

# OPTIMASI PROSES EKSTRASI BIJI KAMANDRAH (*Croton tiglum L.*) DENGAN PENGEMPAAN DAN IDENTIFIKASI KANDUNGAN BAHAN AKTIFNYA SEBAGAI LARVASIDA NABATI PENCEGAH PENYAKIT DEMAN BERDARAH DENGUE

## EXTRACTION PROCESS OPTIMIZATION OF KAMANDRAH (*Croton tiglum L.*) SEED WITH EXPRESSION AND IDENTIFICATION OF ACTIVE INGREDIENT AS BOTANICAL LARVACIDE OF DENGUE FEVER PREVENTIVE

Noor Roufiq Ahmadi<sup>1)\*</sup>, Djumali Mangunwidjaja<sup>2)</sup>, Ono Suparno<sup>2)</sup>, Dyah Iswantini Pradono<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>Balai Pengkajian Teknologi Pertanian – Samarinda  
E-mail: noorroufiqa@gmail.com

<sup>2)</sup>Departemen Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, IPB

<sup>3)</sup>Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, IPB

### ABSTRACT

Kamandrah seeds (*Croton tiglum L.*) have been proposed to be oil source for the botanical larvacide production. The purpose of this study was to determine the optimum conditions of expression for the extraction of kamandrah seed oil, by a response surface methodology (RSM) used for the optimization included three variables: temperature, heating time, and expression pressure. This study was also to obtain the active compound contained in kamandrah seed oil as botanical larvacide. Chemical analysis and active compound identification were determined by the proximate analysis, gas chromatography (GC), and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). The results of the proximate analysis of kamandrah seed oil were 6.29% water content, 3.6% ash content, 53.73% fat content, 11.98% protein content, 8.25% crude fiber, and 16.15% carbohydrates (by difference). An optimum kamandrah seed oil yield of 27.97% (b/b) was obtained in the following conditions: temperature expression of 85°C, heating time of 15 minutes, and pressure of 10.54 MPa. The oil had LC<sub>50</sub> value of 42.65 ppm. The highest two main unsaturated fatty acids were oleic acid (42.44%) and linoleic acid (2.03%). The results of GC-MS analysis using “library NIST” showed that the active compound predicted as insecticide were piperidine and 1,4-naphthoquinone, whereas identification using “library pest.l” showed benfluralin, 2,3,6-trichlorphenol, dnoc, and propamocarb as active compounds for the larvacides.

Keywords: *Croton tiglum L*, Response Surface Methodology, the active compound, larvacide

### ABSTRAK

Biji kamandrah (*C. tiglum L.*) menghasilkan minyak yang dapat digunakan sebagai larvasida nabati. Namun demikian, kondisi optimum proses pengempaan belum diketahui. Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan kondisi optimum rendemen minyak biji kamandrah dengan pengempaan menggunakan metode *response surface methodology* (RSM) dan mendapatkan senyawa aktif yang terdapat didalam minyak biji kamandrah sebagai larvasida nabati. Desain percobaan terdiri dari 3 faktor dan 3 taraf. Faktor yang dievaluasi adalah suhu, lama waktu pemanasan dan tekanan pengempaan. Minyak yang diperoleh diuji proksimat, identifikasi komponen asam lemak menggunakan gas chromatography (GC) dan komponen aktif menggunakan gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). Hasil analisis proksimat biji kamandrah adalah kadar air 6,29%, kadar abu 3,6%, kadar lemak 53,73%, kadar protein 11,98%, serat kasar 8,25%, dan karbohidrat (by difference) 16,15%. Nilai titik optimum rendemen minyak biji kamandrah hasil pengempaan pada suhu pemanasan 85°C, tekanan 10,54 MPa, dan lama pemanasan 15 menit adalah 27,97% dengan nilai LC<sub>50</sub> 42,65 ppm. Dua komponen asam lemak tidak jenuh tertinggi adalah asam oleat 42,33% dan asam linoleat 2,03%. Hasil analisis GC-MS dengan penelusuran *library NIST* menunjukkan bahan aktif yang diprediksi sebagai insektisida adalah *piperidine* dan *1,4-naphthoquinone* sedangkan hasil identifikasi dengan *library pest.l* menunjukkan senyawa *benfluralin*, *2,3,6-trichlorphenol*, *dnoc*, dan *propamocarb*.

Kata kunci: *Croton tiglum L*, Response Surface Methodology, bahan aktif, larvasida

### PENDAHULUAN

Penyakit deman berdarah (DB) dan deman berdarah dengue (DBD) masih merupakan masalah kesehatan utama di banyak negara tropis dan subtropis. Penyakit ini disebabkan oleh virus dengue dan dibawa oleh vektor. Vektor utama penyebab penyakit ini adalah nyamuk *Aedes aegypti* dan *A.*

*albopictus* (Gubler, 1998). Daerah dengan kasus penyakit DBD terbesar di Indonesia adalah Jawa Barat (35.453 kasus), dengan kasus kematian tertinggi 287 orang. Kejadian luar biasa (KLB) terjadi di provinsi Kalimantan Barat (9.792 kasus; 171 mati), Sumatera Utara (4.534 kasus; 57 mati), dan Kalimantan Selatan, Kalimantan Timur serta Kepulauan Bangka Belitung (Kemeskes, 2010).

\*Penulis untuk korespondensi

Untuk mengatasi masalah penyakit DBD telah banyak usaha dilakukan, salah satu alternatif adalah pengendalian vektor pada stadium larva, karena pengendalian stadium nyamuk dewasa efektif (Carvalho, 2003). Di Indonesia, *temephos* telah digunakan secara massal untuk program pengendalian *A. aegypti*. Untuk mengatasi dampak negatif yang ditimbulkan dari pemakaian larvasida/insektisida kimia, salah satu cara aman dan alami adalah dengan insektisida/larvasida nabati.

Indonesia dikenal kaya dengan keanekaragaman hayati, di antaranya jenis tumbuhan yang mengandung bahan aktif insektisida. Namun demikian, pemanfaatan tumbuhan sebagai obat-obatan dan insektisida hanya 10% dari 300.000 jenis tumbuhan yang ada (Heyne, 1987). Kamandrah merupakan tanaman obat yang banyak ditemukan di daerah Kalimantan dan berdasarkan kearifan lokal masyarakatnya banyak menggunakan bijinya untuk membunuh jentik-jentik nyamuk, sedangkan batang dan daunnya dibakar untuk mengusir nyamuk (Iswantini *et al.*, 2007). Thamrin (2002) menyatakan bahwa ekstrak biji kamandrah cukup ampuh membunuh jentik nyamuk *A. aegypti* hingga 84% dengan LD<sub>50</sub> sebesar 0,06%. Senyawa 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA) hasil isolasi dari *C. tiglum* dapat membunuh 100% larva *culex pipiens* instar 2 pada konsentrasi 0,6 ppm (Marshall *et al.*, 2005). Identifikasi komponen minyak kamandrah dengan GC-MS didapatkan senyawa (Z)-13-Octadecenal dan cis-9-Hexadecenal berfungsi sebagai feromon, serta piperine yang merupakan suatu golongan alkaloid sejenis piperidin yang diduga sebagai larvasida/insektisida (Iswantini *et al.*, 2007; Riyadhi, 2008). Senyawa golongan piperidine dapat membunuh nyamuk *A. aegypti* dan menunjukkan aktivitas sebagai larvasida adalah 2-ethyl-piperidine (Pridgeon *et al.*, 2007) dan pipernonaline ekstrak *Piper longum* (Yang *et al.*, 2002). Iswantini *et al.* (2009) menunjukkan bahwa minyak kamandrah mempunyai potensi tinggi sebagai larvasida dengan nilai LC<sub>50</sub> dan LC<sub>90</sub> berturut-turut 25,98 ppm dan 164,80 ppm. Penggunaan konsentrasi minyak kamandrah 0,3-0,5% dapat menghambat penetasan telur (*ovisida*) dan menurunkan jumlah peletakan telur pada *ovitrap* (*anti-oviposisi*) nyamuk *A. aegypti* dan *A. albopictus* (Iswantini *et al.*, 2008; Astuti, 2008).

Minyak biji kamandrah dapat diekstrak dengan cara *rendering*, mekanis, atau menggunakan pelarut (Hui, 1996). Saputra *et al.* (2008) melakukan optimasi proses ekstraksi biji kamandrah dengan pelarut etanol menghasilkan rendemen 18,6% yang diperoleh pada nisbah bahan/pelarut 1:6,91 g/mL, waktu maserasi 6,21 hari. Ying *et al.* (2002) melakukan ekstraksi dengan maserasi biji *Croton tiglum* L. dengan petroleum eter menghasilkan rendemen 11,2%, sedangkan menggunakan etanol menghasilkan rendemen 12,67% (Wu *et al.*, 2007). Nilai tersebut lebih

rendah dari hasil penelitian Iswantini *et al.* (2008) yang menyatakan bahwa ekstraksi biji kamandrah dengan cara pengempaan akan menghasilkan rendemen 16-23,94%. Pada penelitian ini dilakukan optimasi proses ekstraksi dengan pengempaan untuk memperoleh *yield* minyak kamandrah yang maksimal dengan metode RSM dan mendapatkan senyawa aktif dominan lain dalam minyak biji kamandrah sebagai larvasida nabati.

## METODE PENELITIAN

### Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan mulai bulan Februari 2010 sampai dengan Agustus 2011. Penelitian dilakukan di Laboratorium Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Aneka Tanaman Industri Sukabumi, Laboratorium Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian Bogor, Laboratorium Forensik Mabes Polri Jakarta, Laboratorium Flavor Balai Besar Penelitian Tanaman Padi Sukamandi, dan Laboratorium Balai Penelitian dan Pengembangan Kehutanan Bogor.

### Bahan dan Alat

Bahan biologis dipergunakan adalah biji tanaman kamandrah (*C. tiglum* L.) diperoleh dari Agro Widia Wisata Ilmiah (AWWI) Balittri Sukabumi. Bahan biologis lain telur *A. aegypti* diperoleh dari Insektarium Entomologi FKH IPB. Bahan kimia yang digunakan meliputi Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, indikator pati, indikator PP, KOH, alkohol, petroleum eter, n-heksan, asam asetat glasial, KI, kloroform, NH<sub>4</sub>OH, dan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Alat yang digunakan adalah pengempa hidrolik, *Gas Chromatography* (GC) merk Hitachi 263-50, *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS) merk Agilent, tabung reaksi, erlemeyer, gelas ukur, gelas piala, neraca analitik, kertas saring, nampang plastik, pipet, gelas plastik dan alat gelas lainnya.

### Metode Penelitian

#### Analisis Proksimat Biji Kamandrah

Penentuan kandungan proksimat biji kamandrah masing-masing dianalisis dengan metode AOAC 934.01; 988.05; 920.05 dan 962.09 (AOAC 2000), berturut-turut untuk kadar air, protein, lemak, serat kasar, abu dan karbohidrat (*by difference*).

#### Optimasi Proses Ekstraksi Biji Kamandrah Dengan Pengempaan

Optimasi proses pengempaan biji kamandrah dilakukan terhadap tiga peubah yaitu (1) suhu pengempaan (X<sub>1</sub>), lama pemanasan (X<sub>2</sub>) dan tekanan pengempaan (X<sub>3</sub>) dengan respon yang diamati adalah rendemen minyak dan nilai LC<sub>50</sub>. Pencarian peubah optimum ini menggunakan RSM. Faktor, sandi dan taraf sandi yang dicoba pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 1.

Model persamaan kondisi optimum respon rendemen minyak dengan pengempaan terhadap

suhu pengempaan, tekanan pengempaan, dan lama pemanasan adalah sebagai berikut:

$$Y = \beta_o + \sum_{i=1}^k \beta_i \chi_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} \chi_i^2 + \sum_i \sum_j \beta_{ij} \chi_i \chi_{ij} + \varepsilon$$

Keterangan :

$Y$  = Respon pengamatan;

$\beta_o$  = Titik potong;

$\beta_i$  = Koefisien linier;

$\beta_{ii}$  = Koefisien kuadratik;

$\chi_i$  = Sandi perlakuan untuk faktor ke i;

$\chi_j$  = Sandi perlakuan untuk faktor ke j;

$\varepsilon$  = Jumlah faktor yang dicobakan.

Pengolahan data dilakukan dengan perangkat lunak Design Expert 7.16 (*Stat-Ease Inc, Minneapolis USA*) digunakan analisis regresi dari data percobaan sesuai dengan persamaan polinomial dan juga untuk evaluasi signifikansi statistik dari persamaan yang dikembangkan.

#### Identifikasi Asam Lemak Dengan Gas Chromatography (GC)

Komponen asam lemak yang terkandung dalam minyak biji kamandrah di identifikasi menggunakan GC dengan spesifikasi sebagai berikut: jenis alat (GC) Hitachi 263-50, detektor ionisasi nyala (FID), jenis kolom DEGS, laju alir nitrogen 1 kgf/cm<sup>2</sup>, laju alir hidrogen 0,5 kgf/cm<sup>2</sup>, suhu awal 150°C, suhu akhir 180°C, suhu injektor 200°C, suhu detektor 250°C, dan volume injek 2 µL pada suhu 150°C. Berdasarkan kromatogram yang diperoleh dicocokkan waktu retensi yang sama dengan waktu retensi asam lemak standar. Kadar asam lemak dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Kadar asam lemak (\%)} = (Lc/Ls) \times (Cs \times V)/b$$

Keterangan:

$Lc$  = luas area contoh

$Ls$  = luas area standar

$Cs$  = konsentrasi standar

$V$  = volume akhir, dan

$b$  = bobot contoh.

#### Identifikasi Senyawa Aktif dengan Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)

GC-MS digunakan untuk identifikasi senyawa aktif dari komponen mudah menguap serta

Tabel 1. Peubah bebas yang digunakan pada pengempaan biji kamandrah

No	Peubah	Sandi	Optimasi Ekstraksi dengan Pengempaan Hidrolik		
			Rendah (-1)	Sedang (0)	Tinggi (+1)
1.	Suhu pemanasan (°C)	X1	55	70	85
2.	Lama pemanasan (menit)	X2	15	30	45
3.	Tekanan pengempaan (MPa)	X3	7,90	9,22	10,54

mendapatkan bobot molekul dan pola fragmentasi dari senyawa yang terdapat pada minyak biji kamandrah. Kondisi operasi dari GC-MS disajikan pada Tabel 2.

Penafsiran spektra massa dilakukan dengan bantuan komputer untuk membandingkan pola spektra massa suatu senyawa dengan pola spektra massa pada *mass spectra library* koleksi *National Institute Standar and Tecnology* (NIST) yaitu NIST yang memiliki koleksi pola spektra massa lebih dari 62.000 pola. Selain itu, dibandingkan juga dengan *database Wiley, Pest.1* dan *Drug*. Penafsiran juga dilakukan secara manual yaitu dengan membandingkan pola spektra massa komponen pada sampel dengan yang terdapat pada jurnal atau buku (publikasi).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Analisis Proksimat Biji Kamandrah

Buah kamandrah yang digunakan dalam penelitian mempunyai persentase biji buah lebih besar (67,59%) dari pada persentase kulit buahnya (32,41%). Hasil analisis proksimat biji kamandrah adalah kadar air 6,29%, kadar abu 3,6%, kadar lemak 53,73%, kadar protein 11,98%, serat kasar 8,25 % dan karbohidrat (*by difference*) 16,15%.

Kadar air pada biji kamandrah yang digunakan berada pada *grade* dibawah 10% yaitu 6,29%. Menurut Badan POM (2005) bahwa salah satu syarat kadar air yang digunakan pada simplisia bagian tanaman adalah tidak lebih dari 10%. Kadar lemak diperoleh pada penelitian ini tidak jauh berbeda dengan penelitian sebelumnya yang mendapatkan kadar 50-60% (Eckey, 1954), 53,99% (Hamidi, 2008) dan 40,01% (Saputera, 2008). Kadar minyak dalam daging biji kamandrah dipengaruhi oleh varietas, ukuran biji, iklim, kelembaban, keadaan tanah tempat tumbuh, penanganan pasca panen, dan jenis pelarut yang digunakan dan metode ekstraksi yang ditetapkan. Penentuan kadar protein menunjukkan nilai sebesar 11,98%. Kadar protein biji kamandrah tersebut cukup tinggi, sehingga dalam ekstraksi minyak, penguraian protein akan menghasilkan senyawa-senyawa yang larut dalam minyak dan cenderung mengotori minyak. Keadaan ini dapat menyebabkan warna yang gelap pada minyak yang dihasilkan.

Tabel 2. Kondisi dan spesifikasi operasi alat GC-MS

Kondisi GC	Metode I	Metode II	Metode III
Kolom	Kolom kapiler (Agilent 19091J-433 tipe HP-5 dengan diameter 0,25 mm, panjang 30 m dan lebar 0,25 $\mu\text{m}$ )	Kolom kapiler (Agilent 1520.51616 tipe DB-1 dengan diameter 250 $\mu\text{m}$ , panjang 60 m dan lebar 0,25 $\mu\text{m}$ )	Kolom kapiler (Agilent 1520.51616 tipe DB-1 dengan diameter 250 $\mu\text{m}$ , panjang 60 m dan lebar 0,25 $\mu\text{m}$ )
Detektor	MS	MS	MS
Gas pembawa	Helium	Helium	Helium
Teknik injeksi	Split (1:40)	Splitness	Splitness
Waktu injeksi	0 menit	0,5 menit	0,5 menit
Inlet	Mode split Suhu 300°C Kecepatan : 38,2 mL/min Total aliran : 42,2 mL/min Tekanan : 8,28 psi	Mode Splitness Suhu 250°C Kecepatan : 3 mL/menit Total aliran : 7 mL/min Tekanan : 16,090 psi	Mode Splitness Suhu 250 °C Kecepatan : 3 mL/menit Total aliran : 7 mL/min Tekanan : 16,090 psi
Oven	Suhu awal : 70°C Suhu akhir : 60°C Suhu maksimum : 330°C Waktu operasi : 39,67 min 15°C/menit hingga mencapai 290°C ditahan selama 25 menit	Suhu awal : 50°C Suhu akhir : 60°C Suhu maksimum : 330°C Waktu operasi : 58 min Mencapai suhu 50°C selama 0 menit	Suhu awal : 50°C Suhu akhir : 60°C Suhu maksimum : 330°C Waktu operasi : 54,5 min Mencapai suhu 50°C selama 0 menit
Laju kenaikan suhu		5°C/menit hingga suhu mencapai 250°C ditahan selama 15 menit	4°C/menit hingga suhu mencapai 180°C selama 0 menit
Suhu pertengahan			10°C/menit hingga suhu mencapai 250°C ditahan selama 15 menit
Laju kenaikan suhu akhir			

### Optimasi Proses Ekstraksi Biji Kamandrah Dengan Pengempaan

Optimasi proses ekstraksi dengan pengempaan hidrolik merupakan bagian tahapan penelitian utama. Proses ekstraksi senyawa aktif dari simplisia serbuk biji kamandrah dilakukan dengan metode pengempaan, dengan pertimbangan senyawa bioaktif yang terdapat dalam biji tidak terdegradasi karena pengaruh panas yang tinggi. Model permukaan respon digunakan untuk menentukan model yang sesuai. Evaluasi dilakukan terhadap model yang meliputi linier, kuadratik, kubik, dan 2FI (interaksi). Pemilihan model didasarkan dari rekomendasi sekuen model yang memberikan hasil yang signifikan ( $P<0,05$ ). Hasil analisis menunjukkan bahwa model kuadratik merupakan model yang disarankan oleh program. Model lainnya seperti: linier, kuadratik, kubik dan 2FI tidak signifikan ( $P>0,05$ ) sehingga tidak dipilih.

Uji simpangan model dilakukan untuk mengetahui adanya gangguan (*noise*) yang berpengaruh secara signifikan terhadap model yang dipilih. Hasil uji simpangan model menunjukkan tidak ada pengaruh gangguan yang nyata terhadap model kuadratik yang dipilih sebelumnya. Dengan demikian, gangguan bukan merupakan faktor yang mempengaruhi akurasi model yang dipilih. Selanjutnya dilakukan analisis pemilihan model berdasarkan ringkasan model secara statistik. Parameter yang digunakan untuk menentukan model yang tepat antara lain: standar deviasi terendah,

*Adjusted R-Square* tertinggi, *Predicted R-Square* tertinggi dan *R-Square* tertinggi. Berdasarkan kelima kriteria diatas, maka model yang menggunakan persyaratan untuk dipilih adalah kuadratik.

Berdasarkan ringkasan statistik, model kuadratik memiliki simpangan baku rendah sebesar 0,49 serta nilai *Adj R<sup>2</sup>* tertinggi sebesar 0,9760. Hal ini menunjukkan faktor suhu pemanasan, lama pemanasan dan tekanan kempa berpengaruh terhadap keragaman respon sebesar 98,43% sedangkan sisanya 1,57% dipengaruhi oleh faktor lain yang tidak dijadikan peubah yang diteliti. Berdasarkan ketiga persyaratan proses pemilihan model maka model yang sesuai untuk optimalisasi pengempaan adalah model kuadratik analisis ragam menunjukkan permukaan respon model kuadratik memiliki pengaruh yang signifikan terhadap respon yang diamati. Persamaan kuadratik dapat digunakan untuk memprediksi respon berbagai taraf suhu pemanasan, lama pemanasan, dan tekanan pengempaan. Persamaan kuadratik yang diperoleh adalah :

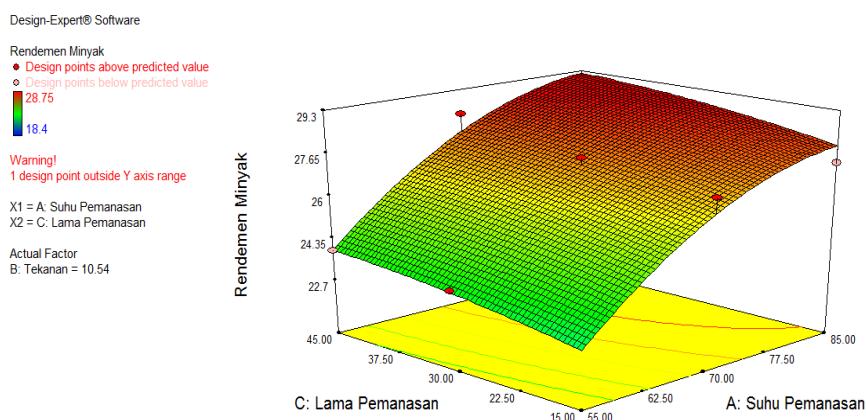
$$Y = 24,82 + 3,05X_1 + 2,07X_2 + 0,47X_3 - 0,41X_1X_2 + 0,017X_1X_3 + 0,13X_2X_3 - 1,09X_1^2 + 0,34 X_2^2 - 0,18X_3^2$$

dengan  $X_1$  = suhu pemanasan,  $X_2$  = tekanan pengempaan dan  $X_3$  = lama pemanasan. Tanda minus (-) pada peubah  $X_1^2$ ,  $X_2^2$  dan  $X_3^2$  adalah maksimum seperti yang ditunjukkan pada Gambar 1.

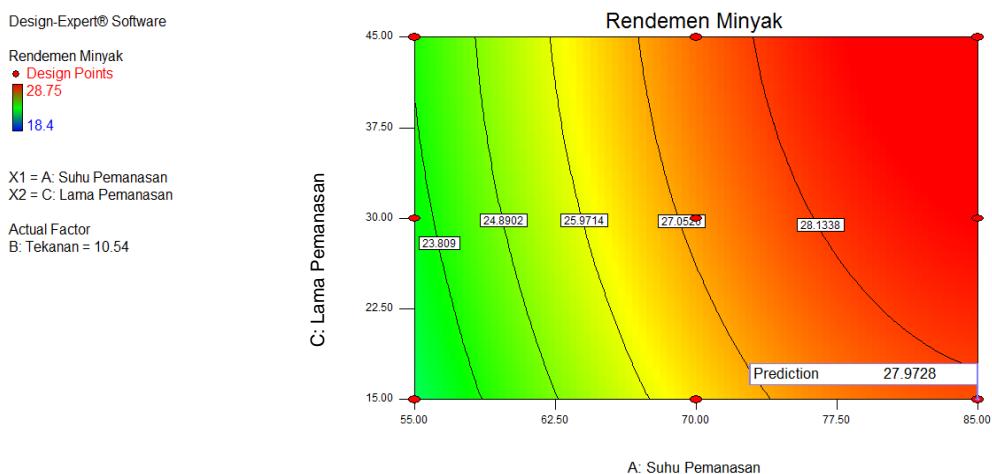
Pengaruh suhu pemanasan terhadap respon dapat diamati dengan mengikuti garis horizontal putus-putus sejajar sumbu X (Gambar 2). Respon terus meningkat dengan meningkatnya suhu pemanasan, tekanan pengempaan dan lama waktu pemanasan sehingga diperoleh respon tertinggi. Letak titik optimum dapat diprediksi dari grafik respon. Nilai titik optimum sebenarnya diperoleh dari hasil analisis kanonik yaitu suhu pemanasan 85°C, tekanan pengempaan 10,54 MPa, dan lama pemanasan 15 menit. Respon pada kondisi optimum ini sebesar 27,97% dengan nilai LC<sub>50</sub> 42,65 ppm dan LC<sub>90</sub> 97,12 ppm.

Rendemen minyak kamandrah meningkat 19-29% dengan peningkatan suhu pemanasan sampai suhu 85°C, sedangkan peningkatan tekanan pengempaan sampai 10,54 MPa dan lama waktu

pemanasan akan meningkatkan rendemen 7-18%. Hasil yang diperoleh sejalan dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Akinoso *et al.* (2006) bahwa peningkatan suhu dan lama pemanggangan akan meningkatkan rendemen minyak kelapa sawit. Penelitian lain menunjukkan bahwa rendemen minyak kacang tanah meningkat pada suhu pemanasan 40-80°C, pada akhirnya terjadi penurunan ketika suhu meningkat dari 80-100°C, selanjutnya rendemen meningkat secara progresif dengan meningkatnya lama waktu pengempaan dari 5-30 menit pada semua level suhu (Aloge *et al.*, 2003). Banghoye *et al.* (2011) menyatakan bahwa rendemen minyak biji rosella meningkat dari 5-6% dengan peningkatan tekanan sampai 30 MPa dan suhu sampai 100°C, selanjutnya mengalami penurunan.



Gambar 1. Grafik respon permukaan rendemen minyak biji kamandrah



Gambar 2. Kontur respon rendemen minyak kamandrah

### Identifikasi Asam Lemak dengan Gas Chromatography (GC)

Hasil analisis GC menunjukkan enam belas puncak, dengan yang teridentifikasi sebagai asam lemak ada enam puncak selebihnya tidak teridentifikasi. Asam lemak yang paling banyak adalah asam lemak tidak jenuh yaitu asam oleat 42,33% dan asam linoleat 2,03%, diikuti asam lemak jenuh yaitu asam stearat 13,33%, asam miristat 5,02%, asam palmitat 3,81%, dan asam laurat 1,02%.

Biji kamandrah banyak mengandung asam lemak oleat mencapai 37% (Duke, 1983) dan 10,99% (Saputra, 2008). Walaupun demikian jauh lebih rendah bila dibandingkan dengan hasil penelitian yang menunjukkan kandungan asam oleat yang diperoleh mencapai 42,33%. Hal ini diduga bahwa banyaknya kandungan senyawa yang diperoleh dari suatu bahan sangat tergantung dari ekologi/agroklimat tempat tumbuh bahan tersebut (Herrera *et al.*, 2006). Menurut Colegate dan Molyneux (1993) persentase kandungan komponen senyawa yang terdapat dalam bahan, menentukan aktifitas bioaktif dari bahan tersebut.

### Identifikasi Senyawa Aktif Dengan Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)

Analisis dengan GC-MS digunakan untuk mengetahui bobot molekul suatu senyawa. Analisis GC-MS dilengkapi dengan penelusuran *Library* (*Libray search repot*) untuk dapat mengidentifikasi MS dan hasil spektra massanya yang dibandingkan dengan database NIST adalah NIST05a.L dan W8N05ST.L, selain itu dibandingkan juga dengan *database Pest.1*. Hasil analisis GC-MS minyak biji kamandrah memiliki komponen kimia yang cukup kompleks, sebagian besar merupakan senyawa karbon rantai panjang yang memiliki beberapa isomer. Hasil identifikasi dengan *database pest.1* menunjukkan komponen utama yang terdapat pada minyak biji kamandrah yang diprediksi sebagai insektisida adalah *butacarboxim*, *2,3,6-trichlorphenol*, *dnc*, dan *propamocarb* disajikan pada Tabel 3.

Hasil spektrum massa GC-MS komponen utama minyak biji kamandrah yang diprediksi sebagai bahan aktif insektisida terlihat pada RT 10,043 dengan bobot molekul (BM) 190,077 adalah senyawa *3-(methylthio) butanone o-methyl-carbomoyloxime* (*Butacarboxim*) dengan rumus molekul  $C_7H_{14}N_2O_2S$  dari golongan *oxime carbamate*. Pada RT 10,043; 11,548 dan 12,924 dengan BM 216,004 adalah senyawa *O,O-dimethylthioethyl phosphorothioate (I)* dan *O,O-dimethyl S-2-methylthioethyl phosphorothioate (II)* (*Demephion*) dengan rumus molekul  $C_5H_{13}O_3PS_2$  dari golongan *aliphatic organothiophosphate*. Pada RT 15,549; 15,617 dan 15,942 dengan BM 195,925 adalah senyawa *2,3,6-Trichlorophenol* dengan rumus molekul  $C_6H_3Cl_3O$  dari golongan *phenol*. Pada RT 15,942 dengan BM 198,027 adalah senyawa *4,6-dinitro-o cresol* atau *2-methyl 4,6-*

*dinitrophenol* (DNOC) dengan rumus molekul  $C_7H_6N_2O_5$  dari golongan *dinitrophenol*.

Tabel 3. Data hasil analisis GC-MS minyak biji kamandrah (*database pest.1*)

Senyawa	Persen Luasan (Metode)		
	I	II	III
<b>Butacarboxim</b>	0,14		
<b>2,3,6-Trichlorphenol</b>	1,01		
2,4-D Methyl ester	0,75		
<b>Benfluralin</b>	3,36		
<b>Demephion</b>	0,43		
4,6-Dinitro-o-cresol (Dnuc)	0,27		
Ethidimuron	0,13		0,04
Ethofumesate	0,88		
Metribuzin	0,27		
Propamocarb	0,45	0,66	

Hasil identifikasi dengan *database NIST* menunjukkan komponen utama yang terdapat pada minyak biji kamandrah yang diprediksi sebagai insektisida adalah *1,4-naphthoquinone* dan *Piperidine* (Tabel 4). Hasil spektrum massa GC-MS menunjukkan senyawa *1,4-naphthoquinone* yang terdeteksi pada RT 14,54, BM 292.058 dengan rumus molekul  $C_{10}H_6O_2$  sedangkan senyawa *piperidine* muncul pada RT 11,83 dengan BM 213.115 dan rumus molekul  $C_{14}H_{15}NO$ . Senyawa *1,4-naphthoquinone* merupakan turunan dari naftalena melalui penggantian dari dua hidrogen atom oleh dua kelompok keton. Senyawa ini bersifat sitotoksik sebagai insektisida, antibakteri, antijamur, antivirus, anti-inflamasi, dan antipiretik yang digunakan untuk mengobati penyakit ganas dan par寄生虫 (Babula *et al.*, 2007).

Senyawa *piperidine* yang diprediksi penelitian ini sesuai dengan hasil penelitian Iswantini *et al.* (2007) bahwa senyawa aktif yang diprediksi sebagai larvasida nabati dari minyak kamandrah adalah senyawa *piperine*. *Piperine* adalah suatu alkaloida piperidine yang bersifat toksik yang biasa digunakan sebagai insektisida. Senyawa golongan *piperidine* yang telah diteliti sebagai pembunuh nyamuk *A. aegypti* adalah *2-ethyl-piperidine* (Pridgeon *et al.*, 2007). Senyawa golongan *piperidine* yang lain telah berhasil di ekstrak oleh Yang *et al.* (2002) dari tanaman *piper longum* dan dilaporkan menunjukkan aktifitas sebagai larvasida *A. aegypti*. Bandara *et al.* (2000) melaporkan telah berhasil mendapatkan senyawa golongan *piperidine* dari *Microcosm paniculata* yaitu *N-Methyl-6 beta-(deca-1',3',5'-trietyl)-3 beta-methoxy-2 beta-methyl piperidine* yang menunjukkan aktifitas sebagai larvasida *A. aegypti* instar kedua. Julia *et al.* (2006) telah berhasil mensintesis senyawa golongan *piperidine* adalah *1-undec-10-enoyl-piperidine* dan *2-ethyl-1-undec-10-enoyl-piperidine* dan *(E, E)-1-piperoyl-piperidine* dan diuji sebagai *adulticides A. aegypti*.

Tabel 4. Data hasil analisis GC-MS minyak biji kamandrah (*database NIST*)

Senyawa	Persen Luasan (Metode)		
	I	II	III
1,3,12-Nonadecatriene	0,34		
<b>1,4-naphthoquinone</b>	2,04		
2(3H)-Furanone		0,04	0,07
2,4-Decadienal		0,03	0,10
2-Hexanone		0,41	
2-Oxopiperidine-3-carboxylic acid			1,35
3-[2-(2-Dimethylaminoethyl)-4,5-methylenedioxyphenyl]methylene-6,7-dimethoxy-3H-isobenzofuran-1-one	0,46		
3-Heptadecene		0,06	0,18
5,6-Dimethyl-4-phenyl-2-pyridone	0,75		
6,9-Heptadecadiene		0,10	
9,12-Octadecadienoic acid	76,50	87,76	79,40
9,17-Octadecadienal		0,34	
10,13-Octadecadienoic acid	0,81		
9-Octadecenoic acid	0,53		
Benzofuran		0,04	
cis-7-Dodecen-1-yl acetate			0,18
Cyclohexanone	1,59		
Dodecanoic acid	0,83	1,01	1,35
gamma-Sitosterol	0,72		
Hydrazine		0,17	
Linoleic acid ethyl ester	2,27		
Methyl tetradecanoate	0,12		
n-Decanoic acid	0,85	1,09	2,05
n-Hexadecanoic acid		3,48	12,12
Octanoic Acid		0,14	0,22
Oxirane			0,04
Pentadecane		0,02	0,06
Pentadecanoic acid	0,18		
Phenanthro[1,2-b]furan-10	1,24		
<b>Piperidine, 1-(1-oxo-3-phenyl-2-propynyl)</b>	5,25		
Squalene		0,14	4,23
Tetradecanoic acid	4,82	5,29	
Thiazolo[5,4-d] pyrimidine	0,29		
Thioxan-3-one, oxime	0,41		

## KESIMPULAN DAN SARAN

### Kesimpulan

Dengan menggunakan metode RSM dapat ditentukan kondisi optimum proses pengempaan biji kamandrah untuk menghasilkan rendemen minyak maksimal adalah 27,97% dengan nilai LC<sub>50</sub> 42,65 ppm dan LC<sub>90</sub> 97,12 ppm, diperoleh pada kondisi suhu pemanasan 85°C, tekanan 10,54 MPa, dan lama pemanasan 15 menit. Pada kondisi optimum diperoleh senyawa asam lemak minyak kamandrah adalah asam oleat 42,33%, asam stearat 13,33%, asam miristat 5,02%, asam palmitat 3,81%, asam linoleat 2,03%, dan asam laurat 1,02% dengan menggunakan GC. Senyawa aktif dominan yang terdapat dalam minyak biji kamandrah yang diprediksi sebagai larvasida nabati adalah *piperidine [1-(1-oxo-3-phenyl-2-propynyl)]*, *1,4-naphtho-*

*quinone*, *dnoe*, *butacarboxim*, *2,3,6-trichlorphenol*, dan *propamocarb* dengan menggunakan GC-MS.

### Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mendapatkan rendemen minyak yang lebih optimal dengan penggunaan pengepresan mekanis lain, seperti pengepres berulit (*expeller pressing*).

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis sampaikan terimakasih pada Badan Litbang Deptan yang telah membantu penelitian KKP3T tahun 2006 sampai 2008.

## DAFTAR PUSTAKA

- Akinoso R, Igbeka JC, Olayanju TMA, Bankole LK. 2006. Modelling of Oil Expression from Palm Kernel (*Elaeis guineensis* Jacq).

- Agricultural Engineering International : The CIGR Ejournal.* Manuscript FP 05 016. Vol. VIII.
- Alonge AF, Olaniyan AM, Oje K, Agbaje CO. 2003. Effects of Dilution Ratio, Water Temperatur and Pressing Time on Oil Yield from Groundnut Oil Expression. *J Food Sci Technol.* 40 (6): 652-655.
- AOAC. 2000. *Official Methods of Analysis.* AOAC, Washington DC.
- Astuti EP. 2008. Efektivitas Minyak Biji Jarak Pagar (*Jatropha curcas*) Sebagai Larvasida, Anti-Oviposisi dan Ovicidal Nyamuk *Aedes Aegypti* dan *Aedes albipictus*. [Tesis]. Bogor : Institut Pertanian Bogor.
- Badan POM. 2005. *Peraturan Perundang-Undangan Dibidang Obat Tradisional, Obat Herbal Terstandar dan Fitofarmaka.* Jakarta.
- Babula P, Adam V, Havel L, Kizek R. 2007. Naphthoquinones and Their Pharmacological Properties. *Ceska a Slovenska farmacie : casopis Ceske farmaceuticke spolecnosti a Slovenske farmaceuticke spolecnosti* 56 (3): 114–20.
- Bandara KA, Kumar V, Jacobsson U, Molleyres LP. 2000. Insecticidal Piperidine Alkaloid from *Microcos Paniculata* Stem bark. *J Phytochem* 54 (1): 29-32.
- Banghyoe AS dan Adejumo OI. 2011. Effects of Processing Parameters of Roselle Seed on Its Oil Yield. *Int J Agric & Biol Eng* 4 (1): 82-86.
- Carvalho AFU. 2003. Larvacial Activity of The Essential Oil from *Lippia sidoldes* cham against *Ae. Aegypti* Linn. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 98:565-571.
- Colegate SM dan Molyneux RJ. 1993. *Bioactive Natural Products : Detection, Isolation, and Structural Determination.* Cambridge: CRC Press.
- Duke JA. 1983. *Euphorbiaceae.* Purging Croton, Physic Nut, Croton-Oil Plant. Handbook of Energy Crops. [http://www.hort.purdue.edu/newcrop/duke\\_energy/Croton\\_tiglum.html](http://www.hort.purdue.edu/newcrop/duke_energy/Croton_tiglum.html).
- Eckey WE. 1954. *Vegetable Fats and Oil.* New York: Reinhold Publishing Corp.
- Gubler DJ. 1998. Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever. *Clin Microbiol Rev.* 11: 480-496.
- Hamidi A dan Ratnasih R. 2008. Analisis Produktivitas dan Kimia Minyak Dari *Croton tiglum* L. dan *Ricinus Communis* Sebagai Bahan Baku Biodiesel. Program Studi Biologi. [Skripsi]. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Heyne K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia Jilid II.* Jakarta : Badan Litbang Kehutanan.
- Herrera JM, Siddhuraju P, Francis G, Da'vila-Ortiz G, Becker K. 2006. Chemical composition, toxic/ antimetabolic Constituents, and Effects of Different Treatments on Their Levels, in Four Provenances of *Jatropha curcas* L. from Mexico. *Food Chem.* 96:80-89.
- Hui YH. 1996. *Baileys Industrial Oil and Fat Products Vol 4. Edible Oil and Fat Products : Processing Technology.* New York : John Wiley and Sons.
- Iswantini D, Rosihan R, Djumali M, Upik KH, Min R. 2007. Bioprospeksi Tanaman Obat Kamandrah (*Croton tiglum* L.) : Studi Agrobiofisik dan Pemanfaatannya Sebagai Larvasida Hayati Pencegah Demam Berdarah Dengue. Laporan KKP3T. IPB berkerjasama dengan Badan Litbang Jakarta.
- Iswantini D, Rosihan R, Upik KH, Agus ST. 2008. Bioprospeksi Tanaman Obat Kamandrah (*Croton tiglum* L.): Budidaya Dan Pemanfaatannya Sebagai Larvasida Hayati Pencegah Demam Berdarah Dengue (Tahun Pertama). Laporan Hasil Penelitian KKP3T. Institut Pertanian Bogor berkerjasama dengan Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Jakarta.
- Iswantini D, Rosihan R, Upik KH, Agus ST. 2009. Bioprospeksi Tanaman Obat Kamandrah (*Croton tiglum* L.): Budidaya dan Pemanfaatannya Sebagai Larvasida Hayati Pencegah Demam Berdarah Dengue. Laporan KKP3T. IPB berkerjasama dengan Badan Litbang Jakarta.
- Julia W, Pridgeon, James J, Becnel, Kumudini M, Meepagala, Clark DG. 2006. Synthesis and Structure-Activity Relationships of 1-undec-10-enoyl-piperidines as adulticides against the yellow fever mosquito *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). Di dalam *The 2006 ESA Annual Meeting*, December, 10-13, 2006.
- Kemeskes RI. 2010. Laporan Kasus Demam Berdarah Dengue. Subdit Arbovirosis, Ditjen PP&PL. Kementerian Kesehatan RI Jakarta.
- Marshall GT, Klocke JA, Lin LJ, Kinghorn AD. 2005. Effects of Diterpene Esters of Tigiane, Daphnane, Ingenane, and Lathyrane Types On Pink Bollworm, *Pectinophora gossypiella* Saunders (Lepidoptera : Gelechiidae). *J Chem Ecol.* 11(2): 191-206.
- Pridgeon JW, Meepagala KM, Becnel JJ, Clark GG, Pereira RM, Linthicum KJ. 2007. Structure-Activity Relationships of 33 Piperidines as Toxicants Against Female Adults of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *J Medical Ento.* 44 (2) : 263-269.
- Riyadhi A. 2008. Identifikasi Senyawa Aktif Tanaman Kamandrah (*Croton tiglum*) dan

- Biji Jarak Pagar (*Jatropha curcas*) Sebagai Larvasida Nabati Vektor Demam Berdarah Dengue. [Tesis]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Saputera, Djumali M, Sapta R, Kardono LBS, Dyah IP. 2008. Characteristics, Efficacy and Safety Testing of Standardized Extract of *Croton Tiglum* Seed From Indonesia as Laxative Material. *Pakistan J Biological Sci.* 11 (4): 618-622.
- Thamrin U. 2002. Tanaman Kemandah Pembunuh Jentik Nyamuk Demam Berdarah, Sinar Harapan 6 Februari 2002. [terhubung berkala] www.terranet.co.id. [3 Maret 2007].
- Wu X, Zhao Y, Yu N. 2007. A Novel Analgesic Pyrazine Derivative from The Leaves of *Croton tiglum* L. *J Asian Natural Products Res.* 9 (5) : 451-455.
- Yang YC, Lee SG, Lee HK, Kim MK, Lee SH, Lee HS. 2002. A Piperidine Amide Extracted from *Piper longum* L. Fruit Shows Activity Against *Aedes aegypti* Mosquito Larvae". *J Agric Food Chem.* 50 (13): 3765–3767.
- Ying L, Yingming P, Zuhong H, Pingying W Aihong L. 2002. Extracting The Pesticide Components from *Croton tiglum* and Preliminary Study of Its Biological Activity. *China Acad J Elect Publishing House.* No 3.