

PENELITIAN PEMBUATAN FORMULASI INSEKTISIDA DARI TANAMAN NIMBA

Oleh :

*Sri Pudji Rahayu *)*
Rofienda
Emmy Ratnawati

Abstract.

Neem tree (*Azadirachta indica*) was found contain azadirachtin that can be used as an insecticide. Extraction of azadirachtin has been conducted in BBIK laboratory with neem seed collected from Madura and Ngawi, by using n-hexane, methanol petroleum ether and ethyl acetate as solvents.

The experiment showed that n-hexane gave the best result in the extraction of neem seed from Madura, that was 20,36 %. The neem extract then used to made Emulsifiable Concentrate (EC) formulation of insecticide. As a control, it was used neem oil from India. From the physico - chemical testing of formulation, is found that EC formulation of neem extract are not give good result yet, compared then EC formulation that made from Indian neem oil.

I. PENDAHULUAN

Saat ini pengembangan insektisida yang berbasis alam belum begitu diminati terutama oleh kalangan industri di Indonesia, sedangkan kecenderungan di negara-negara maju akhir-akhir ini mulai meninggalkan insektisida kimia dan beralih ke penggunaan insektisida alami karena bahaya dari insektisida kimia terhadap lingkungan. Selama 40 tahun terakhir ini telah bermacam-macam insektisida kimia diproduksi dan digunakan di sektor pertanian, kehutanan, rumah tangga dan kesehatan. Di samping keberhasilannya dalam me-

tingkatkan produksi pertanian, kehutanan dan pemberantasan hama pada umumnya, pemakaian insektisida ini juga banyak menimbulkan masalah diantaranya resistensi, resurgensi dan masalah lingkungan seperti residu yang sulit terurai di lingkungan. Hal ini menyebabkan ahli-ahli pengendalian hama berusaha mencari alternatif bahan lain dari alam seperti tumbuhan sebagai insektisida. Indonesia dikenal mempunyai potensi alam yang berlimpah, diantaranya tanaman-tanaman yang bisa digunakan sebagai insektisida. Salah satu tanaman yang berpotensi besar memenuhi kriteria-kriteria sebagai insektisida adalah tanaman nimba (*Azadirachta Indica*). Tanaman nimba ini diharapkan dapat di-

*) Staf Peneliti
Balai Penelitian Pupuk dan Petrokimia
Balai Besar Industri Kimia

pakai sebagai insektisida yang aman terutama dalam mendukung program Pengendalian Hama Terpadu (PHT). Penelitian ini bertujuan untuk memanfaatkan tanaman nimba untuk insektisida dan mendapatkan cara-cara pembuatan insektisida dari tanaman nimba tersebut.

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Nimba Sebagai Bahan Aktif Insektisida.

Tanaman nimba terutama buahnya mengandung suatu alkaloid atau terpenoid yang disebut azadirachtin yang dapat digunakan sebagai insektisida. Sebagai insektisida, azadirachtin dari ekstrak nimba berfungsi sebagai "anti feedant" sehingga serangga atau hama tidak mau makan, anti pelotakan telur, mempengaruhi metamorfosa serangga, sterilitas telur, mempengaruhi kesehatan serangga dan menghambat pertumbuhan serangga. Selain sebagai insektisida, nimba juga berguna sebagai bahan anti-septik dalam pembuatan kosmetik seperti dalam pembuatan sabun dan pasta gigi. Disamping itu juga berfungsi

untuk obat karena dapat bersifat sebagai anti bakteri, anti virus, fungisida, anti malaria, penyembuh penyakit kulit dan juga dapat digunakan sebagai alat kontrasepsi.

B. Ekstraksi Untuk Mendapatkan Minyak Nimba.

Menurut Ascher (1980), minyak nimba (neem oil) dapat dihasilkan secara ekstraksi menggunakan berbagai pelarut organik. Ekstraksi dapat dilakukan dengan cara dingin (cold extraction) atau menggunakan soxhlet. Dalam ekstraksi minyak nimba, pemilihan pelarut merupakan salah satu hal yang penting untuk mendapatkan hasil yang tinggi dan sesuai dengan kegunaan minyak tersebut selanjutnya. Beberapa pelarut golongan alkohol dapat digunakan untuk kepentingan tersebut misalnya metanol merupakan pelarut yang baik sedangkan etanol tidak disarankan untuk dipakai karena hasilnya kurang baik. Pelarut aromatik juga kurang baik untuk pengekstrak nimba. Hasil ekstraksi yang dilakukan oleh Ascher dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 1. Hasil Ekstraksi Minyak Biji Nimba Pada Berbagai Pelarut (Ascher)

Pelarut dan Metoda Ekstraksi	% Hasil dari Biji Nimba Segar	Penampilan Hasil Ekstraksi Kering
Metanol, Dingin	17,5	Keras seperti lilin coklat. Sebagian lilin padat dan cairan berminyak. Minyak kuning kehijauan dengan sedikit endapan gelap, memadat jika didinginkan. Minyak kuning dengan sedikit endapan putih, memadat jika didinginkan.
Metanol, RE-ekstrak	4,6	
	22,1	
Metanol, Soxhlet	26,9	
Aseton, Soxhlet	48,1	
n - Pentana, Soxhlet	48,8	

Ekstraksi secara dingin dilakukan dengan mencampur biji yang telah dihaluskan dengan pelarut kemudian campuran tersebut diaduk selama 3 jam dan dibiarkan semalam, setelah itu diaduk lagi selama beberapa jam dan disaring. Filtratnya kemudian diuapkan untuk memisahkan antara pelarut dengan minyak nimba yang dihasilkan. Minyak tersebut berbentuk lapisan lilin keras yang berwarna kecoklatan. Dengan metoda dingin ini dapat dihasilkan minyak kira-kira 17 - 20 %. Pada ekstraksi secara soxhlet, biji yang telah ditimbang kemudian dihaluskan dan dilakukan destilasi menggunakan alat soxhlet. Ekstraksi dengan cara ini dilaporkan memberikan hasil yang lebih tinggi yaitu kira-kira 45 - 48 %.

C. Pemurnian dan Identifikasi Hasil Ekstrak

Hasil ekstrak biji nimba mengandung sejumlah alkaloid-alkaloid seperti azadirachtin, nimbolin, salanin, salanol, salanol asetat, 3-deasetil salanin, nimbandiol, azadiradion, 14-epoxiazadiradion, gedunin, nimbinen, deasilnimbinen dan lain-lain. Pada dasarnya senyawa-senyawa alkaloid tersebut bersifat anti feedant terhadap serangga, hanya keaktifannya saja yang berbeda. Dari senyawa alkaloid tersebut, azadirachtin yang diketahui paling aktif. Untuk mendapatkan senyawa alkaloid yang merupakan bahan aktif untuk pembuatan insektisida, maka diperlukan pemurnian dari hasil ekstraksi. Menurut Morgan (1980), cara pemurnian dari ekstrak nimba tersebut adalah dengan melewatkannya

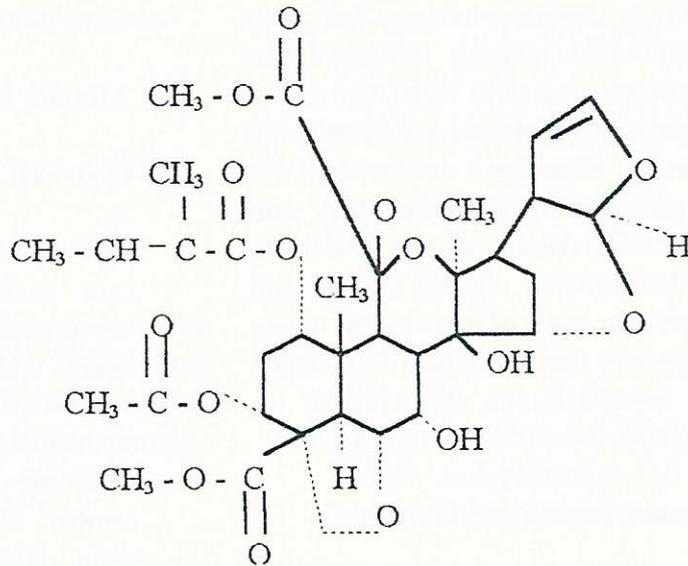
pada "floridin earth" dan hasilnya dapat ditentukan menggunakan kromatografi. Kemurnian azadirachtin juga dapat ditentukan dengan Nuclear Magnetic Resonance (NMR), Spectrofotometer atau dengan Thin Layer Chromatography (TLC) yang menggunakan Silika gel pada Rf 0,60 (etil asetat), 0,50 (eter-asetat 4 : 1), 0,40 (Chloroform-aseton 7 : 3) dan 15 (eter aseton 49 : 1). Identifikasi dari alkaloid atau terpenoid dapat dilakukan dengan menggunakan HPLC. Dengan HPLC selain dapat menentukan azadirachtin juga dapat diidentifikasi 6 senyawa yang berhubungan erat seperti 1- α metoksi, 1,2-dihidro epoxiazadiradion, diepoxiazadiradion, azadiradion, epoxiazadiradion, gedunin dan 7 - asetilneotrichilenon. Senyawa-senyawa tersebut juga dapat ditentukan dengan Infra Red, 360 MHzH-NMR dan High Resolution Mass Spectrometri. Dengan NMR atau HPLC dapat juga ditentukan diasetilvilasinin $C_{30}H_{40}O_7$ (BM 512; m.p. 157 °C, (D20=-6.5°C); 3-desasetil salanin $C_{32}H_{42}O_8$ (BM 554; m.p. 21 °C; D20 = +134 °C; salanol $C_{32}H_{42}O_8$ (BM. 556; m.p. 208 °C; D20 = 108,5 °C dan nimbandiol $C_{26}H_{32}O_7$ (BM. 456; m.p. 121 °C; D20 = + 187,9 °C.

D. Sifat Fisiko Kimia Azadirachtin

Azadirachtin adalah salah satu alkaloid atau tetranortriterpenoid yang sangat aktif berfungsi sebagai insektisida, walaupun alkaloid yang lain juga berperan membantu fungsi azadirachtin tersebut.

Rumus kimia Azadirachtin adalah :

Rumus kimia Azadirachtin :



Menurut Zanno et al dalam Morgan (1980), struktur kimia azadirachtin memperlihatkan adanya cincin dihidrofuran, gugus ketal, dua gugus hidroksil tertier dan 4 gugus ester. Gugus-gugus ketal dan hidroksil tersebut bersifat sensitif terhadap asam kuat sedangkan gugus esternya sensitif terhadap basa. Azadirachtin dilaporkan tidak stabil dalam larutan chloroform juga terhadap asam dan basa sedangkan terhadap suasana pII netral zat ini stabil.

E. Bentuk-Bentuk Formulasi Insektisida Dari Nimba.

Dari tanaman nimba terutama bijinya dapat dibuat bermacam-macam bentuk formulasi insektisida seperti pekatan yang diemulsikan (Emulsifiable Concentrate), tepung (powder), padatan (cake), suspensi, minyak nimba (neem oil) dan bentuk cairan dari ekstrak biji nimba. Formulasi pekatan yang diemulsikan dibuat dari minyak nimba hasil

ekstrak dari biji nimba yang dicampur dengan emulsifier dan pelarut yang sesuai. Sedang formulasi tepung dibuat dengan menghaluskan biji nimba sampai halus kemudian tepung ini dicampur dengan serbuk gergaji atau bahan lain sebagai bahan pembawa (carrier) dan pemakaiannya dengan cara dihembuskan. Formulasi Suspensi dibuat dengan mencampur tepung nimba dengan air kemudian campuran dibiarkan selama 2 - 4 hari, disaring dan baru disemprotkan, sedang formulasi Aqueous dibuat dari minyak nimba yang dicampur dengan air dan langsung disemprotkan.

F. Pengujian Biologis (Efikasi) Dari Insektisida Nimba.

Dari penelitian tentang pengujian biologis dari nimba dilaporkan bahwa azadirachtin dari nimba mempunyai efek "anti feedant" terhadap berbagai serangga dari Ordo -

Coleoptera, Homoptera, Hymenoptera, Diptera, Heteroptera, Orthoptera dan Lepidoptera. Azadirachtin dari daging biji nimba menunjukkan yang terbaik dalam aktifitasnya sebagai anti feedant diikuti azadirachtin yang terdapat dalam kulit biji dan daun. Ekstraksi dengan pelarut chloroform dapat menghasilkan efek anti feedant terbaik diikuti ekstraksi dengan metanol dan hexan. Selain sebagai anti feedant nimba juga dapat menurunkan produksi telur dari serangga *Epilachna varivestis* sampai 90 % seperti yang dilaporkan Steets dalam Schmuterer (1980).

G. Toksisitas Terhadap Mamalia

Suatu pengujian telah dilakukan oleh Environmental Protection Agency (EPA) terhadap formulasi komersial nimba "Margosan O" menyatakan bahwa toksisitas akut yang dimakan (LD 50) terhadap tikus lebih besar dari 5 ml/kg berat badan sedang untuk kulit (dermal) terhadap kelinci adalah lebih dari 2 ml/kg berat badan.

III. BAHAN DAN METODA

A. Bahan

Bahan yang diperlukan untuk penelitian pembuatan formulasi insektisida dari tanaman nimba adalah : biji nimba dari Madura dan Ngawi, bahan kimia yang terdiri dari emulsifier dan pelarut-pelarut organik seperti metanol, hexan, etil asetat dan petroleum eter, serta bahan florisil.

B. Alat

Alat yang dipakai adalah grinder, mixer dan

peralatan ekstraksi seperti soxhlet, alat destilasi dan HPLC untuk menentukan azadirachtinnya.

C. Metoda

1. Ekstraksi

Ekstraksi biji nimba dilakukan dengan cara soxhlet. Sejumlah biji nimba kering ditimbang dan dihaluskan kemudian diekstrak dengan bermacam-macam pelarut menggunakan peralatan soxhlet. Hasil ekstrak yang diperoleh diuapkan dengan alat rotary evaporator sampai diperoleh minyak biji nimba yang tidak menguap lagi berwarna coklat kehijauan.

2. Identifikasi Azadirachtin dengan Alat HPLC.

Untuk mengidentifikasi adanya azadirachtin dalam minyak nimba yang dihasilkan adalah : pertama dilakukan pemisahan dari lemak bebas kemudian diikuti pemisahan dengan kolom kromatografi pada florisil 60 - 100 mesh dengan menggunakan 5 % aseton dalam eter sebagai larutan pengelusi. Fraksi aktif dari kolom tersebut diperiksa/dianalisa dengan 3 kolom C 18 "phase bonded" Hi-Flosil kemudian kolom Bondapak C 18.

3. Formulasi.

Minyak yang didapat dari hasil ekstraksi nimba kemudian dibuat formulasi insektisida yang berbentuk EC. Dalam pembuatan formulasi ini ditentukan kandungan minyak nimbanya 50 %,

sehingga formulanya sebagai berikut :

- Minyak nimba : 50 %
 - Pelarut : 47 %
 - Emulsifier : 3 %
- 100 %

4. Pengujian Formulasi

a. Pengujian fisiko-kimia

Pengujian fisikokimia formulasi nimba berdasarkan pengujian sifat fisiko kimia formulasi berbentuk EC yaitu meliputi pengujian terhadap kestabilan emulsi, kandungan bahan aktif dan keasaman (pH).

1). Kestabilan emulsi

5 ml formulasi EC dicampur dengan 95 ml standar water D. Daya mengemulsi dinyatakan dengan kecepatan dan keragaman terjadinya emulsi. Kestabilan emulsi dinyatakan oleh banyaknya minyak bebas atau krem ketika didiamkan selama 24 jam. Kemampuan mengemulsi kembali diuji, dilakukan setelah didiamkan selama 24 jam. Standar water D dibuat dengan cara menimbang 2,74g CaCO₃ dan 0,276 g MgO kemudian dimasukkan dalam gelas piala 250 ml,

tambahkan perlahan-lahan HCl 5 % dengan jumlah seminim mungkin sampai larut sempurna. Gelas piala ditutup dengan gelas arloji untuk mencegah hilangnya larutan karena terpercik. Hilangkan kelebihan HCl dengan penguapan larutan pada penangas air. Tambahkan air suling untuk melarutkan residu dan uapkan lagi; ulangi pekerjaan sekali lagi. Terakhir larutkan residu dalam sejumlah air suling, pindahkan ke labu ukur 100 ml, tetapkan dengan air suling. Buat air sadah 342 ppm CaCO₃, dengan mengencerkan 10 ml larutan sediaan diatas sampai volume 1 liter.

2). Kandungan bahan aktif .

Kandungan bahan aktif yaitu azadirachtin diperiksa menggunakan alat HPLC.

3). Keasaman.

Keasaman ditentukan dengan pH meter pada larutan 5 %.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil ekstraksi dari biji nimba kering dengan menggunakan bermacam-macam pelarut dan metoda soxhlet dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Persentase hasil ekstraksi biji nimba kering

Asal Biji	Ulang	Pelarut			
		n-Hexan	Metanol	Petroleum Eter	Etil asetat
Madura	I	20,36	10,0	15,43	-
	II	18,33	12,50	17,68	-
Ngawi	I	10,0	11,73	9,97	7,72
	II	15,0	10,0	7,75	7,0

Dari percobaan tersebut dapat diketahui bahwa hasil tertinggi dari ekstraksi biji kering nimba diperoleh menggunakan pelarut hexan. Kemudian diikuti dengan pelarut petroleum ether, metanol dan etil asetat. Dengan pelarut yang sama ternyata dapat menghasilkan perbedaan yang menyolok dalam ekstraksi biji nimba yang berasal dari Madura dan ngawi. Hal ini mungkin disebabkan oleh faktor geografi lingkungan dari biji tersebut diambil yang mempengaruhi kandungan minyak dari biji tersebut. Menurut Morgan (1980), faktor-faktor seperti geografik lingkungan dan umur biji, dapat mempengaruhi kandungan minyak dan azadirachtin dalam biji. Disamping itu faktor variasi dalam meng-ekstrak dan metoda yang berbeda juga sangat mempengaruhi hasil ekstraksi. Hasil ekstraksi dari biji nimba yang didapat baik yang menggunakan hexan, metanol, petroleum eter dan etil asetat lebih kecil dibandingkan hasil ekstraksi yang dilakukan Ascher (1980) yaitu 26 - 48 % dengan metoda yang sama. Setelah didapatkan minyak nimba kemudian dilakukan identifikasi untuk mengetahui adanya

azadirachtin dengan menggunakan alat HPLC. Identifikasi dengan HPLC dapat menentukan adanya azadirachtin dan kemurniannya tergantung standar yang digunakan. Dalam percobaan ini standar yang digunakan adalah standar Neem Oil dari India yang sudah diketahui mengandung azadirachtin dan salamin akan tetapi kemurniannya tidak diketahui. Sehingga kadar kemurnian azadirachtin minyak nimba yang dihasilkan tidak dapat ditentukan jumlahnya. Identifikasi dari azadirachtin akan lebih sempurna jika dilakukan dengan alat Nuclear Magnetik Resonance (NMR) karena langsung akan dapat terdeteksi berat molekul, rumus molekul, kekentalan, indeks bias dan sifat-sifat fisik lainnya. Formulasi insektisida nimba dibuat dalam bentuk emulsifiable concentrate (EC). Dengan bahan aktif nimba, pelarut petroleum benzen dan emulsifier Tween 20 dan Teepol. Formulasi ini kemudian dibandingkan dengan formulasi yang dibuat dengan minyak nimba yang berasal dari India. Hasil pengujian sifat fisiko-kimia dari formulasi tersebut dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil pengujian sifat fisiko kimia formulasi EC

Tabel 3. Hasil pengujian sifat fisiko kimia formulasi EC

Formulasi	Parameter													Kandungan Bahan Aktif
	Emulsi Awal 0 jam	Busa 3 menit	Kestabilan Emulsi						Emulsi Kembali	Emulsi Akhir			pH	
			0,5 Jam		2 Jam		24 Jam			Minyak Bebas	Krem	Busa		
			Minyak	Krem	Minyak	Krem	Minyak	Krem						
I	Sempurna	3 ml	-	5 ml	-	6 ml	-	6 ml	Sempurna	-	2 ml	6 ml	4,58	Semua formulasi mengandung azadirachtin tetapi kadarnya tidak dapat ditentukan.
II	Sempurna	3 ml	5 ml	-	5 ml	-	5 ml	-	Sempurna	5 ml	-	-	5,56	
III	Sempurna	5 ml	-	5 ml	-	5 ml	-	9 ml	Sempurna	-	3 ml	4 ml	4,55	
IV	Sempurna	5,5 ml	-	5 ml	-	5 ml	1 ml	4 ml	Sempurna	-	1 ml	5 ml	5,50	

Keterangan :

- I = Formulasi yang terdiri dari minyak nimba, petroleum ether dan Tween 20
- II = Formulasi yang terdiri dari minyak nimba, petroleum ether dan Teepol
- III = Formulasi yang terdiri dari minyak nimba yang berasal dari India, petroleum ether dan Tween 20
- IV = Formulasi yang terdiri dari minyak nimba yang berasal dari India, petroleum ether dan Teepol.

Dari hasil pengujian sifat fisiko kimia yang meliputi kestabilan emulsi dan pengukuran nilai pH, secara umum formulasi yang dibuat belum dapat memenuhi syarat untuk formulasi EC yang baik seperti yang dipersyaratkan oleh CIPAC. Menurut CIPAC, batasan maksimum untuk minyak bebas chech dan krem setelah emulsi didiamkan selama 2 jam dalam uji kestabilan emulsi adalah nol untuk minyak bebas dan 4 ml untuk krem. Sedangkan batasan maksimum untuk minyak bebas dan krem pada uji pengemulsian kembali adalah 0,5 ml untuk minyak bebas dan 4 ml untuk krem setelah 30 menit. Hasil pengujian kestabilan emulsi dari formulasi yang dihasilkan menunjukkan emulsi yang sempurna pada pengemulsian awal. Pada 0,5 jam dan 2 jam pertama setelah pengocokan terlihat bahwa formulasi yang menggunakan emulsifier Teepol terdapat minyak bebas sebesar 5 ml sedangkan formulasi yang lain yaitu yang menggunakan Tween 20 maupun formulasi dengan buah nimba dari India tidak terdapat minyak bebas. Sedangkan persyaratan untuk kestabilan emulsi harus tidak boleh terdapat minyak bebas, dengan kata lain formulasi ini (II) sudah tidak memenuhi syarat formulasi EC. Formulasi I, III dan IV, hasilnya lebih baik dari formulasi II, tetapi masih terdapat krem yang melebihi persyaratan yang ditentukan oleh CIPAC. Formulasi I merupakan hasil ekstraksi biji nimba yang dilakukan di BBIK masih kurang baik bila dibandingkan dengan formulasi yang menggunakan minyak dari India (III dan IV). Hal ini mungkin disebabkan oleh komposisi formula yang kurang tepat, pemilihan emulsifier maupun kualitas biji sehingga mempengaruhi kandungan minyak yang dihasilkan. Hal ini pula mungkin yang

menjadi penyebab chech kemasan formulasi yang dihasilkan, karena nimba merupakan hasil alam yang kadar asamnya lebih tinggi pada waktu belum matang, sedangkan percobaan ini menggunakan biji nimba yang masih muda (belum matang) karena belum ada biji yang matang pada waktu pengambilan biji nimba. Kandungan azadirachtin dalam formulasi ini tidak dapat ditentukan kuantitasnya karena kemurnian standar tidak diketahui tetapi kualitasnya dapat ditentukan. Diketahui bahwa produk-produk botani sulit untuk distandarkan karena sifatnya yang khas, kompleksnya senyawa-senyawa kimia yang ada dan sulitnya untuk direproduksi (Larew, 1992).

V. KESIMPULAN

1. Pelarut yang terbaik untuk mengekstrak biji nimba adalah hexan, diikuti oleh petroleum ether, metanol dan etil asetat.
2. Hasil ekstrak dipengaruhi oleh pelarut yang digunakan, alat yang dipakai dan asal biji nimba tersebut diambil.
3. Belum didapatkan formulasi nimba bentuk emulsifiable concentrate yang sempurna.

VI. DAFTAR PUSTAKA

1. Anonim, 1991. Regional workshop on Bio-botanical Pesticides, Bangkok UNID
2. Ascher, KRS. 1980. Some Physical (Solubility) Properties and Biological (Sterilant for *Epilachna varivestis* females) Effects of a Dried Methanolic Neem Seed Kernel Extract. Proc. 1st. International Neem Conf. Rottach. pp. 63 - 74.

3. Krams, W. Cramer R, Bokel M, Sawitzki G, 1980. New Insect Anti Feedant from Azadirachta Indica and Melia azedarach. Proc 1 st International Neem Conference. Rottach. pp. 53 - 62.
4. Lrew, II. 1992. Recent Scientific Advances in Botanical Pest Control. Proc. The Final Workshop on Botanical Pest Control, Philippine.
5. Morgan, ED. 1980. Strategy in the Isolation of Insect Control Substances from Plants. Proc. 1st International Neem Conf. Rottach. pp. 43 - 52.
6. Schmutterer II. 1990. Properties and Potential of Natural Pesticides from the Neem Tree, Azadirachta India, Annu. Rev. Entomology 35 : 271 - 297.

-----oooooooooooo-----