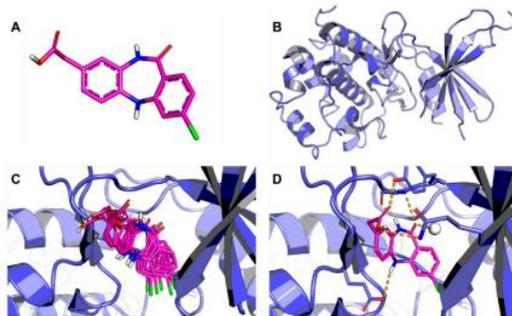


## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Penggunaan Komputasi dalam Pengembangan Formulasi Insektisida Alami

Kimia komputasi merupakan disiplin ilmu sebagai sarana untuk mengetahui reaksi dan proses kimia dalam suatu sistem. Para ilmuwan menggunakan perangkat lunak komputer untuk mendapat informasi mengenai proses kimia yang terjadi [19]. Metode kimia komputasi dapat digunakan untuk penentuan struktur dan sifat suatu sistem kimia dengan mempelajari sifat molekul dan interaksi antar molekul [20].

Menentukan sifat molekul dan interaksi antar molekul dapat dilakukan dengan uji *docking* (*in silico*). *Docking* merupakan metode yang digunakan untuk memprediksi orientasi antara ligan dengan makromolekul (reseptor) [21]. Prinsip *docking* adalah teknik penempatan interaksi ligan ke dalam sisi aktif reseptor dilanjutkan dengan simulasi molekul berdasarkan konformasi struktur dan sifat elektrostatik [22].



**Gambar 2.1:** Tahapan *Docking*: (A) Persiapan Struktur 3D Ligan (B) Persiapan Struktur 3D Reseptor (C) Proses *Docking* (Pengikatan Ligan dengan Sisi Aktif Reseptor dan Konformasinya) (D) Identifikasi Ikatan Konformasi dan Interaksi Intermolekuler [23]

Fungsi *docking* adalah dapat membuat konformasi-konformasi ligan-protein. Secara umum program *docking* dapat melakukan proses pencarian posisi dengan pola ligan yang fleksibel dan protein yang kaku. Setiap posisi dinilai berdasarkan bentuk dan

karakteristik seperti elektrostatik untuk menemukan posisi yang paling disukai [23]. Terdapat 4 tahapan *docking* yaitu persiapan struktur 3D ligan, persiapan struktur 3D reseptor, proses *docking* (pengikatan ligan dengan sisi aktif reseptor dan konformasinya) dan identifikasi ikatan konformasi dan interaksi intermolekuler [24]. Metode *docking* secara umum yang digunakan adalah molekular dinamik, metode Monte Carlo, genetik algoritma dan metode komplemen [25]. Simulasi *docking* dapat menghasilkan informasi energi bebas berdasarkan konformasi struktur makromolekul dan ligan. Interaksi antara makromolekul dengan ligan dinyatakan sebagai Energi Gibbs ( $\Delta G^\circ$ ). Energi Gibbs ( $\Delta G^\circ$ ) berhubungan dengan konstanta inhibisi ( $K_i$ ). Hubungan antara Energi Gibbs ( $\Delta G^\circ$ ) dengan konstanta inhibisi ( $K_i$ ) sebagai berikut [1]:

$$(\Delta G^\circ) = -RT \ln K_i$$

Keterangan:

$\Delta G^\circ$  = Energi Gibbs

R = Konstanta gas ideal

T = Suhu ( $^\circ\text{K}$ )

$K_i$  = Konstanta inhibisi

Nilai  $K_i$  dapat digunakan untuk menentukan nilai  $IC_{50}$ , hubungan  $K_i$  dan  $IC_{50}$  dapat dinyatakan sebagai berikut [26]:

$$K_i = \frac{IC_{50}}{1 + \frac{LT}{Kd}}$$

$$Kd = \frac{EC_{50}}{1 + \frac{L}{K_i}}$$

Keterangan:

$K_i$  = Konstanta disosiasi ligan yang tidak berikatan

$Kd$  = Konstanta disosiasi ligan yang berikatan

$IC_{50}$  = Konsentrasi yang dibutuhkan inhibitor untuk memberikan penghambatan 50%

$EC_{50}$  = Konsentrasi ligan yang memberikan efek 50% untuk menghambat inhibitor

LT = Konsentrasi total untuk ligan yang berikatan

Nilai  $IC_{50}$  dapat menunjukkan konsentrasi insektisida (ppm) yang dibutuhkan inhibitor untuk memberikan penghambatan sebesar 50%. Semakin kecil nilai  $IC_{50}$  maka semakin tinggi aktivitas dari insektisida alami [27].

## 2.2 Potensi Minyak Atsiri sebagai Insektisida Alami

Serangan hama terhadap tanaman dapat dikendalikan dengan menggunakan berbagai alternatif pengendalian dan yang paling sering digunakan adalah pestisida sintetis. Pestisida sintetis merupakan jenis pestisida dengan bahan beracun yang digunakan untuk mengendalikan organisme pengganggu tanaman (OPT). Pemberian pestisida terhadap suatu lahan diharapkan dapat meningkatkan jumlah produktivitas. Tetapi penggunaan pestisida sintetis yang berlebihan dan dilakukan secara terus-menerus dapat mengakibatkan munculnya dampak negatif antara lain residu pestisida akan terakumulasi pada tanaman, pencemaran lingkungan pertanian dan perairan yang dapat mengancam kesehatan manusia dan hewan serta penurunan produktivitas [28].

Terdapat beberapa alternatif dari pestisida sintetis seperti pestisida alami yang berbahan dasar tumbuhan atau minyak atsiri. Minyak atsiri merupakan campuran alami *volatile* kompleks metabolit sekunder yang diisolasi dari tanaman dengan distilasi uap [29]. Minyak ini mempunyai sifat antibakteri, antivirus, antitoksik, antioksidan dan insektisida sehingga dapat digunakan sebagai alternatif pestisida sintetis [30]. Komponen utama minyak atsiri adalah mono dan seskuiterpen termasuk karbohidrat, alkohol, eter, aldehyd dan keton. Berbagai minyak atsiri menghasilkan efek farmakologis yaitu menunjukkan anti-flamasi, antioksidan dan antikanker terhadap berbagai organisme seperti bakteri, jamur, virus, protozoa, serangga dan tanaman [29]. Minyak atsiri bersifat mudah menguap, sebagai antibakteri, antijamur, insektisida, bersifat *biodegradable* dan *ecofriendly* yang baik untuk mengatasi gulma [31]. Penggunaan minyak atsiri antara lain sebagai parfum, aromaterapi, pengawet makanan, farmasi dan perasa dalam makanan baik yang diekstrak dari tanaman atau produksi sintesis [30].

Beberapa contoh minyak atsiri yang dapat digunakan sebagai insektisida alami adalah minyak serai wangi dan minyak cengkeh. Serai wangi merupakan tanaman keluarga rumput yang mengandung minyak esensial 1-2%. Minyak esensial serai wangi ditandai dengan tingginya kandungan citral (terdiri dari neral dan isomer geranial) yang digunakan sebagai bahan mentah untuk produksi ionone, vitamin A dan betakaroten [32]. Serai wangi merupakan sebuah tanaman

rempah-rempah yang ditanam di Sri Lanka, berasal dari India Barat yang mengandung citral tinggi. Citral adalah terpenoid oksigen (aldehida) yang menunjukkan sifat anti jamur [33]. Berikut gambar dari serai wangi [34]:

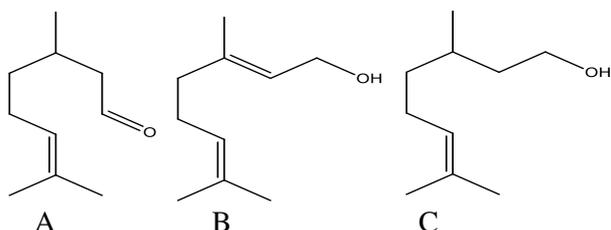


**Gambar 2.2:** Serai Wangi [34]

Terdapat dua tipe serai wangi di dunia yaitu [30, 31]:

1. Tipe Sri Lanka, berasal dari distilasi uap daun *Cymbopogon nardus*. Minyak ini berwujud cair, berwarna kuning pucat, berbau segar seperti rumput dan agak seperti kamfer. Minyak Sri Lanka hanya digunakan sebagai pewangi sabun, bubuk pencuci dan produk keperluan rumah tangga, menunjukkan kurang bernilai ekonomis dari pada minyak tipe jawa.
2. Tipe Jawa, berasal dari distilasi uap daun *Cymbopogon winterianus* Jowitt atau mahapengiri. Minyak serai ini berwarna kuning pucat sampai coklat pucat, berbau manis dengan aroma sitrus yang kuat dari sitronelal. Minyak ini mengandung total senyawa mencapai 97% yang dapat diasetilasi dan mencapai 45% senyawa karbonil. Minyak serai tipe Jawa mempunyai sebelas komponen yaitu  $\alpha$ -pinen, limonen, linalool, sitronelal, sitronelol, geraniol, sitronelil asetat,  $\beta$ -kariofilen, geraniol asetat,  $\gamma$ -kadinen dan elemol. Komponen yang utama adalah sitronelal, sitronelol dan geraniol. Sitronelal, sitronelol dan geraniol termasuk golongan monoterpenoid yaitu gabungan dari dua kerangka isoprena.

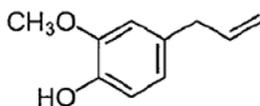
Berdasarkan analisis fitokimia minyak atsiri dari serai wangi (*C. winterianus*) menunjukkan adanya sitronelal (36,19%), geraniol (32,82%) dan sitronelol (11,37%) sebagai komponen utama [15]. Berikut struktur dari senyawa sitronelal, geraniol dan sitronelol [32, 33]:



**Gambar 2.3:** Struktur (A) sitronelal (B) geraniol dan (C) sitronelol

Minyak serai wangi pada konsentrasi 1% ( $w v^{-1}$ ) dapat menyebabkan kematian pada *F. schultzei* (34,3%) dan *M. persicae* (96,9%). Selain kematian, minyak serai dapat menyebabkan deformasi dalam berbagai tahap perkembangan serangga, *repellent* dan pencegahan. Ketika minyak serai berinteraksi dengan integumen serangga, hal itu dapat mempengaruhi pencernaan dan enzim neurologis [35].

Sedangkan cengkeh merupakan tumbuhan perdu yang mempunyai batang pohon besar, berkayu keras dan tinggi mencapai 20-30 meter [36]. Minyak esensial cengkeh digunakan sebagai aromaterapi dan secara luas digunakan untuk mengobati sakit gigi, asma dan berbagai gangguan oral. Minyak esensial cengkeh memiliki anestesi dan kualitas antimikroba dan biasanya digunakan untuk menghilangkan bau mulut atau memperbaiki rasa sakit dari gigi yang buruk. Minyak cengkeh mengandung eugenol (80-90%), eugenol asetat (15%) dan beta caryophyllene (5-12%) [37]. Senyawa eugenol menunjukkan efektif mengendalikan nematode, jamur pathogen, bakteri dan serangga hama. Berikut merupakan struktur dari eugenol [38]:



**Gambar 2.4:** Struktur Eugenol

Mekanisme antimikroba dari senyawa eugenol meliputi mengganggu fungsi membran sel, menginaktivasi enzim, menghambat sintesis kitin, asam nukleat dan protein serta menghambat produksi energi [16].

### 2.3 Hama Ulat Grayak (*Spodoptera litura*)

Ulat grayak (*Spodoptera litura*) merupakan salah satu hama yang mempunyai kisaran inang yang luas seperti tembakau, kedelai, kentang, kacang tanah, kubis, tomat, ubi jalar dan cabai [39]. Ulat grayak menyerang tanaman saat stadium larva dengan memakan daun tanaman yang mengakibatkan daun berlubang dan hanya menyisakan tulang daun. Serangan hama ini biasanya menggerombol sehingga menyebabkan kerugian besar bagi petani. Pengkajian lebih mendalam mengenai sifat hidup hama ini sangat diperlukan [40].



**Gambar 2.5:** Ulat Grayak (*Spodoptera litura*) [41]

Larva ulat grayak terdiri dari 5 periode instar meliputi instar 1 berumur sekitar 2-3 hari, instar 2 sekitar 2-4 hari, instar 3 sekitar 2-5 hari, instar 4 sekitar 2-6 hari, dan instar 5 sekitar 4-7 hari [40]. Pada larva instar 1 mempunyai panjang tubuh 0,2-0,3 mm, berwarna kuning dengan bulu-bulu halus dan kepala berwarna hitam. Larva instar 2 mempunyai panjang 3,75-10 mm, berwarna hijau dengan bulu-bulu yang tidak terlihat lagi, terdapat garis hitam di ruas abdomen pertama dan garis putih memanjang di bagian dorsal. Larva instar 3 mempunyai panjang 8-15 mm dengan lebar kepala 0,5-0,6 mm, terdapat garis zig-zag berwarna putih di bagian kiri dan kanan abdomen dan bulatan hitam sepanjang tubuh. Instar 4 mempunyai panjang tubuh 13-20 mm, terdapat variasi warna diantaranya hitam, hijau, keputihan, hijau kekuningan [42].

## 2.4 Gas Chromatography-Mass Spectrometry

Kromatografi merupakan metode pemisahan berdasarkan perbedaan distribusi komponen-komponen campuran antara dua fase yaitu fase diam dan fase gerak. Terdapat dua jenis fase gerak kromatografi yaitu kromatografi gas dan kromatografi cair. Kromatografi gas merupakan metode yang akurat untuk pemisahan senyawa-senyawa organik maupun anorganik yang mudah menguap dalam suatu campuran. Metode ini dapat digunakan untuk analisis kualitatif dan kuantitatif. Analisis kualitatif dilakukan dengan cara membandingkan waktu retensi komponen dengan waktu retensi zat baku standar terhadap kondisi analisis yang sama. Analisis kuantitatif dilakukan dengan cara menghitung luas puncak kromatogram komponen terhadap zat baku standar yang dianalisis [43].

Prinsip pemisahan kromatografi gas adalah berdasarkan partisi komponen-komponen senyawa. Sampel yang paling mudah menguap akan bermigrasi terlebih dahulu melalui kolom yang di dalamnya terdapat fase diam. Sedangkan fase gerak berupa gas akan mengelusi solut dari ujung kolom dan diteruskan menuju detektor. Solut terelusi berdasarkan peningkatan titik didih dan afinitas terhadap fase diam. Detektor menghasilkan sinyal pembacaan dan dicatat oleh rekorder sehingga menghasilkan kromatogram. Kadar senyawa dapat ditentukan dengan menghitung luas area kromatogram [43].

Seiring dengan perkembangan teknologi instrumentasi dihasilkan alat gabungan dari dua instrumen analisis yaitu kromatografi gas dan spektrometer massa atau bisa disebut *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS). Gabungan dari dua instrumen ini sangat efektif untuk analisis dalam bidang kimia organik, ilmu kedokteran, farmasi dan dalam bidang lingkungan [44]. Kromatografi gas berfungsi sebagai pemisah komponen-komponen campuran dalam sampel, sedangkan spektrometer massa untuk mendeteksi masing-masing molekul komponen yang telah dipisahkan pada alat kromatografi gas. Kromatografi gas akan menghasilkan kromatogram dan diperoleh informasi jumlah senyawa yang

terdeteksi. Spektrometer massa menghasilkan spektra massa dan diperoleh informasi struktur senyawa yang terdeteksi [45].

Spektrometri massa merupakan suatu metode analisis berdasarkan pada pemisahan berkas ion-ion dengan perbandingan massa terhadap muatan dan pengukuran intensitas dari berkas-berkas ion tersebut [46]. Prinsip pemisahan spektrometri massa adalah molekul organik ditembak dengan berkas elektron berenergi tinggi sehingga terionisasi menjadi fragmen-fragmen yang mempunyai massa molekul yang lebih kecil. Terjadi pelepasan satu elektron pada molekul organik menghasilkan ion radikal yang mengandung satu elektron tidak berpasangan. Ion-ion radikal dipisahkan oleh medan magnet dan menimbulkan arus ion pada kolektor yang sebanding dengan limpahan relatif. Spektrometri massa menghasilkan spektra massa yang merupakan limpahan relatif perbandingan dari massa/muatan ( $m/z$ ) [47].

## 2.5 Hipotesis

Berdasarkan rumusan masalah dan kajian teori yang telah diuraikan, insektisida alami dari minyak serai wangi dan minyak cengkeh dengan formulasi hasil *docking* dapat digunakan sebagai pengendalian hama ulat grayak (*Spodoptera lituara*).