**KUANTIFIKASI DAN PENENTUAN STRUKTUR SENYAWA FLAVONOID EKSTRAK POLAR DAUN GAMAL (*Gliricidia maculata*)**

**KULTIVAR PRINGSEWU DAN UJI TOKSISITAS TERHADAP**

**KUTU PUTIH SIRSAK**

 **(*Pseudococcus cryptus,* Hemiptera: Pseudococcidae)**

**Yayang Anas Persada1, Nismah Nukmal1,2,**

1*Jurusan Biologi Universitas Lampung, Bandar Lampung*

*Jl. Prof. Sumantri Brojonegoro No.1 Bandar Lampung 35145*

2*Coresponding author ;* *nnukmal@yahoo.com*

**Abstrak**

*Produksi buah sirsak mengalami penurunan akhir-akhir ini, salah satu penyebabnya adalah serangan hama kutu putih (Pseudococcus cryptus). Penggunaan insektisida sintetik yang tidak tepat akan berdampak buruk. Oleh sebab itu, perlu dicarikan alternatif pengganti. Tanaman gamal (Gliricidia maculata) merupakan salah satu tanaman yang dapat dijadikan insektisida nabati karena mengandung senyawa kimia flavonoid. Penelitian ini bertujuan untuk mengkuantifikasi dan menentukan struktur senyawa flavonoid ekstrak polar daun gamal serta uji toksisitas terhadap mortalitas P. cryptus. Ekstraksi serbuk daun gamal dilakukan dengan cara maserasi bertingkat. Analisis penentuan struktur dan kuantifikasi senyawa flavonoid menggunakan Spektrofotometri UV-Vis dan FTIR dilakukan di Laboratorium Terpadu Sentra Inovasi Teknologi. Bioassay dilakukan di Laboratorium Zoloogi Unila. Analisis LC50 ditentukan dengan analisis probit dan efektivitas ekstrak dengan Paired sampel Test. Hasil yang didapat yaitu ekstrak metanol serbuk daun gamal kultivar Pringsewu memiliki kadar flavonoid sebesar 4,5 mg/L kuersetin dan kadar fenolik sebesar 3,2 mg/L asam galat. Sedangkan ekstrak air memiliki kadar flavonoid sebesar 3,6 mg/L kuersetin dan kadar fenolik sebesar 1,7 mg/L asam galat. Senyawa flavonoid yang terkandung dalam serbuk daun gamal kultivar Pringsewu termasuk dalam golongan flavonol dengan struktur 3-hidroksi-2-fenil-1,4-benzopiron. Ekstrak kasar air serbuk daun gamal kultivar Pringsewu lebih efektif dibandingkan ekstrak murni air dengan nilai (0,106% : 0,164%).*

**Kata kunci** : *Flavonoid; kuantifikasi; kutu putih; penentuan struktur,*

1. **Pendahuluan**

Sirsak *(Annona muricata L.)* merupakan tanaman buah yang berasal dari Karibia, Amerika Tengah dan Amerika Selatan. Tanaman ini hidup pada daerah yang cukup berair. Di Indonesia penyebaran tanaman sirsak terdapat di daerah Jawa Barat, terutama Rajamandala dan Bandung Selatan serta Jawa Tengah (Muizuddin dan Zubaidah, 2015).

Produksi buah sirsak di Indonesia mengalami penurunan hingga 17% pada tahun 2011 (Statistik Pertanian, 2014). Faktor penyebabnya adalah serangan hama dan penyakit pada tanaman buah sirsak sehingga kualitas dan kuantitas buah menurun. Salah satu hama yang menyebabkan turunnya produksi sirsak adalah kutu putih (*Pseudococcus cryptus*). Kutu putih dapat menurunkan produksi buah sirsak hingga 58% (Ivakdalam, 2010). Pengendalian hama kutu putih saat ini umumnya dilakukan petani dengan menggunakan insektisida sintetis karena lebih efektif, cepat diketahui hasilnya dan penerapannya relatif mudah. Namun penggunaan insektisida sintetis dapat menimbulkan kerusakan, seperti timbulnya resistensi dan resurgensi pada hama sasaran dan terjadi pencemaran lingkungan (Oka, 1995).

Guna mengurangi pemakaian insektisida sintetik perlu pemanfaatan intektisida nabati dari tanaman sebagai pengendalian hama kutu putih yang ramah lingkungan dan aman untuk kesehatan. Insektisida nabati memiliki fungsi untuk mematikan serangga penganggu. Salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai insektisida nabati adalah daun gamal (*Gliricidia maculata*). Daun gamal mengandung senyawa kimia antara lain flavonoid, saponin dan steroid (Lebang, dkk., 2016).

Analisis kuantifikasi dan struktur senyawa yang berpotensi sebagai insektisida nabati pada tanaman gamal (*G. maculata*) dapat dilakukan dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Spektrum serapan ultra violet dan serapan tampak merupakan cara tunggal yang paling bermanfaat untuk mengindentifikasi struktur flavonoid.

1. **Metode Penelitian**
2. **Alat dan bahan penelitian**

Alat yang akan digunakan dalam penelitian ini ialah, Rotavapor merk Buchi R-220 SE Rotavapor merk Buchi R-210 SE, lampu UV 254 nm dan 366 nm, MPLC, Spektrofotometri UV- Vis, FTIR.

Bahan yang digunakan yaitu serbuk daun gamal, pelarut heksana dan diklorometana (DCM), metanol dan akuades, plat KLT fluorensensi, pelarut visualisasi CeSO4 (10%), AICI3 (15%), dan NaOH, etanol, etil asetat, isopropanol dan *aquapure*, asam galat, folin, NA2CO3 *aquabidest*, kolom C-19, kolom *sphadex*, dan kolom silika. Kutu putih sirsak (*P. cryptus*) betina dewasa beserta buah sirsak, dan buah sirsak muda.

1. **Metode penelitian**

**1. Maserasi bertingkat ekstrak metanol dan air serbuk daun gamal kultivar Pringsewu**

Serbanyak 500 gram serbuk daun gamal dimaserasi secara bertingkat menggunakan pelarut heksana, diklorometana, metanol dan air untuk memisahkan senyawa-senyawa polar dan non polar yang terkandung didalamnya. Maserasi dilakukan selama 1x24 jam dengan 4 kali pengulangan pada masing-masing pelarut. Filtrat metanol dan filtrat air selanjutnya dievaporasi hingga tidak ada lagi kandungan pelarutnya. Hasil evaporasi maserat metanol dan air kemudian dipekatkan dengan metode rekristalisasi menggunakan *freeze dryer* hingga membentuk ekstrak kasar dalam bentuk pasta. Kromatografi Lapis Tipis dilakukan menggunakan eluen kombinasi, eluen digolongkan menurut ukuran kekuatan teradsorpsinya pelarut atau campuran pelarut tersebut pada adsorben. Hasil evaporasi ekstrak kasar metanol dan air diKLT menggunakan plat KLT silika fluoresensi (5x2 cm), dengan larutan identifikasi CeSO4 10% dan AlCl315% dengan perbandingan 1:1. Eluen yang digunakan yaitu heksana dan etanol dengan perbandingan 7:3, 1:1, dan 3:7.

**2. Medium Pressure Liquid Chromatography (MPLC)**

Untuk pemurnian ekstrak metanol dan air dilakukan dengan cara fraksinasi menggunakan Medium Pressure Liquid Chromatography (MPLC). Fraksi- fraksi yang sudah didapat kemudian dikelompokkan berdasarkan warna dan hasil MPLC yang didapat lalu 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.

**3. Kromafotografi Kolom Grafitasi (KKG)**

Fraksi yang didapat dari pemurnian menggunakan MPLC dimurnikan kembali menggunakan kromatografi kolom grafitasi. Proses KKG diawali dengan kolom C-18 dilarutkan menggunakan air terlebih dahulu, kemudian dimasukkan kedalam wadah untuk pemisahan. 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.

**4. Spektrofotometri UV-Vis dan Spektrofotometri Inframerah Transformasi Fourier (FTIR)**

Analisis dilakukan dengan tahapan pembuatan larutan standar dan persiapan analisis ekstrak. Sampel ditimbang sebanyak 0,4 gram kemudian diencerkan hingga 500x. Kemudian sampel dianalisis dan ditentukan panjang gelombang maksimum dengan melihat nilai absorbansi pada ekstrak. Selanjutnyasenyawa flavonoid yang analisis menggunakan FTIR, di ambil sebanyak 0,1 g. Sampel dipekatkan dan diteteskan pada alat kemudian diukur puncak serapannya untuk mendeteksi gugus-gugus fungsional yang terdapat dalam struktur senyawa isolat.

**5. Penentuan kadar fenolik dan flavonoid ekstrak metanol dan air**

Analisis kadar fenolik dan flavonoid ekstrak metanol dan air menggunakan spektrofotometer UV- Vis.

1. **Kadar fenolik**

Larutan standar yang digunakan adalah asam galat. Konsentrasi larutan standar yang digunakan ialah 0, 2, 5, 8, 10, 12 dan 15 mg/L. Larutan standar diukur dengan panjang gelombang 747 nm. Sedangkan, sampel yang digunakan adalah ekstrak kasar metanol dan air yang ditimbang sebanyak 5 mg kemudian dilarutkan 5 mL akuabides. Kemudian larutan standar dan sampel direaksikan dengan 1 mL folin dan didiamkan selama 5 menit. Selanjutnya, ditambahkan 4 mL Na2CO3 7,5% dan didiamkan 90 menit.

1. **Kadar flavonoid**

Larutan standar yang digunakan adalah kuersetin. Konsentrasi yang digunakan 0, 2, 5, 8, 10, 12 dan 15 mg/L. Larutan standar diukur pada panjang gelombang 314 nm. Sedangkan, sampel yang digunakan adalah ekstrak kasar metanol dan air yang ditimbang sebanyak 5 mg kemudian dilarutkan 5 mL akuabides. Kemudian larutan standar dan sampel direaksikan dengan 0,3 mL NaNO2 5% dan didiamkan 5 menit. Selanjutnya, ditambahkan 0,3 mL AlCl3 10% dan diamkan 5 menit serta ditambahkan kembali 2 mL

NaOH 1 M.

**6. Bioassay Fraksi Yang Didapat Terhadap Hama Kutu Putih Sirsak (*Pseudococcus cryptus*)**

Bioassay yang dilakukan adalah uji mortalitas terhadap hama kutu putih dengan pengaruh residu (*residual effect*). Setiap senyawa yang ditemukan pada tahapan fraksinasi dilakukan bioassay terhadap hama kutu putih betina stadium dewasa dengan media uji yang digunakan adalah buah sirsak tempat hama *P. cryptus* hidup. Hal ini dilakukan untuk mengetahui senyawa aktif insektisida. Uji residu dilakukan dengan merendam buah sirsak dengan 5 taraf konsentrasi ekstrak metanol dan ekstrak air dengan konsentrasi (0%, 0,05%, 0,10%, 0,15% dan 0,20%) (Aksah, 2016) selama 10 menit, 10 ekor (*P. cryptus*) betina dewasa yang sudah diaklimatisasi selama 1 hari sebelum perlakuan diletakkan pada buah sirsak yang sudah direndam dengan ekstrak daun gamal 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.

Larutan uji dikatakan efektif bila larutan tersebut memberikan nilai LC50 ≤ 5% (Prijono, 2005). *Bioassay* ekstrak kasar dan ekstrak murni menggunakan cara kerja yang sama tetapi*, bioassay* ekstrak murni menggunakan konsentrasi dari nilai LC50 hasil *bioassay* ekstrak kasar sebagai nilai tengah dengan range dua tingkatr keatas dan dua tingkat kebawah.

1. **Analisis Data**

Data yang diperoleh selanjutnya dianalisis menggunakan analisis probit untuk menentukan nilai LC50 dan uji *paired* sampel *test* digunakan untuk menentukan larutan yang efektif sebagai insektisida nabati.

1. **Hasil dan Pembahasan**
2. **Senyawa flavonoid ekstrak metanol dan ekstrak air daun gamal kultivar Pringsewu**

**1. Ekstrak metanol**

Hasil maserasi bertingkat 500 gram serbuk daun gamal kultivar Pringsewu berupa filtrat metanol sebanyak 1.560 mL. Hasil evaporasi filtrat metanol dievaporasi dan didapat sebanyak 10,5 gram ekstrak pekat dalam bentuk pasta yang berwarna hijau pekat. Ekstrak kasar tersebut sudah tidak mengandung pelarut yang digunakan pada saat maserasi sehingga sudah dapat diujikan pada serangga uji.

Kromatogram hasil analisis KLT ekstrak kasar metanol dengan larutan identifikasi AlCl3, dan eluen etanol banding heksana (3:7) pada cahaya lampu UV dengan panjang gelombang 254 nm menunjukkan noda warna hijau kehitaman (Gambar 1a) dan pada panjang gelombang 366 nm berwarna jingga (Gambar 1b). Noda warna jingga menunjukkan bahwa ekstrak kasar metanol mengandung senyawa flavonoid (Aksah, 2017). Nilai *Rf* ekstrak kasar metanol yaitu 0,67.

  

F2

F1

1. (b) (c)

Gambar 1. Kromatogram KLT ekstrak kasar metanol kutivar Pringsewu dengan menggunakan cahaya UV (a) λ 254 nm (b) λ 366 nm (c) Kromatogram MPLC ekstrak kasar metanol kultivar Pringsewu

Hasil partisi 5 gram, ekstrak kasar metanol kultivar Pringsewu menggunakan pelarut etil asetat dan air menghasilkan 3 gram fraksi etil asetat. Kromatogram hasil MPLC ekstrak kasar metanol kultivar Pringsewu dikelompokkan berdasarkan puncak tertinggi dari kromatogram yang dapat dilihat pada Gambar 1c.

Hasil pengelompokan fraksi berdasarkan puncak pada kromatogram MPLC diperoleh 2 fraksi yaitu (F1) dan (F2). Dari 2 fraksi yang didapatkan hanya terdapat 1 fraksi yang menunjukkan puncak tertinggi yaitu (F1).

**2. Ekstrak Air**

Hasil maserasi bertingkat 500 g serbuk daun gamal kultivar Pringsewu berupa filtrat air sebanyak 2.900 mL. Filtrat air dievaporasi dan di *freeze dryer* menghasilkan 59,5 g ekstrak kasar air dalam bentuk pasta yang berwarna coklat. Ekstrak kasar tersebut dapat langsung diujikan pada serangga uji.

Hasil analisis KLT ekstrak kasar air dengan larutan identifikasi AlCl3 dan eluen etanol dan heksana (1:1) pada cahaya lampu UV dengan panjang gelombang 254 nm menunjukkan noda berwarna hijau kehitaman dan pada gelombang 366 nm menunjukkan noda warna biru pada kromatogram (Gambar 2a dan 2b). Noda warna biru pada panjang gelombang 366 nm menunjukkan bahwa ekstrak mengandung senyawa flavonoid (Nuari dkk., 2017). Nilai *Rf* dari kromatogram menunjukkan nilai 0,88.

   

F3

F2

F1

1. (b) (c)

Gambar 2. Kromatogram KLT ekstrak kasar air dengan menggunakan cahaya UV (a) λ 254 nm (b) λ 366 nm (c) Kromatogram MPLC ekstrak kasar air kultivar Pringsewu

Hasil fraksinasi 6 gram ekstrak kasar air menggunakan MPLC diperoleh 3 fraksi (Gambar 2c). Diantara ketiga fraksi tersebut, fraksi 2 (F2) memiliki titik puncak paling tinggi, hasil evaporasinya diperoleh berat fraksi 2 sebesar 1,5 g. Hasil analisis KLT fraksi 2 hasil MPLC dengan eluen etanol : heksana (1:1) dapat dilihat pada kromatogram Gambar 3. Nilai *Rf* dari Fraksi 2 yaitu 0,57.

   (a) (b) (c)

Gambar 3. Kromatogram KLT dari fraksi 2 hasil MPLC ekstrak air (a) panjang gelombang 254 nm (b) panjang gelombang 366 nm (c) AlCl3

Hasil permurnian menggunakan kolom C-18, sebanyak 0,1 gram F2 yang dilarutkan dengan 1 mL aquapure didapatkan berupa 19 fraksi. Sampel didalam botol yang memiliki warna kuning pekat kemudian dianalisis menggunakan KLT untuk melihat senyawa yang mempunyai karakter dominan yang ada didalam ekstrak. Fraksi 2 nomor 10 atau disebut (F2-10) merupakan fraksi 2 yang memilki warna kuning paling pekat (Gambar 4a).

 ** **

1. (b) (c)

Gambar 4. (a) F2-10 hasil kromatografi gravitasi Kromatogram KLT F2-10 hasil kromatografi gravitasi (b) λ 254 nm AlCl3(c) λ 366 nm AlCl3

Hasil analisis KLT (F2-10) mempunyai warna biru saat diamati menggunakan lampu panjang gelombang 366nm dan pelarut visualisasi AICI3. Nilai *Rf* dari kromatogram yaitu 0,63 (Gambar 4c). Fluoresensi pada kromatogram hasil KLT menunjukkan adanya senyawa flavonoid pada ekstrak (Afryorawan, 2013). F2-10 dievaporasi hingga ekstrak tidak mengandung pelarut.

Hasil analisis spektrum FTIR fraksi F2-10 yang sudah dipekatkan dan sudah murni pada rentang gelombang 200-800 nm disajikan dan hasil Spektrum UV-Vis fraksi senyawa flavonoid ekstrak murni air F2-10 kultivar Pringsewu dalam pelarut air disajikan pada (Gambar 5a) dan (Gambar 5b)

 

 (a) (b)

Gambar 5. (a) Spektrum FTIR fraksi F2-10 ekstrak air serbuk daun gamal kultivar Pringsewu (b) Hasil spektrofotometer UV-Vis ekstrak murni air F2-10 kultivar Pringsewu

Spektrum FTIR (Gambar 5a) memberikan informasi pita melebar pada daerah 3235,3 cm-1 yang menunjukan adanya vibrasi ulur untuk gugus hidroksil (OH) dapat membentuk ikatan hidrogen dalam molekul. Pada serapan gelombang 2929,7 cm-1 menunjukan adanya C-H alifatik karena berada disebelah kanan 3000 cm-1 (Ghafur dkk., 2013). Pada serapan bilangan gelombang 1565,5 cm-1 dan 1401,5 cm-1 menunjukan adanya serapan C=C aromatik. Tetapi, puncak serapan C=O pada bilangan rendah disebabkan oleh terbentuknya ikatan hidrogen internal dan molekul, dibandingkan karbonil pada keton (Afriyorawan, 2013).

Menurut Afriyorawan (2013), adanya serapan bilangan gelombang 1230,0 cm-1 dan 1028,7 cm-1 menunjukkan serapan dari C-O alkohol, sedangkan pada serapan gelombang 745,5 adalah serapan dari C-H aromatik. Hasil spektro UV-Vis ekstrak air serbuk daun gamal kultivar Pringsewu pada Gambar 5b, diduga termasuk senyawa flavonoid golongan flavonol. Karena memiliki panjang gelombang puncak (pita II) adalah 263 nm dan puncak pada (pita I) 386 nm. Neldawati dkk (2013) mengungkapkan bahwa panjang gelombang dengan puncak (pita II) 250 - 280 nm dan pada (pita I) 330 - 385 merupakan senyawa flavonoid golongan flavonol.

Berdasarkan hasil analisis dari spektrum FTIR dan UV-Vis diketahui senyawa flavonoid ekstrak murni air serbuk daun gamal kultivar Pringsewu adalah golongan flavonol. Senyawa dari golongan flavonol memiliki struktur yang ditunjukkan pada Gambar 6.



3-Hydroxy-2-phenyl-chromen-4-one

**(Flavonol)**

Gambar 6. Struktur golongan Flavonoid flavonol (Tapas dkk., 2008)

Tapas dkk. (2008) mengungkapkan senyawa flavonol memilki dua cincin aromatik dengan struktur dasar C6-C3-C6. Pada umunya senyawa flavonol akan mengalami pergeseran puncak absorbsi kearah panjang gelombang yang lebih besar (batokromik) karena memiliki gugus hidroksil (Darmawati dkk., 2015).

1. ***Bioassay* Ektsrak Kasar Metanol dan Air Kultivar Pringsewu**

Nilai LC50 ekstrak kasar metanol yang didapatkan sebesar 0,213% (Gambar 7) dan ekstrak kasar air sebesar 0,106% (Gambar 13). Nilai LC50 ini digunakan sebagai penentuan rentang konsentrasi pada pengujian ekstrak metanol dan ekstrak air daun gamal kultivar Pringsewu terhadap mortalitas hama kutu putih serta untuk *bioassay* pada ekstrak murni metanol dan air.

 

1. (b)

Gambar 7. (a) Hasil analisis probit ekstrak kasar metanol kultivar Pringsewu terhadap mortalitas hama kutu putih (*P. cryptus*) (b) Hasil analisis probit ekstrak kasar air kultivar Pringsewu terhadap mortalitas hama kutu putih (*P. cryptus*)

1. **Kuantifikasi senyawa flavonoid dan fenolik ekstrak polar serbuk daun gamal kultivar Pringsewu**

Hasil analisis kurva kalibrasi kuersetin didapatkan kurva baku dengan persamaan regresi linear y = 0,071x + 0,002 dengan harga koefisien korelasi (R2) 0,995 (Gambar 8a) dan hasil analisis terhadap larutan asam galat didapatkan kurva kalibrasi dengan persamaan regresi linear y = 0,040x + 0,002 dengan harga koefisien korelasi (R2) 0,999 (Gambar 8b). Nilai R2 yang mendekati satu menunjukkan persamaan regresi linear (Kusuma, 2012)

1. (b)

Gambar 8. (a) Kurva kalibrasi kuersetin (b)Kurva kalibrasi asam galat

Hasil analisis kadar flavonoid ekstrak kasar metanol dan air serbuk daun gamal kultivar Pringsewu yang diperoleh dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kadar Flavonoid Ekstrak Kasar Metanol dan Air Daun Gamal Kultivar Pringsewu

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Ekstrak | Absorbansi | Kadar flavonoid (mg/L kuersetin) | Kadar rata-rata flavonoid (mg/L kuersetin) ± SD |
| Metanol | 0,37880,29370,2965 | 5,34,14,1 | 4,5 ± 0,6928 |
| Air | 0,25690,25980,2672 | 3,63,63,7 | 3,6 ± 0,0577 |

Hasil perhitungan kadar flavonoid ekstrak serbuk daun gamal dapat dilihat ekstrak metanol miliki kadar flavonoid lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak air (Tabel 1). Perbedaan kadar flavonoid yang dihasilkan dapat disebabkan karena perbedaan pelarut yang digunakan pada waktu ekstraksi. Tingginya kadar flavonoid pada ekstrak metanol menjelaskan bahwa karakteristik senyawa flavonoid pada ekstrak serbuk daun gamal kultivar Pringsewu mempunyai kepolaran yang sama dengan metanol, sehingga ekstrak dengan pelarut metanol menghasilkan kandungan senyawa flavonoid yang tinggi (Suryani, 2016).

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 Kasar Metanol dan Air Serbuk Daun Gamal Kultivar Pringsewu

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Ekstrak | Absorbansi | Kadar fenolik (mg/L asam galat) | Kadar rata-rata fenolik (mg/L asam galat) ± SD |
| Metanol | 0,13530,13310,1388 | 3,23,23,3 | 3,2 ± 0,6557 |
| Air | 0,07370,07360,0739 | 1,71,71,7 | 1,7 ± 0 |

Hasil perhitungan kadar fenolik ekstrak kasar metanol serbuk daun gamal lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak kasar air. Adanya perbedaan tersebut dikarenakan perbedaan pelarut yang digunakan sangat mempengaruhi jumlah kadar fenolik dan senyawa fenol yang larut dipengaruhi oleh kepolaran pelarut. Jika tingginya kadar fenolik pada ekstrak metanol serbuk daun gamal kultivar Pringsewu mempunyai kepolaran yang sama dengan senyawa fenolik. Suryani dkk. (2016) menyatakan bahwa senyawa polar akan larut pada pelarut polar dan senyawa non polar akan larut dengan pelarut non polar.

1. **Bioassay Ekstrak Kasar dan Murni Air Serbuk Daun Gamal Kultivar Pringsewu**

 Persentase mortalitas hama kutu putih pada buah sirsak dengan perlakuan ekstrak kasar air dan ekstrak murni air daun gamal dapat dilihat pada Gambar 9a dan Gambar 9b.

1. (b)

Gambar 9. (a) Persentase kematian hama kutu putih (*P. cyptus*) pada buah sirsak dengan perlakuan ekstrak kasar air serbuk daun gamal kultivar Pringsewu pada konsentrasi dan waktu yang berbeda. (b) Persentase kematian hama kutu putih (*P. cryptus*) pada air serbuk daun gamal kultivar Pringsewu pada konsentrasi dan waktu yang berbeda.

Hasil bioassay ekstrak kasar dan ekstrak murni air serbuk daun gamal kultivar Pringsewu memberikan efek kematian terhadap kutu putih sirsak. Kematian kutu putih sirsak dengan persentase tertinggi menggunakan perlakuan ekstrak kasar air pada konsentrasi 0,05% dengan kematian mencapai 66,6% pada 72 jam setelah perlakuan. Sedangkan pada perlakuan menggunakan ekstrak murni air persentase kematian tertinggi pada konsentrasi 0,212% dengan kematian mencapai 60%.

Hasil uji *paired T test* pada taraf (sig < 0,05) 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. Hasil analisis *paired T test* kematian kutu putih (ekor ± sd) setelah diperlakukan dengan ekstrak kasar dan ekstrak murni air serbuk daun gamal kultivar Pringsewu 72 jam setelah perlakuan

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Ekstrak kasar air** | **Ekstrak murni air** | **Sig.(2-tailed)** |
| **Konsentrasi** | **Rata-rata** ± **SD** | **Konsentrasi** | **Rata-rata** ± **SD** |
| 0,00 | 0,11 ± 0,33 | 0,00 | 0,44± 0,88 | 0,34 |
| 0,05 | 6,00 ± 1,11 | 0,05 | 3,33 ± 2,00 | 0,00 |
| 0,10 | 3,00 ± 1,65 | 0,11 | 2,33 ± 2,50 | 0,28 |
| 0,15 | 4,88 ± 1,45 | 0,16 | 1,55 ± 2,18 | 0,00 |
| 0,20 | 4,44 ± 2,35 | 0,21 | 2,22 ± 2,90 | 0,23 |

Rata-rata kematian hama kutu putih yang diperlakukan dengan ekstrak kasar air serbuk daun gamal kultivar Pringsewu konsentrasi 0,05% dan 0,15% berbeda nyata dengan ekstrak murni air (p < 0,05). Rata-rata kematian hama kutu putih yang diperlakukan dengan ekstrak kasar air lebih banyak dibandingkan ekstrak murni air untuk semua tingkatan konsentrasi (Tabel 3), mungkin hal ini disebabkan karena adanya kerja sinergisme berbagai komponen senyawa bioaktif pada ekstrak kasar air.

Menurut Safirah (2016) senyawa metabolit sekunder memiliki berbagai mekanisme kerja yang bekerja secara sinergis. Kombinasi antara kandungan senyawa seperti tanin, flavonoid, saponin, dan alkaloid menyebabkan efek sinergisme dalam mematikan serangga.

Hasil uji *paired T test* (sig < 0,05) rata-rata kematian hama kutu putih yang diperlakukan dengan ekstrak kasar dan ekstrak murni air serbuk daun gamal kutlivar Pringsewu pada waktu pengamatan yang berbeda dapat dilihat pada

Tabel 4.

Tabel 4. Hasil analisis *paired T test* rata-rata kematian kutu putih setelah diberi perlakuan dengan ekstrak kasar dan ekstrak murni air serbuk daun gamal kultivar Pringsewu pada waktu pengamatan berbeda

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Waktu setelah perlakuan (Jam)** | **Rata-rata kematian kutu putih (ekor ± sd)** | **Sig. (2-tailed)** |
| **Ekstrak kasar air** | **Ekstrak murni air** |
| 24 | 3,33 ± 1,77 | 0,50 ± 1,00 | 0,00 |
| 48 | 4,41 ± 1,78 | 1,75 ± 1,21 | 0,00 |
| 72 | 6,00 ± 1,41 | 4,83 ± 2,24 | 1,47 |

Rata-rata kematian hama kutu putih yang diperlakukan dengan ekstrak kasar air serbuk daun gamal kultivar Pringsewu pada 24 jam dan 48 jam setelah perlakuan berbeda nyata dengan ekstrak murni air (p < 0,05), tetapi tidak berbeda nyata pada 72 jam setelah perlakuan (Tabel 4), meskipun ekstrak kasar air dan ekstrak murni serbuk daun gamal kultivar Pringsewu pada perlakuan 72 jam memiliki waktu yang lebih lama dibandingkan dengan ekstrak kasar air dan ekstrak murni air pada perlakuan 24 jam dan 48 jam. Hal ini mungkin dikarenakan rentang waktu yang lebih lama dapat menyebabkan mortalitas kutu putih meningkat. Apabila zat toksik yang terakumulasi dalam waktu yang lama dapat menyebabkan kematian serangga (Raini, 2007).

Wirasuta dan Niruri (2006), mengungkapkan bahwa konsentrasi yang rendah tetapi dengan waktu kontak lama dapat menimbulkan efek tosik yang sama dengan zat yang terpapar pada konsentrasi tinggi dengan waktu kontak yang singkat, hal ini bergatung kepada konsentrasi dan lamanya ekposisi zat racun.

Keefektifan dari ekstrak kasar dan murni air serbuk daun gamal kultivar Pringsewu 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 kultivar Pringsewu pada 24 - 72 jam setelah perlakuan

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Waktu (Jam)** | **Nilai LC50 (%)** | **Selisih (%)** |
| **Ekstrak Kasar Air** | **Ekstrak Murni Air** |
| 24 | 0,290 | - | - |
| 48 | 0,478 | - | - |
| 72 | 0,106 | 0,164 | 0,058 |

Pada 24 jam dan 48 jam setelah perlakuan nilai LC50 ekstrak murni air tidak bisa ditentukan, karena kematian serangga uji belum mencapai 50%. Nilai LC50 ekstrak kasar air serbuk daun gamal kultivar Pringsewu lebih rendah 0,058% dibandingkan dengan ekstrak murni air pada waktu perlakuan yang sama. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak kasar air serbuk daun gamal kultivar Pringsewu 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.

Rimijuna dkk (2017) menyatakan bahwa, setiap senyawa metabolit sekunder memiliki kemampuan yang berbeda dalam mengendalikan hama. Flavonoid merupakan senyawa pertahanan tumbuhan yang bersifat menghambat nafsu makan serangga, tanin dapat menurunkan kemampuan mencerna makanan pada serangga dengan cara menurunkan aktifitas enzim pencernaan (Dinata, 2008). Saponin dapat menghambat kerja enzim proteolitik yang menyebabkan penurunan aktifitas enzim pencernaan dan penggunaan protein (Suparjo, 2008).

Sinaga (2009) berpendapat bahwa kandungan metabolit sekunder seperti glikosida flavonoid pada tanaman bersifat racun perut. Kasumbogo (2006) dan Apriliani (2016) menambahkan, hama kutu putih mendapatkan makanan dengan menghisap cairan yang ada pada tanaman inangnya, sehingga senyawa masuk melalui saluran pencernaan oleh karena itu kutu putih akan mati akibat racun perut yang terhisap saat kutu putih menghisap tanaman inang. Senyawa toksik menembus dinding usus selanjutkan akan mengganggu metabolisme serangga sehingga menyebabkan kematian pada serangga tersebut.

1. **Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan didapat kesimpulan sebagai berikut :

1. Ekstrak metanol serbuk daun gamal kultivar Pringsewu memiliki kadar flavonoid sebesar 4,5 mg/L kuersetin dan kadar fenolik sebesar 3,2 mg/L asam galat. Sedangkan ekstrak air memiliki kadar flavonoid sebesar 3,6 mg/L kuersetin dan kadar fenolik sebesar 1,7 mg/L asam galat.
2. Ekstrak murni air serbuk daun gamal kultivar Pringsewu mengandung senyawa flavonoid dari golongan flavonol dan struktur senyawanya terdiri dari kerangka struktural 3-hidroksi-2-fenil-1,4-benzopiro
3. Ekstrak kasar air serbuk daun gamal kultivar Pringsewu lebih efektif terhadap mortalitas hama kutu putih pada tanaman sirsak berdasarkan nilai LC50 ekstrak kasar air sebesar 0,106% dibandingkan ekstrak murni air daun gamal LC50 sebesar 0,164%.

**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 SK Nomor: 01/E/KPT/2018 dan Nomor Kontrak 384/UN26.21/PN/2018, serta terimakasih kepada ibu Nurul Utami yang telah membantu dalam penelitian ini.

**Daftar Pustaka**

Afriyorawan, N. 2013. Karakterisasi senyawa Flavonoid Hasil Isolasi Ekstrak Metanol Daun Gamal (*Gliricidia maculata*) [*Skripsi*]. Universitas Lampung. Lampung.

Aksah, F. 2016. Perbandingan Daya Racun Isolat Murni Ekstrak Metanol dan Ekstrak Air Daun Gamal (*Gliricidia Maculata*) Terhadap Mortalitas Kutu Putih (*Pseudococcus Cryptus*) pada Tanaman Sirsak (*Annona muricata*) [*Tesis*]. Program Study Pascasarjana Biologi. Universitas Lampung. Lampung.

Darmawati, A.A.S.K., Bawa, I.G.A, dan Suitra.I.W. 2015. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Golongan Flavonoid pada Daun Nangka (*Artocarpus heterophyllus* Lmk) dan Aktifitas Antibakteri terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Kimia*. 9 (2): 203-2010

Dinata. 2008. Basmi lalat dengan jeruk manis. Semarang, Restrieved from http//arda,studentsblog.indip.ac.id/2008. Diakses pada tanggal 16 Agustus 2018 pukul 20.00 Wib.

Hermawan, G.P. 2013. Ekstraksi Daun Sirsak (*Annona muricata L.)* Menggunakan Pelarut Etanol. *Jurnal Teknologi Kimia dan Industri.* Jurusan Teknik Kimia. Universitas Diponegoro, Tembalang, Semarang.

Kasumbogo, U. 2006. *Konsep Pengendalian Hama Terpadu*. Yogyakarta: Gajah Mada Press.

Kusuma, R.A dan Andarwulan, N. 2012.Aktifitas Antioksidan dan Ekstrak Buah Takokak (*Solanum torvum*).[*Skirpsi*] Bogor. Department of food Science and Technology Institusi Pertanian Bogor. Halaman 1-6.

Muizuddin, M dan Zubaidah, E. 2015. Studi Aktifitas Antibakteri Kefir Teh Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) dari Berbagai Merk Teh Daun Sirsak Dipasaran. *Jurnal Pangan dan Agroindustri. 3 (4): 1662 – 1672, September 2015*. Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, FTP Universitas Brawijaya Malang. Malang.

Neldawati, Ratnawulan dan Gusnedi. 2013. Analisi Nilai Absorbansi dalam Penentuan Kadar Flavonoid untuk Berbagai Jenis Daun Tanaman Obat. Jurusan Fisika. Universitas Negeri Padang. Jurnal fisika, 2 (76-83).

Nuari, S.,Anam, S., dan Khumaidi, A. 2017. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Ekstrak Etanol Buah Naga Merah (*Hylocereusw polyrhizus*) (F.A.C.Weber) Brinton & Rose). Jurnal farmasi. Fakultas MIPA, Universitas Tadulako. Palu.

Prijono, D. 2005. *Pemanfaatan dan Pengembangan Pestisida Nabati*.Makalah Seminar Ilmiah. Jurusan Proteksi Tanaman Fakultas Pertanian. Universitas Lampung.

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

Rimijuna, I., Yenie, E., Elystia, S. 2017. *Pembuatan Peptisida Nabati Menggunakan Metode Ekstraksi dari Kulit Jengkol dan Umbi Bawang Putih*. Program Studi Teknik Lingkungan S1. Fakultas Teknik Universitas Riau Kampus Binawidya. Pekan Baru.

Safitri, M. 2018. Penetapan Kadar Fenol dan Flavonoid Total serta Aktifitas Antioksidan Fraksi n-Butanol Umbi Tawas UT ( *Ampelocissus rubiginosa* Lauterb. ). [*Skirpsi*]. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Lambung Mangkurat,

Statistik Pertanian. 2014. *Statistik Produksi Holtikultura Tahun 2014*. Direktorat Holtikultura Kementerian Pertanian. Jakarta.

Suryani, C. NC., D. G., Mayun Permana. dan A.A.G.N. Anom Jambe. 2016. Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Kandungan total Flavonoid Dan Aktivitas Antioksidan Ekstra Daun Maota (*Pometia pinnata*). Program Studi Ilmu dan teknologi Pangan. Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Udayana. 4 (2) : 43-50.

Suparjo. 2008. Saponin, Peran dan Pengaruhmya bagi Ternak dan Manusia [*Karya Tulis Ilmiah*]. Fakultas Peternakan Universitas Jambi. Jambi

Tapas, A. R., Sakarkar, D. M., & Kakde R. B,. 2008. Flavonoids as Nutraceuticals. Tropical Journal of Pharmaceutical Research(3): 1089- 1099. Faculty of Pharmacy, University of Benin-Nigeria.

Wirasuta, M.A.G dan Niruri, R. 2006. *Toksikologi Umum*. Fakultas MIPA. Jurusan Farmasi. Universitas Udayana. Bali. Hal 66