan metode pencampuran bahan uji pada makanan buatan. Setiap tahap ekstraksi diikuti dengan uji hayati untuk menentukan aktivitas fraksi yang diperoleh, dan fraksi aktif digunakan sampai tahap akhir penelitian. Pengujian pada tahap pemantauan dilakukan pada konsentrasi 0,25 – 0,5%, pada tahap partisi dilakukan pengujian untuk fase polar 0,25 dan 0,5% dan untuk fase nonpolar 0,01%, 0,05% dan 0,1%. Fraksi KVC diuji lebih lanjut pada konsentrasi 0,01% dan 0,05%. Fraksi yang aktif dipisahkan dengan kromatografi kolom dengan penjerap Silika Gel 60 (0,040-0,063) dengan eluen diklorometana:isopropanol (19:1) kemudian setiap fraksi diuji pada 0,01%. Fraksi yang aktif dimurnikan lebih lanjut dengan kromatografi kolom dengan penjerap yang sama dan eluen diklorometana:isopropanol (39:1). Setiap fraksi yang diperoleh diuji pada konsentrasi 0,005% terhadap larva instar ke-2 (20 ekor/fraksi).

Fraksi aktif yang diperoleh pada tahap akhir diuji lebih lanjut terhadap larva *S. litura* pada beberapa taraf konsentrasi yang diharapkan dapat menyebabkan kematian serangga uji antara 0% dan 100%. Untuk setiap taraf konsentrasi digunakan 40 ekor larva instar ke-2 untuk metode pencampuran dengan pakan buatan dan 30 ekor larva instar ke-3 untuk metode kontak topikal. Pengujian dengan metode pencampuran bahan uji pada pakan buatan dilakukan dengan mencampurkan ekstrak (pelarut

aseton) dengan pakan buatan. Aseton diuapkan dengan rotavapor kemudian ke dalam pakan ditambahkan akuades sebanyak tiga kali bobot pakan. Pakan dikocok dengan vorteks kemudian ditimbang kembali untuk mengoreksi konsentrasi ekstrak yang digunakan. Larva uji diberi pakan berperlakuan selama 7 hari. Pengujian dengan metode kontak topikal dilakukan dengan melarutkan ekstrak dalam aseton, kemudian 1 µl larutan ekstrak diteteskan pada bagian dorsal toraks larva instar ke-3 menggunakan *microapplicator*. Larva diberi pakan tanpa perlakuan selama 2 hari. Mortalitas larva diamati dan dicatat setiap hari. Hubungan antara konsentrasi bahan uji dan tingkat kematian serangga uji pada kedua metode perlakuan diolah dengan analisis probit (Finney 1971).

### **Percobaan 2. Pengaruh Fraksi Aktif Biji *A. harmsiana* terhadap Asimilasi Makanan oleh Larva *S. litura***

Fraksi aktif pada LC<sub>10</sub> dan LC<sub>25</sub> diuji dengan metode kontak topikal (*topical application*) dan metode pencampuran pada pakan buatan terhadap larva *S. litura* instar ke-3 untuk mengetahui pengaruh ekstrak terhadap efisiensi asimilasi makanan. Cara perlakuan dengan metode pencampuran pada pakan buatan sama seperti pada Percobaan 1. Pengujian dengan metode kontak topikal mengikuti prosedur yang dijelaskan oleh Wiyantono *et al.* (2001)

Data yang diperoleh digunakan untuk menentukan laju konsumsi (LK), laju konsumsi relatif (LKR), laju pertumbuhan (LP), laju pertumbuhan relatif (LPR), daya cerna (DC), efisiensi konversi makanan dikonsumsi (EMK), dan efisiensi konversi makanan dicerna (EMC) berdasarkan metode gravimetri (Waldbauer 1968). Data setiap parameter diolah dengan sidik ragam dan perbandingan nilai tengah antarperlakuan dilakukan dengan uji BNT (Steel & Torrie 1980).

### **Percobaan 3. Pengaruh Fraksi Aktif Biji *A. harmsiana* terhadap Aktivitas Enzim Invertase dan Trehalase Larva *S. litura***

Aktivitas enzim diukur berdasarkan reaksi antara glukosa hasil hidrolisis substrat dengan pereaksi asam dinitrosalisilat (ADNS). Sebagai sumber enzim invertase dan trehalase digunakan homogenat larva. Homogenat berasal dari larva

*S. litura* instar ke-4 yang diberi pakan berperlakuan fraksi 2-8 (LC<sub>10</sub> dan LC<sub>25</sub>) selama ± 12 jam. Lima ekor larva dengan bobot 64 mg (SB 5 mg) dimasukkan ke dalam *homogenizer* gelas yang diletakkan di atas wadah berisi pecahan es, kemudian ditambahkan 2 ml akuabides dan digerus. Selanjutnya homogenat disentrifus pada kecepatan 10.000 rpm selama 15 menit pada suhu 4 °C. Supernatan yang diperoleh disimpan dalam *freezer* pada suhu -74°C hingga saat digunakan.

Analisis aktivitas enzim mengikuti prosedur yang dilakukan Ishaaya *et al.* (1996). Campuran bahan untuk analisis aktivitas enzim invertase ialah 0,4 ml sukrosa 4%, 0,4 ml H<sub>2</sub>O, 0,2 ml homogenat, dan 0,4 ml buffer fosfat 0,2 M pH 5,5. Campuran bahan tersebut juga digunakan untuk analisis aktivitas enzim trehalase kecuali sukrosa 4% diganti dengan trehalosa 4%. Setiap tabung yang berisi campuran bahan diinkubasi selama 60 menit pada suhu 37 °C. Setelah itu ditambahkan 1,6 ml pereaksi ADNS, kemudian dipanaskan selama 5 menit pada suhu 100 °C. Lima menit kemudian campuran langsung didinginkan dalam air es, kemudian absorbansinya diukur pada panjang gelombang 550 nm. Untuk penentuan kurva standar, glukosa pada beberapa konsentrasi langsung direaksikan dengan ADNS sehingga diperoleh hubungan antara konsentrasi glukosa dan absorbansi. Aktivitas enzim dinyatakan sebagai mg glukosa/mg protein.

Kandungan protein dalam sampel homogenat dikoreksi dengan kadar protein dalam sampel yang sama yang diukur menggunakan metode Lowry (Kresze 1998) dengan standar *bovine serum albumin*. Campuran bahan untuk analisis protein ialah 25 µl homogenat, 575 µl akuabides dan 3 ml pereaksi tembaga-alkalin kemudian dikocok dengan vorteks dan dibiarkan selama 10 menit. Selanjutnya 0,15 ml larutan Folin-Ciocalteu ditambahkan ke dalam setiap tabung, lalu dikocok lagi dan dibiarkan selama 30 menit. Absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang 500 nm.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

**Fraksinasi Ekstrak.** Ekstraksi serbuk biji *A. harmsiana* sebanyak 568 g dengan metanol menghasilkan ekstrak sebanyak 97,88 g (17,23%). Hasil partisi ekstrak tersebut dalam pelarut heksana dan metanol 95% menghasilkan fraksi metanol 78,03 g. Partisi fraksi metanol dalam etil asetat dan air menghasilkan fraksi etilasetat 11,13 g. Pemisahan

fraksi etil asetat dengan KVC menghasilkan fraksi heksana 0,6414 g, fraksi diklorometana 1,1343 g, dan diklorometana:isopropanol (10:1) 0,32 g. Pemisahan fraksi terakhir dengan kolom kromatografi (penjerap Silika Gel 60 H F<sub>254</sub>) dan eluen diklorometana:isopropanol (19:1), serta pemeriksaan dengan KLT (Silica Gel 60 G), visualisasi UV  $\lambda = 254 \text{ nm}$ ) menghasilkan tujuh fraksi (Tabel 1).

Fraksi 2 yang aktif dimurnikan lebih lanjut dengan kromatografi kolom dengan eluen diklorometana-isopropanol (39:1), dan dihasilkan

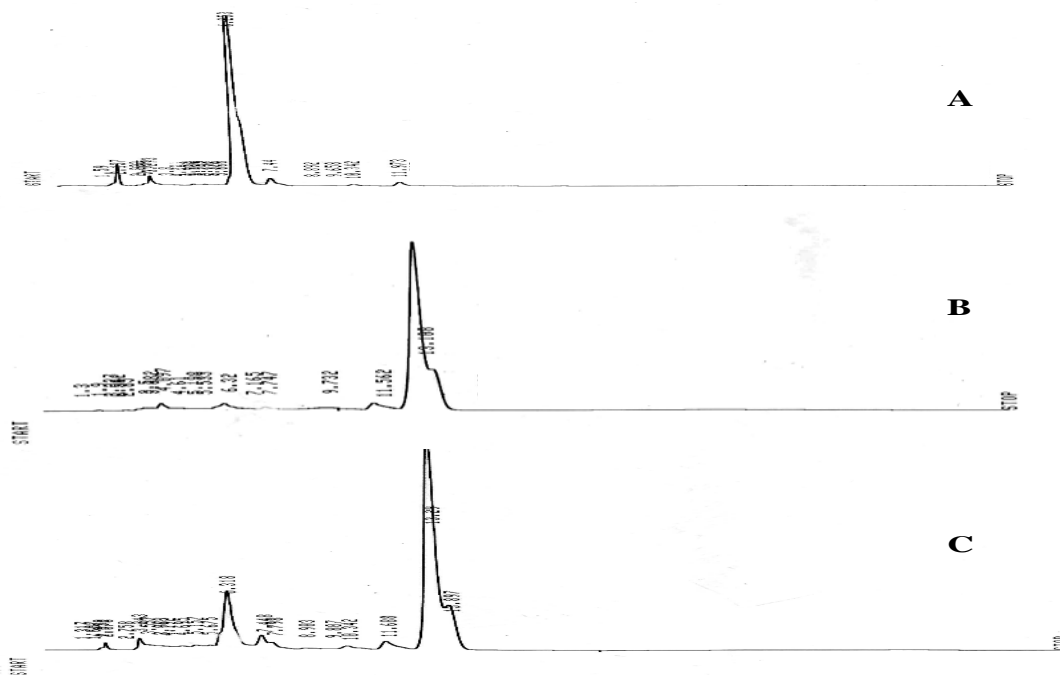
10 fraksi (Tabel 2). Fraksi 2-8 yang diketahui paling aktif diperiksa kemurniannya dengan KCKT. Fraksi 2-8 belum bisa dikatakan murni karena masih memiliki dua puncak utama yang belum terpisah dengan baik (Gambar 1B). Pada kromatogram, puncak fraksi 2-8 muncul lebih akhir dibandingkan rokaglamida (standar). Puncak rokaglamida muncul pada menit ke 6,25 sedangkan fraksi 2-8 muncul pada menit ke 13,29 dan 13,89 (Gambar 1C). Hal tersebut menunjukkan bahwa fraksi 2-8 lebih nonpolar dibandingkan dengan rokaglamida.

Tabel 1. Hasil fraksinasi ekstrak biji *A. harmsiana* dan aktivitas insektisidanya terhadap larva *S. litura*

Fraksi	Hasil (%) <sup>1)</sup>	Eluen diklorometana-isopropanol (19:1) (ml)	R <sub>f</sub>	Mortalitas larva <i>S. litura</i> (%)
1	0,020	0-650	-( <sup>2)</sup>	10
2	0,134	651-770	0,75; 0,7; 0,63; 0,55; 0,48; 0,4	100
3	0,034	771-1180	0,73; 0,64; 0,57	5
4	0,015	1181-1280	0,63; 0,53	0
5	0,102	1281-1780	0,62; 0,48	75
6	0,074	1781-1905	0,54	0
7	0,217	Metanol 200 ml	-( <sup>2)</sup>	10

<sup>1)</sup> Bobot fraksi relatif terhadap bobot serbuk biji.

<sup>2)</sup> Tidak menghasilkan pemisahan fraksi pada pelat KLT.



Gambar 1. Kromatogram rokaglamida (A); fraksi 2-8 (B) dan rokaglamida + fraksi 2-8 (C)

**Toksisitas Ekstrak Biji *A. harmsiana* terhadap Larva *S. Litura*.** Fraksi aktif biji *A. harmsiana* menunjukkan aktivitas insektisida yang kuat. Fraksi 2 pada hari ke-7 pengamatan menyebabkan kematian larva uji 100%, kemudian diikuti oleh fraksi 5 dengan tingkat kematian 75% (Tabel 1). Fraksi 2-8 hasil fraksinasi fraksi 2 menyebabkan kematian larva uji 100% pada hari ke-7 pengamatan, kemudian diikuti oleh fraksi 2-7 dan 2-9 yang menyebabkan kematian larva berturut-turut 80% dan 45% (Tabel 2).

Pada uji topikal, fraksi 2-8 yang diteteskan pada larva meresap melalui kutikula dan mengikuti aliran darah. Senyawa aktif fraksi bekerja dan mematikan larva uji tanpa melewati proses yang bisa mempengaruhi perilaku makan secara langsung. Selain itu kematian larva juga dapat disebabkan adanya sumbangan dari sifat *antifeedant* (penghambat aktivitas makan) yang dikandung fraksi 2-8. Pada pengamatan secara visual tampak larva uji makan lebih sedikit pakan berperlakuan jika dibandingkan dengan pada pakan tanpa perlakuan. Jadi, kematian larva uji dapat disebabkan oleh adanya toksisitas intrinsik dan penghambatan aktivitas makan. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Dono & Prijono (1998) yang menunjukkan bahwa fraksi E ekstrak biji *A. harmsiana* menyebabkan kematian larva *C. pavonana* melalui sifat toksisitas intrinsik dan penghambatan aktivitas makan.

Regresi probit pada perlakuan dengan metode kontak topikal lebih landai dibandingkan dengan metode pencampuran pada pakan buatan (Tabel 3). Hal ini menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi

dengan kelipatan tertentu dengan metode pencampuran pada pakan buatan akan menghasilkan peningkatan kematian serangga uji yang lebih besar. Data tersebut menunjukkan kerja bahan aktif sebagai racun perut (masuk melalui pencernaan) lebih kuat dibandingkan dengan daya kerjanya secara kontak. Hal ini mungkin disebabkan adanya hambatan dari kutikula sehingga tidak semua senyawa aktif berhasil masuk ke dalam darah dan menuju sasaran.

**Pengaruh Fraksi Aktif Ekstrak Biji *A. harmsiana* terhadap Efisiensi Asimilasi Makanan oleh Larva *S. Litura*.** Secara umum perlakuan fraksi *A. harmsiana* dengan metode kontak dan metode pencampuran pada pakan buatan pada LC<sub>10</sub> dan LC<sub>25</sub> menurunkan LP, LPR, EMK, dan EMC jika dibandingkan dengan kontrol, meskipun LKR dan DC pada kedua pengujian tersebut tidak mengalami penurunan (Tabel 4 & 5). Pada percobaan secara kontak perlakuan dengan fraksi 2-8 pada LC<sub>10</sub> dan LC<sub>25</sub> menurunkan LK sebesar 21% dan 24% (Tabel 4). Hal ini kemungkinan disebabkan bahan aktif biji *A. harmsiana* yang masuk mengikuti peredaran darah menekan aktivitas makan larva uji. Penekanan aktivitas makan tersebut kemungkinan terjadi pada sistem syaraf pusat yang mengatur proses makan. Efek *antifeedant* sekunder ini memberikan sumbangan terhadap kematian larva meskipun bukan sebagai penyebab utama.

Percobaan dengan metode pencampuran pada pakan buatan menurunkan LP sebesar 33% dan 67% meskipun LK tidak terpengaruh (Tabel 5).

Tabel 2. Hasil pemisahan fraksi 2 dari Tabel 1 dan aktivitasnya terhadap larva *S. Litura*

Fraksi	Hasil (%) <sup>1)</sup>	Eluen diklorometana-isopropanol (39:1) (ml)	R <sub>f</sub>	Mortalitas larva <i>S. litura</i> (%)
2-1	0,0017	0-150	0,95	5
2-2	0,0007	151-200	0,90	15
2-3	0,0002	201-250	0,85; 0,64	5
2-4	0,0009	251-275	0,83	5
2-5	0,0178	276-325	0,85; 0,76; 0,51	0
2-6	0,0301	326-350	0,86; 0,83; 0,68	5
2-7	0,0184	356-375	0,67	80
2-8	0,3773	376-875	0,67; 0,47; 0,37	100
2-9	0,0432	876-1785	0,5; 0,4; 0,36; 0,25	45
2-10	0,1386	Eluen metanol 0-200	- <sup>2)</sup>	5

<sup>1)</sup> Bobot fraksi relatif terhadap bobot serbuk biji.

<sup>2)</sup> Tidak menghasilkan pemisahan fraksi pada pelat KLT.

Tabel 3. Parameter regresi probit hubungan konsentrasi fraksi 2-8 ekstrak biji *A. harmsiana* dengan mortalitas larva *S. litura*

Metode	b ± GB <sup>a)</sup>	LC <sub>50</sub> (SK 95%) (%)	LC <sub>95</sub> (SK 95%) (%)
Kontak topikal	1,55 ± 0,34	0,49 ( 0,28 – 0,66 )	5,64 (3,10 – 23,87)
Pencampuran ekstrak pada pakan buatan	3,98 ± 0,44	0,0044 ( 0,0040 – 0,0051)	0,0115 (0,0091 – 0,0162)

<sup>a)</sup> b : kemiringan garis regresi, GB: galat baku, SK: selang kepercayaan

Tabel 4. Pengaruh fraksi 2-8 *A. harmsiana* terhadap indeks pemanfaatan makanan pada larva *S. litura* dengan metode kontak

Konsentrasi (µg/larva)	Laju konsumsi (mg/hari) <sup>1)</sup>		Laju pertumbuhan (mg/hari) <sup>1)</sup>		Efisiensi pemanfaatan makanan (%) <sup>1)</sup>		
	LK <sup>2)</sup>	LKR <sup>2)</sup>	LP <sup>2)</sup>	LPR <sup>2)</sup>	DC <sup>2)</sup>	EMK <sup>2)</sup>	EMC <sup>2)</sup>
Kontrol	8,6 a	3,9 a	1,7 a	0,8 a	75,4 a	20,7 a	28 a
0,00074/ LC <sub>10</sub>	6,8 b	6,3 b	0,6 b	0,5 b	85,6 b	9,5 b	11,5 b
0,00182/ LC <sub>25</sub>	6,5 b	5,6 b	0,8 b	0,6 b	85,7 b	11,8 b	14,1 b

<sup>1)</sup> Angka selajur yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata (uji BNT, α = 0,05)

<sup>2)</sup> LK = laju konsumsi, LKR = laju konsumsi relatif, LP = laju pertumbuhan, LPR = laju pertumbuhan relatif, DC = daya cerna, EMK = efisiensi konversi makanan dikonsumsi, dan EMC = efisiensi konversi makanan dicerna

Tabel 5. Pengaruh fraksi 2-8 *A. harmsiana* terhadap indeks pemanfaatan makanan pada larva *S. litura* dengan metode pencampuran ekstrak pada pakan buatan

Konsentrasi (%)	Laju konsumsi (mg/hari) <sup>1)</sup>		Laju pertumbuhan (mg/hari) <sup>1)</sup>		Efisiensi pemanfaatan makanan (%) <sup>1)</sup>		
	LK <sup>2)</sup>	LKR <sup>2)</sup>	LP <sup>2)</sup>	LPR <sup>2)</sup>	DC <sup>2)</sup>	EMK <sup>2)</sup>	EMC <sup>2)</sup>
Kontrol	2,3 a	3,3 a	0,3 a	0,4 a	64,4 a	13,0 a	22,4 a
(0,00283/LC <sub>10</sub> )	2,1 a	3,5 a	0,2 b	0,3 b	70,1 a	10,1 b	17,3 a
(0,00368/LC <sub>25</sub> )	2,1 a	3,9 a	0,1 c	0,2 c	81,5 b	6,5 c	8,1 b

<sup>1)</sup> Angka selajur yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata (uji BNT, α = 0,05)

<sup>2)</sup> LK = laju konsumsi, LKR = laju konsumsi relatif, LP = laju pertumbuhan, LPR = laju pertumbuhan relatif, DC = daya cerna, EMK = efisiensi konversi makanan dikonsumsi, dan EMC = efisiensi konversi makanan dicerna

Penurunan laju pertumbuhan secara langsung menunjukkan adanya toksisitas intrinsik fraksi 2-8 yang mengganggu fungsi fisiologi serangga, hal ini diperkuat dengan adanya penurunan EMK dan EMC tanpa tergantung nilai LKR dan DC.

**Pengaruh Fraksi Aktif Ekstrak Biji *A. Harmsiana* terhadap Aktivitas Enzim Invertase dan Trehalase Larva *S. litura*.** Aktivitas enzim invertase larva uji yang diberi perlakuan fraksi 2-8 pada LC<sub>10</sub> dan LC<sub>25</sub> menurun masing-masing 34% dan 47% jika

dibandingkan dengan kontrol (Tabel 6). Hal ini kemungkinan disebabkan oleh toksisitas intrinsik fraksi 2-8, yang menyebabkan gangguan terhadap aktivitas sel epitel di saluran pencernaan yang menyekresi enzim. Senyawa aktif rolaglamida dari ranting dan akar *A. elliptifolia* menghambat aktivitas sel karsinoma epidermoid dari nasofaring manusia (sel KB) pada uji secara *in vitro* (King *et al.* 1982). Wang *et al.* (2001) melaporkan bahwa ekstrak metanol daun *A. elliptifolia* menghambat sel adenokarsinoma dari paru-paru manusia (A-549),

Tabel 6. Pengaruh fraksi 2-8 biji *A. harmsiana* terhadap aktivitas enzim metabolik larva *S. litura* instar ke-3

Konsentrasi fraksi (%)	Aktivitas enzim (mg glukosa/mg protein) <sup>a</sup>	
	Invertase <sup>b</sup>	Trehalase <sup>b</sup>
0/kontrol	1,426 a	0,561 a
0,00283/LC <sub>10</sub>	0,948 b	0,596 a
0,00368/LC <sub>25</sub>	0,762 b	0,631 a

<sup>a</sup> Lama reaksi 60 menit.

<sup>b</sup> Angka selajur yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata (uji BNT,  $\alpha = 0,05$ )

aenokarsinoma dari pencernaan manusia (HT-29) dan sel leukemia dari limfa tikus (P-388).

Pada pengujian enzim trehalase tidak terjadi peningkatan yang nyata pada setiap perlakuan (Tabel 6). Kemungkinan penurunan glukosa yang diserap akibat penurunan aktivitas enzim invertase dalam saluran pencernaan masih dapat ditoleransi sehingga pelepasan enzim trehalase yang mengubah trehalose dalam darah menjadi dua molekul glukosa sebagai kompensasi penurunan glukosa yang diserap belum terlalu tinggi.

Hasil pengujian di atas menunjukkan bahwa fraksi aktif biji *A. harmsiana* menunjukkan aktivitas insektisida yang kuat terhadap larva *S. litura*. Selain menyebabkan kematian juga menghambat pertumbuhan larva uji. Kematian larva disebabkan adanya toksisitas intrinsik dan efek *antifeedant*. Toksisitas intrinsik tersebut dapat menghambat aktivitas makan serangga melalui penekanan syaraf pusat yang mengatur aktivitas makan (*antifeedant* sekunder) selain itu juga menekan aktivitas enzim pencernaan yaitu enzim invertase. Penurunan enzim invertase ini proporsional dengan penambahan konsentrasi. Gangguan di atas secara keseluruhan dapat menghambat pertumbuhan serangga dan mengakibatkan kematian serangga.

### SIMPULAN

Fraksi aktif ekstrak biji *A. harmsiana* memiliki aktivitas insektisida yang kuat terhadap larva *S. litura*. Selain toksik fraksi tersebut juga bersifat *antifeedant* sekunder, sehingga menghambat aktivitas makan dan pertumbuhan larva. Komponen aktif ekstrak *A. harmsiana* secara langsung juga mempengaruhi fisiologi serangga sehingga terjadi penurunan enzim pencernaan yang menghambat konversi makanan yang dimakan menjadi biomassa. Penelitian lebih lanjut perlu dilakukan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa aktif serta mengetahui cara

kerja komponen ekstrak pada tingkat biokimia serangga.

### SANWACANA

Dana penelitian diperoleh dari proyek Riset Unggulan Terpadu (RUT) VIII atas nama Dr. Bambang Wahyu Nugroho (Alm).

### DAFTAR PUSTAKA

- Coll, J.C. & B.F. Bowden. 1986. The application of vacuum liquid chromatography to the separation of terpene mixtures. *J. Nat. Prod.* 49: 934-936.
- Dono, D, D. Prijono, S. Manuwoto & D. Buchori. 1998. Pengaruh ekstrak biji *Aglaia harmsiana* Perkins (Meliaceae) terhadap interaksi antara *Crocidolomia binotalis* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) dan parasitoidnya, *Eriborus argenteopilosus* (Cameron) (Hymenoptera: Ichneumonidae). *Bul. HPT* 10: 38-46.
- Finney, D.J. 1971. *Probit Analysis*. Ed ke-3. Cambridge: The University Press.
- Hartati, S & D. Prijono. 1994. *Aglaia harmsiana* Perkin (Meliaceae): a potential source of insect antifeedant and growth regulator. *Bul. HPT* 1:75-76.
- Ishaaya, I., A. Hirashima, S. Yablonski, S. Tawata & M. Eto. 1990. Mimosine, a nonprotein amino acid, inhibits growth and enzyme system in *Tribolium castaneum*. *Pestic. Biochem. Physiol.* 39: 35-42.
- Isman, M.B. 1995. Leads and prospects for the development of new botanical insecticides. *Rev. Pestic. Toxicol.* 3:1-20.

- King, E.G. & G.G. Hartley. 1985. *Heliothis virescens*. Pages 323-328 in: Singh P, R.f. Moore, ed. *Handbook of Insect Rearing*. Vol ke-2. Amsterdam: Elsevier.
- King, M.L., C.C. Chiang, H.C. Ling, E. Fujita & M. Ochiai M. 1982. X-ray crystal structure of rocaglamide, a novel antileukemic 1H-cyclopenta [b] benzofuran from *Aglaia elliptifolia*. *J Chem Soc Chem Commun* 446:1150-1151.
- Kresze, G. 1998. Methods for protein determination. Pages 84-99 in: Bergmeyer HU, J.. Bergmeyer, ed. *Methods of Enzymatic Analysis*. Ed ke-3. Weinheim:VCH. hlm 84-99.
- Kuroki, T. 1998. Cancers as a disease of genes and a disease due to environmental factors. Pages 113-118 in: Kuhr RJ, N. Motoyama N, ed. *Pesticides and the Future; Minimizing Chronic Exposure of Humans and the Environment*. Washington: IOS Press.
- Metcalf, R.L. 1982. Insecticides in pest management. Pages 217-253 in: Metcalf RL, W.H. Luckman, ed. *Introduction to Insect Pest Management*. New York: J Wiley.
- Nugroho, B.W., B. Güssregen, V. Wray, L. Witte, G. Bringmann & P. Proksch. 1997. Insecticidal rocaglamide derivatives from *Aglaia elliptica* and *Aglaia harmsiana* (Meliaceae). *Phytochemistry* 45:1579-1585.
- Satasook, C., M.B. Isman, F. Ishibashi, S. Medbury, P. Wiriyaichitra & G.H.N. Towers. 1994. Insecticidal bioactivity of crude extracts of *Aglaia* species (Meliaceae). *Biochem System Ecol* 22:121-127.
- Schmutterer, H., editor. 1995. *The Neem Tree Azadirachta indica A. Juss, and Other Meliaceae Plants: Sources of Unique Natural Products for Integrated Pest Management, Medicine, Industry and Other Purposes*. Weinheim: VCH.
- Steel, R.G.D. & J.H. Torrie. 1980. *Principles and Procedures of Statistics: A Biometrical Approach*. Ed ke-2. New York: McGraw-Hill.
- Wang, S.K., Y.J. Cheng & C.Y. Duh. 2001. Cytotoxic constituents from leaves of *Aglaia elliptifolia*. *J Nat Prod* 64: 92-94.
- Wiyantono, D. Prijono & S. Manuwoto. 2001. Bioaktivitas ekstrak biji *Aglaia harmsiana* terhadap ulat krop kubis, *Crociodolomia binotalis*. *J. Ilmu. Pert. Indon.* 10(1):1-7.