**KARAKTERISASI SENYAWA FLAVONOID EKSTRAK POLAR DAUN GAMAL**

**KULTIVAR LAMPUNG UTARA DAN UJI AKTIVITASNYA TERHADAP**

**KUTU PUTIH KAKAO (*Planococcus minor*, Hemiptera: Pseudococcidae)**

**Nismah Nukmal dan Agata Yelin Pasutri**

Jurusan Biologi, FMIPA Universitas Lampung  
Jl. Prof. Sumantri Brojonegoro No.1 Bandar Lampung  
Email : [nnukmal@yahoo.com](mailto:nnukmal@yahoo.com); [Agata11yelin@gmail.com](mailto:Agata11yelin@gmail.com)

**ABSTRAK**

Kakao merupakan salah satu komoditi ekspor non migas yang memiliki prospek cukup cerah. Dilihat dari segi mutu, kakao di Indonesia hasilnya kurang memuaskan, hal ini disebabkan oleh serangan hama kutu putih (*P. minor*). Tanaman gamal diketahui mengandung senyawa flavonoid yang dapat digunakan sebagai insektisida nabati. Penelitian ini merupakan bagian dari Penelitian Berbasis Kompetensi dengan No SK 01/E/KTP/2018 dan Kontrak No 384/UN26.21/PN/2018, yang bertujuan untuk mengetahui karakter senyawa flavonoid yang terkandung dalam serbuk daun gamal yang efektif dalam mematikan *P. minor*. Ekstraksi dan analisis spektrokopis (UV VIS dan FTIR) dilakukan di Laboratorium Terpadu Sentra Inovasi Teknologi (LTSIT) dan bioassay di Laboratorium Zoologi Unila. Hasil yang diperoleh diketahui ekstrak kasar air serbuk daun gamal KLU lebih efektif dalam mematikan hama *P. minor* dibandingkan dengan ekstrak murni air, karena memiliki nilai LC50,72 jam lebih kecil dibandingkan ekstrak murni (0,11% : 0,27%). Senyawa flavonoid yang terkandung dalam serbuk daun gamal KLU memiliki ciri-ciri fluoresensi warna biru pada sinar UV dan memiliki panjang gelombang dengan puncak 310 nm termasuk kedalam golongan flavonon dengan gugus fungsi O-H, C=O karbonil, C=C aromatik, dan C-O.

Kata kunci: Kakao, *Planococcus minor*, flavonoid, daun gamal.

**1. PENDAHULUAN**

Tanaman kakao berasal dari hutan-hutan tropis di Amerika Tengah dan di bagian utara Amerika Selatan (Wahyudi dkk, 2008). Di Indonesia, penanaman kakao pertama kali dikembangkan pada skala perkebunan pada tahun 1780 di Minahasa. Kemudian Ambon serta Seram turut mengembangkan perkebunan kakao ini pada tahun 1858 (Rahardjo, 2011).

Ditinjau dari penambahan luas areal, perkebunan kakao rakyat dan swasta terlihat memiliki perkembangan yang sangat memuaskan. Kakao menjadi salah satu komoditi ekspor nonmigas yang memiliki prospek cukup cerah (Susanto, 1994). Namun, apabila dilihat dari pihak lain seperti dari segi mutu hasil, kakao dari perkebunan rakyat hasilnya kurang memuaskan (Rahardjo, 2011). Organisme Pengganggu Tanaman (OPT) telah menyebabkan banyak kerusakan pada tanaman kakao. Salah satu hama yang berada pada buah kakao yaitu kutu putih (*Planococcus minor*) (Badan Penelitian dan Perkembangan Perkebunan, 2015).

Kutu putih akan menetap dan menghisap cairan pada buah. Akibatnya, buah yang telah terhisap oleh kutu akan terhambat pertumbuhannya. Buah kakao akan berkerut, mengeras, serta akan memiliki bentuk yang tidak beraturan apabila sudah terhisap oleh kutu putih (Badan Penelitian dan Perkembangan Perkebunan, 2015). Selain menyebabkan terhambatnya pertumbuhan buah, kutu putih juga dapat menjadi vektor virus yang dapat merusak tanaman kakao (Brybroo & Solutions, 2012).

Upaya pengendalian hama dan penyakit tanaman harus dikendalikan secara terpadu. Penggunaan insektisida sintetik akan membawa dampak yang buruk, lebih merugikan dibanding manfaat yang dihasilkan (Siswanto & Karmawati, 2012). Saat ini alternatif paling aman digunakan untuk pengganti insektisida sintetik yaitu dengan menggunakan insektisida nabati.

Tanaman gamal merupakan salah satu tanaman yang dinilai dapat digunakan sebagai bahan insektisida nabati. Daun gamal diketahui mengandung senyawa aktif seperti flavonoid yang efektif untuk mengendalikan ulat dan hama penghisap buah (Sudarmo, 2005).

Flavonoid adalah suatu kelompok senyawa fenol yang terdapat dalam hampir semua tumbuhan. Flavonoid memiliki aktivitas antioksidan, antibakteri, antivirus, antiradang, antialergi dan antikanker. Flavonoid memiliki kerangka dasar karbon yang terdiri dari 15 atom karbon, dimana dua cincin benzene (C6) terikat pada suatu rantai propan (C3) sehingga membentuk suatu susunan C6-C3-C6 (Gafur dkk, 2013).

Analisis kualitatif flavonoid dapat dilakukan dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Spektrum serapan ultra violet dan serapan tampak merupakan cara tunggal yang paling bermanfaat untuk mengidentifikasi struktur flavonoid. Metode tersebut juga dapat digunakan untuk melakukan uji secara kuantitatif untuk menentukan jumlah flavonoid yang terdapat dalam ekstrak dengan mengukur nilai absorbansinya (Neldawati dkk, 2013).

**2. METODE PENELITIAN**

**Isolasi dan Pemurnian Senyawa Golongan Flavonoid**

**2.1. Maserasi Bertingkat Ekstrak Metanol dan Air Daun Gamal Kultivar Lampung Utara**

Sebanyak 1.000 gram serbuk daun gamal dimaserasi menggunakan pelarut heksana dan diklorometana masing-masing sebanyak 5.000 mL.

Selanjutnya untuk mendapatkan ekstrak polar (metanol & air) ampas dimaserasi menggunakan pelarut metanol sebanyak 5.500 mL. Setelah maserasi menggunakan metanol dilanjutkan dengan maserasi menggunakan air sebanyak 10.000 mL.

Maserasi dengan keempat pelarut dilakukan selama 1x24 jam dengan 4 kali ulangan hingga tidak ada lagi senyawa-senyawa organik yang dapat ditarik.

**2.2. Evaporasi**

Filtrat metanol dan filtrat air selanjutnya dievaporasi hingga tidak ada lagi kandungan pelarutnya. Hasil evaporasi filtrat metanol dan air kemudian dipekatkan dengan metode rekristalisasi menggunakan *freeze dryer* hingga membentuk ekstrak kasar dalam bentuk pasta.

**2.3. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)**

Ekstrak kasar dan air di KLT menggunakan plat KLT silika fluoresensi (5x2cm), dengan larutan identifikasi CeSO4 10% dan AlCl315% dengan perbandingan 1:1. Eluen yang digunakan yaitu isopropanol : heksana dengan perbandingan 2:8 dan heksana : etanol dengan perbandingan 1:1.

**2.4. Fraksinasi Menggunakan *Medium Pressure Liquid Chromatography* (MPLC)**

Sebelum ekstrak metanol dimurnikan, terlebih dahulu dipartisi menggunakan etil asetat dan air. Partisi dilakukan dengan mengencerkan ekstrak metanol dengan pelarut, kemudian dimasukkan dalam corong pisah. Masukkan dua jenis pelarut yang tidak bercampur (etil asetat & air) dengan perbandingan 1:1. Kemudian larutan dikocok dan didiamkan hingga terpisah. Apabila larutan sudah terpisah, pisahkan bagian etil dan air. Ekstrak yang larut dalam etil dapat langsung di murnikan.

Selanjutnya untuk pemurnian ekstrak metanol dan air menggunakan Medium Pressure Liquid Chromatography (MPLC), fraksi-fraksi yang didapat dikelompokkan berdasarkan puncak kromatogram tertinggi kemudian fraksi dievaporasi. Hasil evaporasi dianalisis KLT kembali hingga didapatkan fraksi aktif kaya flavonoid yang dapat digunakan untuk Bioassay. MPLC ekstrak kasar metanol menggunakan pelarut etanol dan heksana sedangkan untuk ekstrak kasar air menggunakan pelarut aquapure.

**2.5. Fraksinasi Menggunakan Kromatografi Kolom C-18**

Fraksi yang didapat dari pemurnian menggunakan MPLC dimurnikan kembali menggunakan kromatografi kolom C-18. Kolom C-18 dilarutkan menggunakan air terlebih dahulu, kemudian dimasukkan kedalam wadah untuk pemisahan. Fraksi yang mempunyai titik puncak tertinggi pada MPLC ditimbang sebanyak 0,2 gram dan dilarutkan kedalam aquapure sebanyak 1 mL. Kemudian sampel dimasukkan kedalam kolom, tunggu hingga sampel memenuhi kolom. Setelah itu masukkan pelarut sedikit demi sedikit kedalam kolom. Tampung hasil pemurnian menggunakan botol kecil. Pelarut yang digunakan yaitu aquapure dan metanol 10%. Hasil yang didapatkan dari pemisahan kemudian di KLT dan dilihat senyawa yang mempunyai nilai *Rf* yang sama.

**2.6. Spektrofotometri UV-Vis**

Analisis dilakukan dengan tahapan pembuatan larutan standar dan persiapan analisis ekstrak.

**2.6.1. Pembuatan Larutan Standar**

Larutan standar yang digunakan untuk penentuan kadar flavonoid yaitu larutan standar kuersetin. Larutan standar dibuat dengan konsentrasi 2 ; 5 ; 8 ; 10 ; 12 dan 15 mg/L. Selain larutan standar, juga terdapat blanko (konsentrasi 0 mg/L). Blanko dibuat dengan mereaksikan larutan tanpa ditambah kuersetin. Sebanyak 0,5 mL dari masing masing konsentrasi larutan direaksikan dengan 0,3 mL NaNO2 5% kemudian didiamkan selama 5 menit. Menambahkan sebanyak 0,3 mL AlCl3 10% kedalam larutan, kemudian didiamkan kembali selama 5 menit. Larutan direaksikan dengan 2 mL NaOH 1 M, kemudian diencerkan dengan akuabides hingga volume total 10 mL dan didiamkan 15 menit. Larutan standar diukur absorbansinya pada panjang gelombang 314 nm dengan spektrofotometer UV-Vis. Kurva standar diperoleh dari hubungan antara konsentrasi kuersetin (mg/L) dengan absorbansinya.

Sedangkan larutan standar yang digunakan untuk penentuan kadar fenolik yaitu asam galat. Larutan standar dibuat dengan konsentrasi yang sama dengan standar flavonoid (0 ; 2 ; 5 ; 8 ; 10 ; 12 dan 15 mg/L). Sebelum mereaksikan larutan standar, dibuat terlebih dahulu larutan stok folin dengan mengambil 2,5 mL folin dilarutkan dalam labu ukur 25 mL dengan pelarut akuabides hingga batas miniskus. Sebanyak 5 mL dari masing masing konsentrasi larutan standar direaksikan dengan menambahkan 1 mL folin kemudian didiamkan selama 5 menit. Menambahkan sebanyak 4 mL Na2CO3 7,5% kedalam larutan, kemudian didiamkan kembali selama 90 menit. Larutan standar diukur absorbansinya pada panjang gelombang 747 nm dengan spektrofotometer UV-Vis.

**2.6.2. Persiapan Analisis Ekstrak**

Ekstrak metanol dan air daun gamal kultivar Lampung Utara ditimbang masing-masing sebanyak 5 mg. Sampel kemudian dilarutkan dengan akuabides kedalam labu ukur 5 mL. Sampel diambil 0,4 mL dari larutan stok lalu dimasukkan kedalam labu ukur dan ditambah dengan akuabides sebanyak 3,6 mL, setelah itu direaksikan dengan cara yang sama dengan pembuatan larutan standar untuk masing-masing pengujian. Sampel dibuat dengan tiga ulangan.

Selain digunakan untuk penentuan kadar flavonoid dan fenolik, spektrofotometri UV-Vis juga digunakan untuk menganalisis panjang gelombang maksimum pada ekstrak. Persiapan sampel untuk analisis panjang gelombang yaitu sampel ditimbang sebanyak 0,4 gram kemudian diencerkan hingga 500x. Kemudian sampel dianalisis dan ditentukan panjang gelombang maksimum dengan melihat nilai absorbansi pada ekstrak.

**2.7. Spektrofotometri FTIR**

Sebanyak 0,1 gram sampel dipekatkan dan diteteskan pada alat kemudian diukur puncak-puncak serapannya untuk mendeteksi gugus-gugus fungsional yang terdapat dalam struktur senyawa isolat.

**Bioassay Fraksi Aktif terhadap Hama *Planococcus minor***

Setiap senyawa yang ditemukan pada tahapan fraksinasi kemudian dilakukan bioassay terhadap hama kutu putih. Bioassay dilakukan dengan menggunakan ekstrak kasar dan ekstrak murni.

Serangga uji yang digunakan yaitu *P. minor* betina dewasa dan menggunakan media uji buah kakao muda.Uji residu dilakukan dengan merendam media uji dengan 5 taraf tingkatan konsentrasi (0%; 0,04%; 0,08%; 0,12% dan 0,16%) (Andriyani, 2016) selama 10 menit, 10 ekor serangga uji (*P. minor*) betina dewasa yang sudah diaklimasi selama 1 hari sebelum perlakuan diletakkan pada media uji dan dipelihara pada wadah uji.

Pengamatan mortalitas serangga uji dilakukan pada 24, 48 dan 72 jam setelah perlakuan. Percobaan ini dilakukan masing-masing 3 kali ulangan.

Bioassay ekstrak murni menggunakan cara kerja yang sama seperti pada bioassay ektrak kasar hanya saja pada bioassay ekstrak murni menggunakan konsentrasi dari nilai LC50 hasil bioassay ekstrak kasar sebagai nilai tengah dengan range dua tingkat keatas dan dua tingkat kebawah.

**Analisis Data**

Data yang diperoleh selanjutnya dianalisis menggunakan analisis probit untuk menentukan nilai LC50 dan uji lanjut dengan Tukey’s digunakan untuk menentukan larutan yang efektif sebagai insektisida nabati.

**3. HASIL DAN PEMBAHASAN**

**Isolasi dan Pemurnian Senyawa Golongan Flavonoid**

**1. Ekstrak Metanol**

Hasil maserasi bertingkat 1.000 gram serbuk daun gamal kultivar Lampung Utara (KLU) berupa filtrat metanol sebanyak 4.500 mL. Filtrat metanol dievaporasi dan didapat sebanyak 14,7 gram ekstrak pekat dalam bentuk pasta yang berwarna hijau pekat.

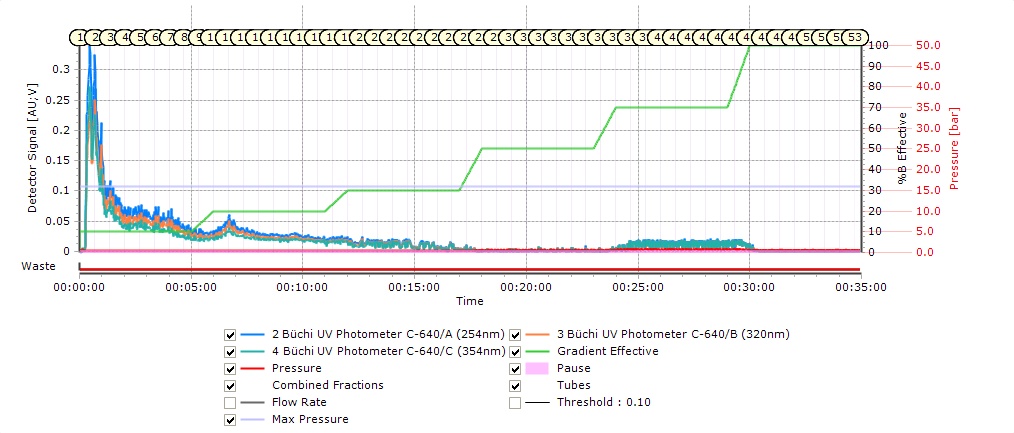
Hasil analisis KLT ekstrak kasar metanol serbuk daun gamal KLU dengan larutan identifikasi AlCl3 dan eluen isopropanol : heksana dengan perbandingan 2:8 menunjukkan noda warna hijau kehitaman pada cahaya lampu UV dengan panjang gelombang 254 nm. Sedangkan pada panjang gelombang 366 nm noda pada plat KLT berwarna jingga (Gambar 8). Noda warna jingga menunjukkan bahwa ekstrak kasar metanol mengandung senyawa flavonoid (Afriyorawan, 2013). Nilai *Retention Factor (Rf)* ekstrak kasar metanol yaitu 1.

(a) (b)

Gambar 8. Kromatogram KLT ekstrak kasar metanol serbuk daun gamal KLU pada panjang gelombang (a) 254 nm (b) 366 nm

Hasil partisi sebanyak 9 gram ekstrak kasar metanol serbuk daun gamal KLU dengan pelarut etil asetat dan air menghasilkan 6 gram fraksi etil asetat. Hasil pemurnian fraksi etil asetat menggunakan MPLC dikelompokkan berdasarkan puncak tertinggi dari kromatogram yang dapat dilihat pada Gambar 9.



F1

F5

F4

F3

F2

Gambar 9. Kromatogram MPLC ekstrak kasar metanol serbuk daun gamal KLU

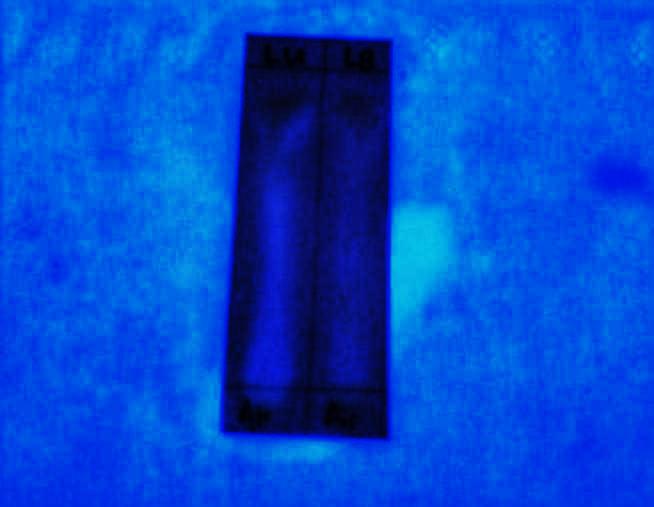
Hasil pengelompokan fraksi berdasarkan puncak pada kromatogram diperoleh 5 fraksi. Dari 5 fraksi hasil MPLC hanya terdapat 1 fraksi yang menunjukkan kromatogram dengan puncak tertinggi yaitu fraksi 1 (F1).

Pemurnian ekstrak kasar metanol serbuk daun gamal KLU tidak dilanjutkan karena ekstrak yang didapat dari hasil MPLC tidak cukup untuk dilakukan pemurnian lanjutan. Hasil pemurnian ekstrak yang didapat dari MPLC yaitu sebanyak 2,4 gram.

**2. Ekstrak Air**

Hasil maserasi bertingkat 1.000 gram serbuk daun gamal KLU berupa filtrat air sebanyak 7.500 mL. Filtrat air dievaporasi dan di *freeze dryer* menghasilkan 98,2 gram ekstrak kasar air dalam bentuk pasta yang berwarna coklat.

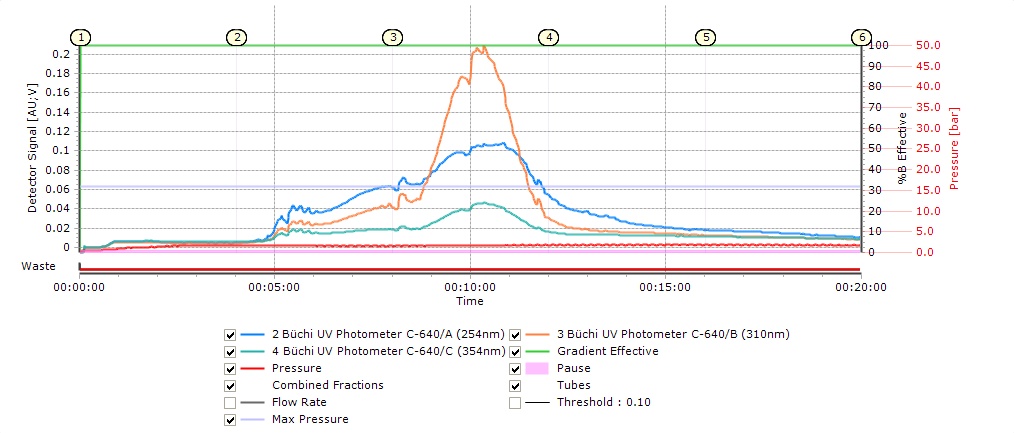
Hasil analisis KLT ekstrak kasar air serbuk daun gamal KLU dengan larutan identifikasi AlCl3 dan eluen etanol : heksana dengan perbandingan 1:1 menunjukkan noda warna biru pada cahaya lampu UV dengan panjang gelombang 254 dan 366 nm (Gambar 10). Noda warna biru menunjukkan bahwa ekstrak kasar air mengandung senyawa flavonoid. Nilai *Rf* ekstrak kasar air yaitu 0,95.

(a) (b)

Gambar 10. Kromatogram KLT ekstrak kasar air serbuk daun gamal KLU pada panjang gelombang (a) 254 nm (b) 366 nm

Hasil dari 7 gram ektrak kasar air serbuk daun gamal KLU yang difraksinasi menggunakan MPLC didapatkan 3 fraksi. Diantara ketiga fraksi, fraksi 2 (F2) memiliki titik puncak kromatogram paling tinggi. Hasil kromatogram MPLC dapat dilihat pada Gambar 11.



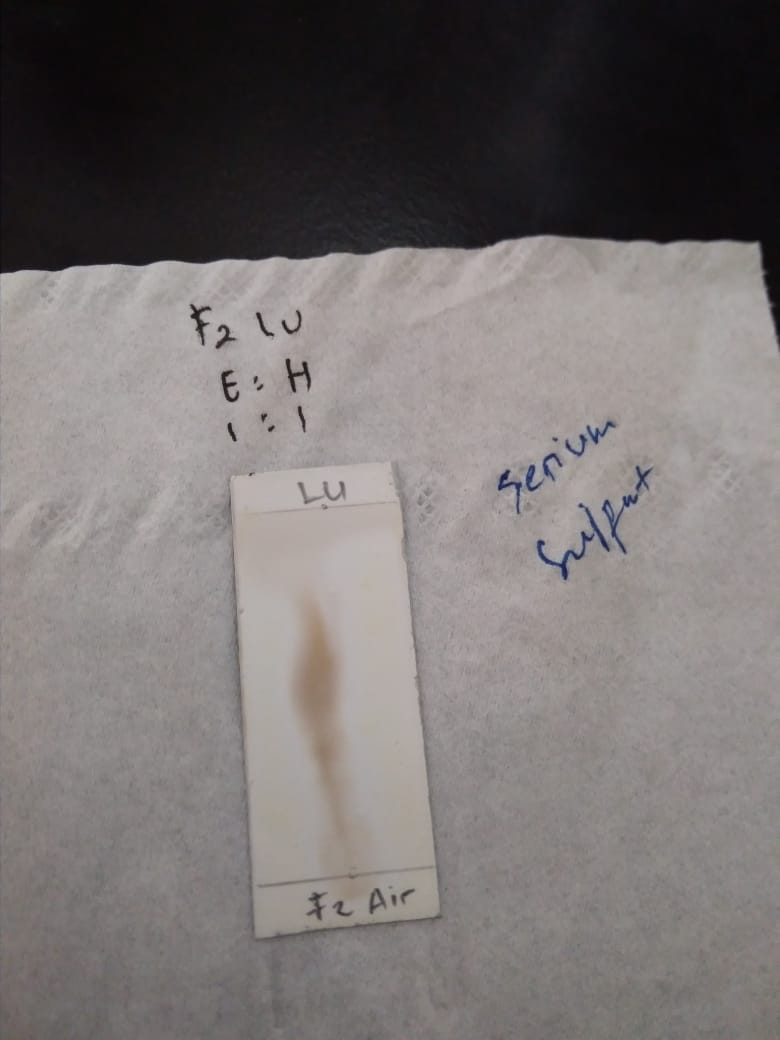
F3

F1

F2

Gambar 11. Kromatogram MPLC ekstrak kasar air serbuk daun gamal KLU

Hasil analisis KLT F2 ekstrak air serbuk daun gamal KLU menggunakan larutan identifikasi AlCl3 dan CeSO4 menunjukkan nilai *Rf*  sebesar 0,7 (Gambar 12). Beberapa eluen dengan berbagai variasi komposisi telah dicoba. Eluen yang menghasilkan pemisahan terbaik yaitu campuran etanol dan heksana dengan perbandingan 1:1.

(a) (b) (c)

Gambar 12. Kromatogram KLT dari fraksi 2 hasil MPLC ekstrak air serbuk daun gamal KLU (a) λ 254 nm AlCl3 (b) λ 366 nm AlCl3 (c) CeSO4

Hasil pemurnian lanjutan sebanyak 0,2 gram F2 ekstrak air serbuk daun gamal KLU menggunakan kolom C-18 didapatkan sebanyak 21 fraksi (Gambar 13).





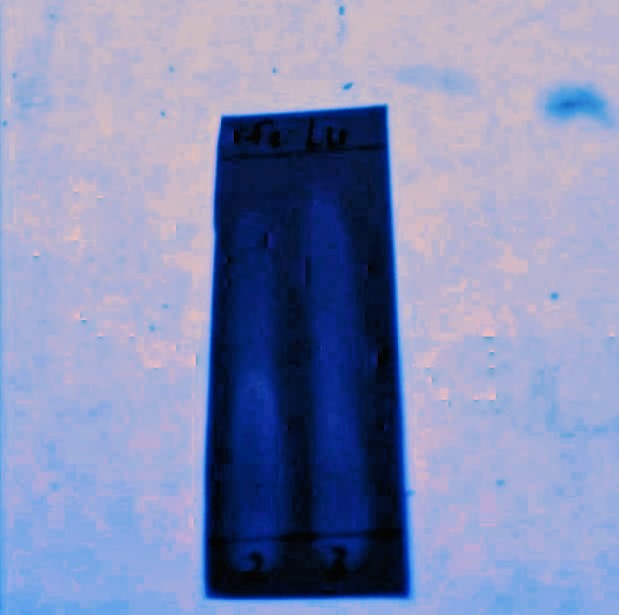
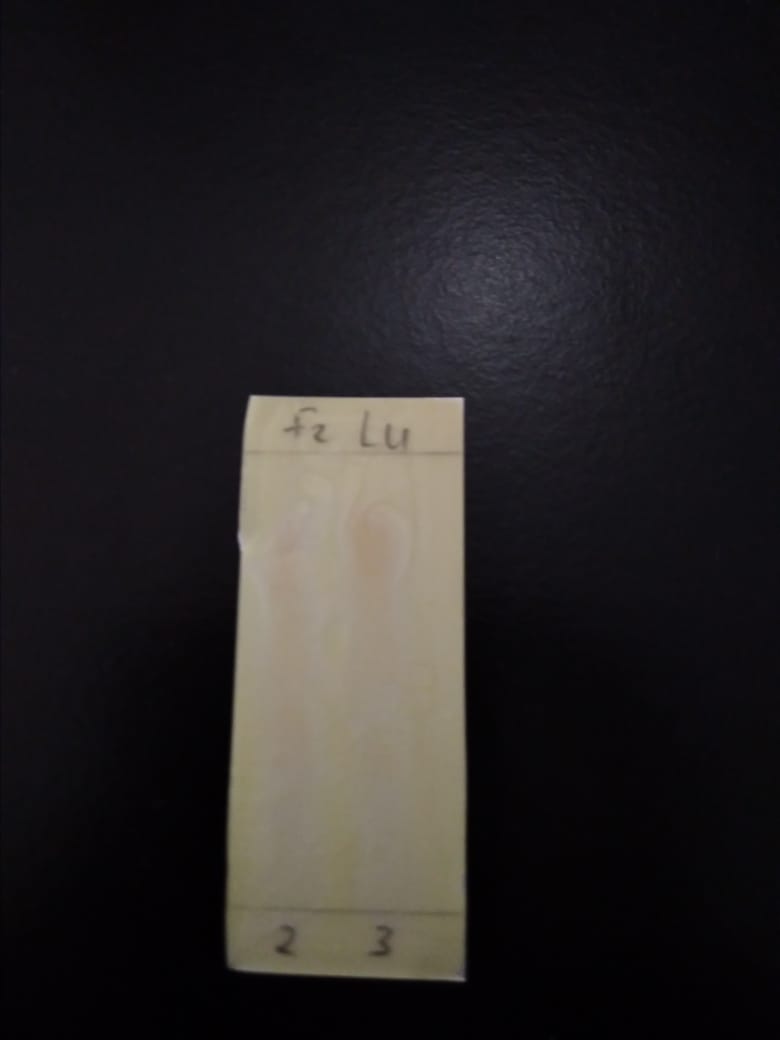
Gambar 13. Fraksi yang diperoleh dari kromatografi kolom C-18

Hasil analisis KLT untuk menentukan senyawa dengan karakter yang sama ditunjukkan oleh F2 nomor 2 dan 3 (Gambar 14).



Gambar 14. Fraksi 2 dan 3 hasil kromatografi kolom

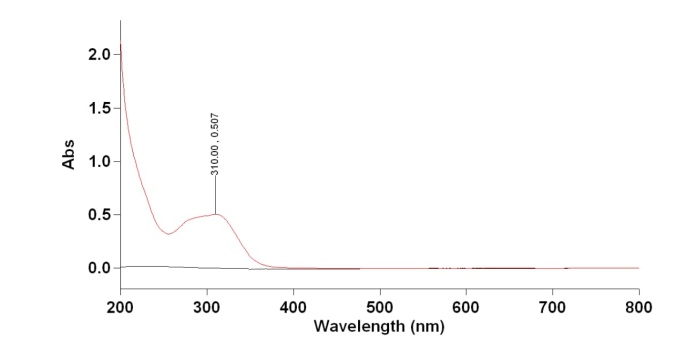
Hasil analisis KLT F2 (2-3) mempunyai warna yang sama saat diamati menggunakan lampu UV dan pelarut visualisasi AlCl3 dan CeSO4. Nilai *Rf* dari keduanya juga menunjukkan nilai yang sama yaitu 0,95 (Gambar 15). Nilai *Rf* yang sama mengidentifikasikan bahwa senyawa tersebut memiliki karakteristik yang sama. Sedangkan apabila nilai *Rf* berbeda, maka senyawa tersebut merupakan senyawa yang berbeda (Apriliyani, 2016).

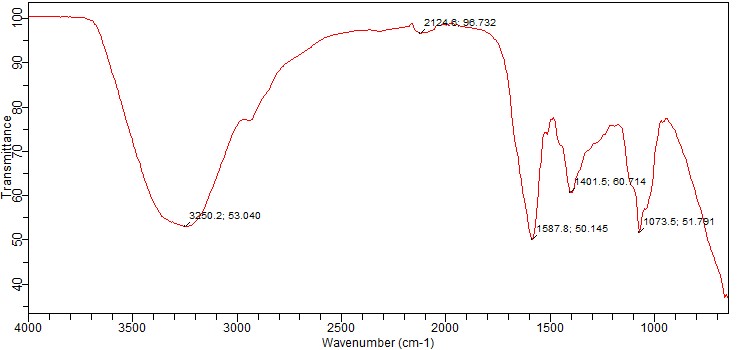
Gambar 15. Kromatogram KLT fraksi 2 dan 3 kromatografi kolom (a) λ 254 nm AlCl3(b) λ 366 nm AlCl3 (c) CeSO4

Adanya fluoresensi pada plat KLT menunjukkan karakter dari senyawa flavonoid. Geissman (1962) mengungkapkan bahwa senyawa flavonoid dengan fluoresensi warna biru pucat pada panjang gelombang 366 nm termasuk golongan flavonon. Mabry dkk (1970) juga menambahkan, senyawa flavonoid golongan flavonon memiliki fluoresesnsi warna biru pada sinar UV.

Hasil analisis spektrofotometri UV-Vis ekstrak F2 yang sudah dievaporasi dan relatif murni pada rentang panjang gelombang 200-800 nm menunjukkan puncak dengan panjang gelombang maksimum 310 nm (Gambar 16).

  
Gambar 16. Spektrum UV senyawa hasil isolasi

Dari hasil KLT dan analisis serapan panjang gelombang ekstrak air serbuk daun gamal diduga termasuk senyawa flavonoid golongan flavonon. Neldawati dkk (2013) mengungkapkan bahwa panjang gelombang dengan puncak 300-330 nm merupakan senyawa flavonoid golongan flavonon. Hasil karakterisasi menggunakan spektrum inframerah dapat dilihat pada Gambar 17.



Gambar 17. Spektrum inframerah hasil isolasi

Berdasarkan analisis spektrum inframerah menunjukkan adanya beberapa gugus fungsi. Hasil analisis isolat ini yaitu adanya serapan melebar pada daerah bilangan gelombang 3250,2 cm-1 merupakan serapan uluran dari gugus O-H (Akbar, 2010). Gugus C=O pada daerah bilangan gelombang 1587,8 cm-1 menunjukkan bahwa senyawa yang memiliki gugus karbonil (C=O) merupakan senyawa flavonoid (Sukadana, 2010). Serapan uluran C=C aromatik muncul pada daerah bilangan gelombang 1401,5 cm-1. Kemudian serapan pada daerah bilangan gelombang 1073,5 cm-1 merupakan serapan uluran dari gugus C-O. Sesuai dengan penelitian Akbar (2010) adanya gugus fungsi O-H, C=O, C=C aromatik, dan C-O menunjukkan bahwa isolat tersebut termasuk golongan flavonoid.

**Kuantifikasi Senyawa Flavonoid dan Fenolik Ekstrak Polar Daun Gamal KLU**

Hasil analisis terhadap larutan kuersetin (standar) didapatkan kurva baku dengan persamaan regresi linear y = 0,071x + 0,002 dengan harga koefisien korelasi (R2) 0,995 (Gambar 18). Anggraini (2008) mengungkapkan bahwa nilai R2 yang mendekati satu menunjukkan persamaan regresi tersebut adalah linear. Persamaan regresi linear menyatakan hubungan antara konsentrasi kuersetin dan absorbansi pada pengukuran menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Sejati, 2012).

Gambar 18. Kurva kalibrasi larutan standar kuersetin untuk penentuan kadar flavonoid.

Hasil perhitungan yang diperoleh dari nilai absorbansi sampel ke dalam persamaan kurva baku asam galat dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kadar flavonoid ekstrak metanol dan air serbuk daun gamal KLU

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Ekstrak | Absorbansi | Kadar flavonoid (mg/L kuersetin) | Kadar rata-rata flavonoid (mg/L kuersetin ± sd) |
| Metanol | 0,2803  0,2258  0,3189 | 3,9  3,1  4,4 | 3,80 ± 0,6557 |
| Air | 0,4369  0,4379  0,4282 | 6,1  6,1  6,0 | 6,07 ± 0,0577 |

Kadar flavonoid dari berbagai tanaman dapat dihitung berdasarkan nilai absorbansi yang terbaca pada spektrofotometer UV-Vis (Neldawati dkk, 2013). Hasil perhitungan yang telah didapatkan yaitu kadar flavonoid dari ekstrak metanol dan air serbuk daun gamal KLU memiliki jumlah yang berbeda. Kadar flavonoid paling tinggi terdapat pada ekstrak air. Perbedaan kadar flavonoid ekstrak dapat disebabkan karena interaksi yang terjadi antara pelarut dan senyawa flavonoid. Flavonoid yang masih terikat dengan molekul gula yang bersifat polar akan cenderung lebih larut dengan pelarut air karena glikosida yang terikat tersebut memiliki kelarutan yang baik dalam air (Yulistian dkk, 2015).

Penentuan kadar flavonoid dari ekstrak daun gamal menggunakan metode Folin Ciocalteu. Penentuan kurva baku asam galat dilakukan dengan membuat 5 larutan standar yang dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 747 nm. Hasil analisis terhadap larutan asam galat didapatkan kurva baku dengan persamaan regresi linear y = 0,040x + 0,002 dengan R2 0,999 (Gambar 19).

Gambar 19. Kurva kalibrasi larutan standar asam galat untuk penentuan kadar fenolik

Hasil perhitungan yang diperoleh dari nilai absorbansi sampel ke dalam persamaan kurva baku asam galat dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Kadar fenolik ekstrak metanol dan air serbuk daun gamal KLU

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Ekstrak | Absorbansi | Kadar fenolik (mg/L asam galat) | Kadar rata-rata fenolik (mg/L asam galat ± sd) |
| Metanol | 0,1372  0,1369  0,1388 | 3,3  3,3  3,3 | 3,30 ± 0,0000 |
| Air | 0,1157  0,1186  0,1122 | 2,8  2,8  2,7 | 2,76 ± 0,0577 |

Hasil perhitungan kadar fenolik ekstrak serbuk daun gamal yaitu ekstrak metanol memiliki kadar fenolik lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak air. Kadar fenolik ekstrak akan berbeda sesuai dengan pelarut yang digunakan. Banyaknya senyawa fenol yang larut dipengaruhi oleh kepolaran pelarut. Senyawa yang bersifat polar akan cenderung larut pada pelarut polar, begitu pula dengan senyawa non polar maka akan larut dengan pelarut non polar (Suryani dkk, 2016).

**Bioassay Fraksi Aktif terhadap Hama *Planococcus minor***

**1. Bioassay Ekstrak Kasar Metanol dan Air**

Hasil perhitungan LC50 dengan menggunakan analisis probit dari ekstrak kasar metanol serbuk daun gamal KLU diperoleh nilai sebesar 0,05% dan ekstrak kasar air serbuk daun gamal KLU sebesar 0,11%. Nilai LC50 ekstrak kasar metanol serbuk daun gamal KLU lebih kecil dibandingkan dengan nilai LC50 ekstrak kasar air. Hal ini diduga karena senyawa aktif yang larut dalam pelarut metanol bersifat lebih toksik terhadap hama kutu putih pada tanaman kakao dibandingkan dengan senyawa aktif yang larut pada pelarut air. Rivai dkk (2013) mengungkapkan bahwa daya toksisitas suatu pelarut dipengaruhi oleh senyawa-senyawa yang larut dalam campuran tersebut.

Perbedaan nilai LC50 yang didapatkan dari hasil perlakuan disebabkan oleh beberapa faktor salah satunya yaitu faktor perbedaan pelarut. Syahputra & Endarto (2012) mengungkapkan bahwa perbedaan jenis pelarut dan kandungan bahan aktif didalam ekstrak dapat mempengaruhi tingkat toksisitas pada suatu senyawa.

Nilai LC50 ekstrak kasar air digunakan sebagai nilai tengah untuk pengujian bioassay ekstrak air yang telah dimurnikan. Sedangkan untuk ekstrak metanol tidak dilakukan bioassay lanjutan dikarenakan ekstrak kasar tidak cukup untuk dimurnikan.

**2. Bioassay Ekstrak Murni Air**

Persentase kematian hama kutu putih pada buah kakao dengan perlakuan ekstrak kasar dan murni air daun gamal dapat dilihat pada Gambar 20 dan 21.

Gambar 20. Persentase kematian hama kutu putih (*P. minor*) pada buah kakao dengan perlakuan ekstrak kasar air serbuk daun gamal KLU pada konsentrasi dan waktu yang berbeda

Gambar 21. Persentase kematian hama kutu putih (*P. minor*) pada buah kakao dengan perlakuan ekstrak murni air serbuk daun gamal KLU pada konsentrasi dan waktu yang berbeda

Hasil bioassay ekstrak kasar dan ekstrak murni air serbuk daun gamal KLU memberikan efek kematian terhadap kutu putih kakao. Kematian kutu putih kakao dengan persentase tertinggi menggunakan perlakuan ekstrak kasar air pada konsentrasi 0,08% dengan kematian mencapai 70% pada 72 jam setelah perlakuan. Sedangkan pada perlakuan menggunakan ekstrak murni air persentase kematian tertinggi pada konsentrasi 0,165% dengan kematian mencapai 46,6%.

Hasil uji Tukey’s pada taraf α 5% rata-rata kematian hama kutu putih yang diperlakukan dengan ekstrak kasar dan ekstrak murni air serbuk daun gamal pada konsentrasi ekstrak yang berbeda dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Rata-rata kematian kutu putih (ekor ± sd) setelah diperlakukan dengan ekstrak kasar dan ekstrak murni air serbuk daun gamal KLU 72 jam setelah perlakuan

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Ekstrak kasar air** | | **Ekstrak murni air** | |
| **Konsentrasi** | **Rata-rata** ± **SD** | **Konsentrasi** | **Rata-rata** ± **SD** |
| 0,000 | 1,00 ± 1,00 a | 0,000 | 0,33 ± 0,57 a |
| 0,040 | 4,00 ± 1,73 b | 0,055 | 0,23 ± 2,51 ab |
| 0,080 | 7,00 ± 2,64 c | 0,110 | 2,66 ± 1,15 ab |
| 0,120 | 6,00 ± 1,00 bc | 0,165 | 4,66 ± 2,51 b |
| 0,160 | 4,40 ± 2,52 b | 0,220 | 2,66 ± 1,15 ab |

Keterangan : Nilai rata-rata yang diikuti huruf kecil yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada taraf α = 5% dengan uji Tukey’s

Rata-rata kematian hama kutu putih yang diperlakukan dengan ekstrak kasar air serbuk daun gamal KLU konsentrasi 0% (kontrol) berbeda nyata dengan konsentrasi perlakuan. Tetapi pada konsentrasi 0,120% tidak berbeda nyata dengan konsentrasi 0,040%; 0,080%; dan 0,160%. Sedangkan pada perlakuan ektrak murni air, kontrol hanya berbeda nyata dengan konsentrasi 0,165%. Tetapi konsentrasi 0,165% tidak berbeda nyata dengan konsentrasi 0,055%; 0,110%; dan 0,220%. Adanya perbedaan yang tidak nyata pada perlakuan ekstrak kasar dan ekstrak murni air diduga karena perbedaan rentang konsentrasi yang sangat kecil sehingga jumlah senyawa bioaktif yang terkandung tidak terlalu berbeda dan menyebabkan kematian kutu putih tidak berbeda nyata secara statistik.

Pada konsentrasi rendah hasil kematian rata-rata hama tidak berbeda nyata dengan hasil rata-rata kematian dengan konsentrasi yang tinggi hal ini disebabkan karena hama cenderung menghindari buah dengan perlakuan insektisida konsentrasi tinggi. Sedangkan pada buah dengan perlakuan konsentrasi rendah, serangga tetap menghisap cairan pada buah sehingga racun yang diterima pada perlakuan konsentrasi tinggi maupun rendah tetap sama dan menimbulkan rata-rata kematian yang tidak berbeda nyata. Wirasuta & Niruri (2006) juga mengungkapkan, racun dengan konsentrasi yang rendah tetapi terdapat kontak yang lebih lama akan menimbulkan efek racun yang sama dengan zat yang terpapar pada konsentrasi tinggi dengan waktu kontak yang singkat.

Hasil uji Tukey’s pada taraf α 5% rata-rata kematian hama kutu putih yang diperlakukan dengan ekstrak kasar dan ekstrak murni air serbuk daun gamal pada waktu pengamatan yang berbeda dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Rata-rata kematian kutu putih setelah diberi perlakuan dengan ekstrak kasar dan ekstrak murni air serbuk daun gamal KLU pada waktu pengamatan berbeda

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Waktu setelah perlakuan (Jam)** | **Rata-rata kematian kutu putih (ekor ± sd)** | |
| **Ekstrak kasar air** | **Ekstrak murni air** |
| 24 | 0,80 ± 0,77 a | 1,73 ± 0,71 a |
| 48 | 3,60 ± 0,77 b | 2,06 ± 0,71 a |
| 72 | 4,40 ± 0,77 b | 2,53 ± 0,71 a |

Keterangan : Nilai rata-rata yang diikuti huruf kecil yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada taraf α = 5% dengan uji Tukey’s

Rata-rata kematian hama kutu putih yang diperlakukan dengan ekstrak kasar air serbuk daun gamal KLU pada 24 jam setelah perlakuan berbeda nyata dengan 48 dan 72 jam setelah perlakuan. Lamanya waktu perlakuan diduga berpengaruh terhadap toksisitas. Andriyani (2016) mengungkapkan bahwa waktu yang semakin lama akan meningkatkan rata-rata kematian hama kutu putih.

Secara statistik pada perlakuan ekstrak murni air serbuk daun gamal KLU dengan konsentrasi yang berbeda dengan ekstrak kasar air tidak menunjukkan perbedaan nyata setiap jam setelah perlakuan. Tetapi rata-rata kematian kutu putih kakao semakin meningkat sejalan dengan lama waktu perlakuan. Hal ini didukung oleh pernyataan Raini (2007) bahwa lamanya waktu perlakuan akan menyebabkan keracunan kronik oleh zat toksik yang telah terakumulasi dan dapat menyebabkan kematian pada serangga.

Keefektifan dari ekstrak kasar dan murni air serbuk daun gamal KLU juga dapat dilihat dari hasil analisis probit kedua ekstrak pada 24-72 jam setelah perlakuan dan pada konsentrasi berbeda (Tabel 5).

Tabel 5. Nilai LC50 hasil analisis probit ekstrak kasar dan murni air serbuk daun gamal KLU pada 24-72 jam setelah perlakuan

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Waktu (Jam)** | **Nilai LC50 (%)** | | **Selisih (%)** |
| **Ekstrak Kasar Air** | **Ekstrak Murni Air** |
| 24 | - | - | - |
| 48 | 0,16 | 0,39 | 0,23 |
| 72 | 0,11 | 0,27 | 0,16 |

Pada 24 jam setelah perlakuan nilai LC50 tidak bisa ditentukan. Hal ini karena kematian serangga uji belum mencapai 50%. Nilai LC50 ekstrak kasar air serbuk daun gamal KLU lebih rendah antara 0,16-0,23% dibandingkan dengan ekstrak murni air pada waktu perlakuan yang sama. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak kasar air serbuk daun gamal KLU lebih efektif dibandingkan dengan ekstrak murni air, karena untuk mematikan 50% serangga uji dibutuhkan konsentrasi ekstrak kasar air yang lebih kecil dibandingkan dengan ekstrak murni air. Diduga senyawa flavonoid yang terdapat pada ekstrak kasar air serbuk daun gamal KLU bekerja secara sinergis sehingga akan lebih efektif apabila terdapat senyawa lain yang bekerja sama dengan senyawa flavonoid untuk mematikan hama kutu putih pada tanaman kakao. Menurut Rijayanti (2014), senyawa metabolit sekunder memiliki berbagai mekanisme kerja yang bekerja secara sinergis.

Hernani (2011) juga menyatakan, efikasi dari ekstrak yang digunakan disebabkan adanya sinergisitas antara senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak tersebut. Sinergisitas dapat mencegah terjadinya resistensi senyawa dan dapat bekerja lebih baik. Sinergisitas dari berbagai metabolit sekunder juga dinilai dapat menurunkan efek samping yang tidak diinginkan.

Senyawa metabolit sekunder yang digunakan sebagai insektisida dan dapat bekerja secara sinergis yaitu flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin (Aminah, 2001). Rimijuna dkk (2017) menambahkan, setiap senyawa metabolit sekunder dan sulfur memiliki kemampuan yang berbeda dalam mengendalikan hama. Penelitian Agnetha (2005) menunjukkan bahwa sulfur akan merusak membran sel hama, sedangkan flavonoid akan berperan dalam kematian hama. Sulfur bekerja sebagai inhibitor pernapasan dan flavonoid mengganggu metabolisme energi didalam mitokondria dengan menghambat sistem pengangkutan elektron. Saponin bekerja menurunkan tegangan permukaan selaput mukosa. Sedangkan tannin bekerja menyusutkan jaringan dan menutup struktur protein pada mukosa.

Menurut Sinaga (2009) kandungan metabolit sekunder seperti glikosida flavonoid pada tanaman bersifat racun perut. Apriliyani (2016) menambahkan, hama kutu putih mendapatkan makanan dengan menghisap cairan yang ada pada tanaman inangnya, oleh karena itu kutu putih akan mati akibat racun perut yang terhisap saat kutu putih menghisap tanaman inang.

**4. KESIMPULAN**

**Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh kesimpulan sebagai berikut :

1. Senyawa flavonoid yang terkandung dalam serbuk daun gamal KLU memiliki ciri-ciri fluorensensi warna biru pada sinar UV dan memiliki panjang gelombang dengan puncak 310 nm yang termasuk kedalam golongan flavonon dengan gugus fungsi O-H, C=O karbonil, C=C aromatik, dan C-O.

2. Ekstrak metanol serbuk daun gamal KLU memiliki kadar flavonoid sebesar 3,8 mg/L dan kadar fenolik sebesar 3,3 mg/L. Sedangkan ekstrak air serbuk daun gamal KLU memiliki kadar flavonoid sebesar 6,07 mg/L dan kadar fenolik 2,76 mg/L.

3. Ekstrak kasar serbuk daun gamal KLU lebih efektif dalam mematikan hama kutu putih kakao (*P. minor*) dibandingkan dengan ekstrak murni serbuk daun gamal KLU yang dilihat dari nilai LC50 ekstrak kasar sebesar 0,11% sedangkan nilai LC50 ekstrak murni sebesar 0,27%.

**Saran**

Ekstrak dari serbuk daun gamal dengan konsentrasi ˂5% sudah efektif dalam mematikan hama kutu putih kakao. Disarankan untuk peneliti selanjutnya ekstrak dibuat lebih banyak agar cukup untuk pengujian bioassay dan penelitian dilakukan dengan mengamati pengaruh ekstrak daun gamal terhadap serangga non target.

**UCAPAN TERIMAKASIH**

Ucapan terimakasih disampaikan kepada DRPM Kemeristek Dikti yang telah membiayai penelitian ini. Penelitian ini merupakan bagian dari Penelitian Berbasis Kompetensi tahun anggaran 2018/2019 dengan Dengan SK Nomor: 01/E/KPT/2018 dan Nomor Kontrak: 384/UN26.21/PN/2018

**DAFTAR PUSTAKA**

Afriyorawan. 2013. Karakterisasi Senyawa Flavonoid Hasil Isolasi Ekstrak Metanol Daun Gamal (*Gliricidia maculata*). *Skripsi*. Universitas Lampung. Lampung.

Agnetha, A.Y. 2005. Efek Ekstrak Bawang Putih (*Allium sativum*) sebagai Larvasida Nyamuk *Aedes* sp. *Skripsi*. Universitas Brawijaya. Malang.

Akbar, H.R. 2010. Isolasi dan Identifikasi Golongan Flavonoid Daun Dandang Gendis (*Clinacanthus nutans*) Berpotensi Sebagai Antioksidan. *Skripsi*. Departemen Kimia, Fakultas MIPA. Institut Pertanian Bogor.

Aminah. 2001. *S. rarak, D. metel dan E. prostata sebagai Larvasida Aedes aegypti*. Cermin Dunia Kedokteran No.131.

Andriyani, R. 2016. Daya Insektisida, Jenis, dan Struktur Isolat Murni Ekstrak Polar Serbuk Daun Gamal (*Gliricidia Maculata* Hbr.) Terhadap Kutu Putih (*Planococcus Minor* Maskell) Pada Tanaman Kakao (*Theobroma Cacao* L.) *Tesis*. Universitas lampung. Lampung.

Apriliyani. 2016. Pengembangan Insektisida Nabati dari Senyawa Flavonoid Ekstrak Daun Gamal (*Gliricidia maculata,* Hbr.) untuk Mengendalikan Hama Kutu Putih (*Planococcus citri*, Risso.) pada Tanaman Kopi (*Coffea robusta*, L.). *Tesis*. Universitas Lampung.

Badan Penelitian dan Perkembangan Perkebunan. 2015. *Info Tek Perkebunan Media Bahan Bakar Nabati Dan Perkebunan*. Pusat Penelitian dan Perkembangan Perkebunan. 7 (11). Bogor.

Brybrook, D., & Solutions, V. 2012. Mealybug Management. Australian Goverment Grape and Wine Research and Development Corporation. *http://www.gwrdc.com.au*. Diakses pada tanggal 13 November 2017.

Gafur, M.A., Isa, I., & Bialangi, N. 2013. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Dari Daun Jamblang (*Syzygium cumini*). *Jurnal*. Universitas Negeri Gorontalo.

Geissman, T.A. 1962. *The Chemistry of Flavonoid Compound*. Pergamon Press. Oxford

Hernani. 2011. *Pengembangan Biofarmaka sebagai Obat Herbal untuk Kesehatan*. Buletin Teknologi Pascapanen Pertanian. 7 (1): 20-19.

Neldawati, Ratnawulan, & Gusnedi. 2013. Analisis Nilai Absorbansi dalam Penentuan Kadar Flavonoid untuk Berbagai Jenis Daun Tanaman Obat. *Jurnal*. Universitas Negeri Padang.

Rahardjo, P. 2011. *Menghasilkan Benih dan Bibit Kakao Unggul*. Penebar Swadaya. Jakarta.

Raini, M. 2007. Toksikologi Pestisida dan Penanganan Akibat Keracunan Pestisida. *Media Litbang Kesehatan.* 17 (3). Departemen Kesehatan. Jakarta.

Rijayanti, R.P. 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mangga Bacang (*Mangifera foetida L.)* terhadap *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *Naskah Publikasi*. Universitas Tanjungpura.

Rimijuna, I., Yenie, E., & Elystia, S. 2017. Pembuatan Pestisida Nabati menggunakan Metode Ekstraksi Dari Kulit Jengkol dan Umbi Bawang Putih. *Jurnal*. Universitas Riau.

Rivai, H., Widiya, E., Rusdi. 2013. Pengaruh Perbandingan Pelarut Etanol-Air terhadap Kadar Senyawa Fenolat Total dan Daya Antioksidan dari Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L.). *Jurnal*. Universitas Andalas. Padang

Sejati, A.D. 2012. Penetapan Kadar Flavonoid dan Fenolik Ekstrak Air Jinten Hitam (*Nigella sative L*.) dan Uji Sitotoksik pada Sel Kanker Payudara MCF-7 dari Tiga Daerah : Habasyah, India dan Indonesia. *Naskah Publikasi*. Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta.

Sinaga, R. 2009. Uji Efektifitas Insektisida Nabati terhadap Hama *Spodoptera litura (Lepidoptera: Noctuidae*) pada Tanaman Tembakau (*Nicotiana tabaccum* L.) *Skripsi*. Universitas Sumatera Utara. Medan.

Siswanto & Karmawati, E. 2012. Pengendalian Hama Utama Kakao (*Conopomorpha Cramerella* dan *Helopeltis Spp*.) dengan Pestisida Nabati dan Agens Hayati. *Control Of Cocoa Main Pest (Conomorpoha Cramerella and Helopeltis Spp.) Using Botanical Pesticide And Biological Agents*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan Indonesian Center For Estate Crops Research And Development. Bogor.

Sudarmo, S. 2005. *Pestisida Nabati Pembuatan dan Pemanfaatannya*. Kanisius. Yogyakarta.

Sukadana, I.M. 2010. *Aktivitas Senyawa Flavonoid dari Kulit Akar Awar-awar*. 4 (1):63-67.

Suryani, N.C., Permana, D.G.M., & Jambe, A. 2016. Pengaruh Jenis Pelarut terhadap Kandungan Total Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Matoa (*Pometia pinnata*). *Jurnal*. Universitas Udayana.

Susanto, F.X. 1994. *Tanaman Kakao Budidaya dan Pengolahan Hasil*. Kanisius. Yogyakarta.

Syahputra, E. & Endarto, O. 2012. Aktivitas Insektisida Ekstrak Tumbuhan terhadap *Diaphorina citri* dan *Toxoptera citricidus* serta Pengaruhnya terhadap Tanaman dan Predator. *Jurnal*. Balai Penelitian Tanaman Jeruk dan Buah Suptropika. Jawa Timur.

Wahyudi T, T.R. Panggabean, & Pujiyanto. 2008. *Panduan Lengkap Kakao*. Penebar Swadaya. Jakarta.

Wirasuta, I.M.A.G., & Niruri, R. 2006. *Buku Ajar Toksikologi Umum*. Universitas Udayana. Bali.

Yulistian, D.P., Utomo, E.P., Ulfa, S.M., & Yusnawan, E. 2015. Studi Pengaruh Jenis Pelarut terhadap Hasil Isolasi dan Kadar Senyawa Fenolik dalam Biji Kacang Tunggak (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) Sebagai Antioksidan. *Jurnal*. Universitas Brawijaya. Malang.