

**PEMISAHAN DAN PENCIRIAN SENYAWA AKTIF DAUN
KEPAYANG DAN PENGARUHNYA PADA MORTALITAS
ULAT KUBIS INSTAR III**

INTAN PRATIDINA



**DEPARTEMEN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2008**

ABSTRAK

INTAN PRATIDINA. Pemisahan dan Pencirian Senyawa Aktif Daun Kepayang dan Pengaruhnya Pada Uat Kubis Instar III. Dibimbing oleh LATIFAH K. DARUSMAN dan DUDI TOHIR.

Senyawa aktif pada daun kepayang (*Pangium edule*) diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan pelarut metanol. Ekstrak metanol daun kepayang memiliki nilai LD₅₀ 1,47 %. EM difraksinasi menggunakan kromatografi lapis tipis dengan campuran kloroform:diklorometana (2,5:1) sebagai eluen. Fraksinasi EM menghasilkan tujuh fraksi. Fraksi V dan VII menunjukkan aktivitas insektisida tertinggi, yaitu sebesar 92,59 %, dan 85,19 %. Hasil uji fitokimia fraksi VII menunjukkan hasil positif terhadap alkaloid. Spektrum inframerah menunjukkan serapan dari C-N, N-H, C=O, C-H, dan \equiv C. Fraksi VII memiliki panjang gelombang maksimum 210 dan 260 nm.

ABSTRACT

INTAN PRATIDINA. Separation and Characterization Of Active Compound From Kepayang Leaves and Its Effect to Cabbage Pest Instar III. Supervised by LATIFAH K DARUSMAN and DUDI TOHIR.

Active compound of Kepayang leaves (*Pangium edule*) were extracted by maceration method using methanol. EM had activity using mortality test with LD₅₀ value 1,47 %. EM was separated using thin layer chromatography method with mixture of chloroform:dichloromethane (2,5:1) as the mobile phase. Separation of EM resulted 7 fractions. Fraction V and VII showed higher insecticide activity, i.e 92,59 %, and 85,19 %. Phytochemical test result of fraction VII showed positive result to alkaloids. Infrared spectrum showed absorptions of C-N, N-H, C=O, C-H, and \equiv C. Fraction VII had maximum wavelength of 210 and 260 nm.

**PEMISAHAN DAN PENCIRIAN SENYAWA AKTIF DAUN
KEPAYANG DAN PENGARUHNYA PADA MORTALITAS
ULAT KUBIS INSTAR III**

INTAN PRATIDINA

Skripsi
Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains pada
Departemen Kimia

**DEPARTEMEN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2008**

Judul Skripsi : Pemisahan dan Pencirian Senyawa Aktif Daun Kepayang dan Pengaruhnya Pada Mortalitas Ulat Kubis Instar III

Nama : Intan Pratidina

NIM : G44202054

Menyetujui:

Pembimbing I

Pembimbing II

Prof. Dr. Ir. Latifah K. Darusman, MS
NIP 130536681

Drs. Dudi Tohir, MS
NIP 131851277

Mengetahui:

Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Institut Pertanian Bogor

Dr. Drh. Hasim, DEA
NIP 131578806

Tanggal Lulus:

PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga karya ilmiah ini berhasil diselesaikan. Shalawat serta salam semoga tercurah kepada manusia termulia, Muhammad SAW. Tema yang dipilih dalam penelitian yang dilaksanakan sejak bulan Mei 2006 sampai dengan Juli 2007 ini adalah insektisida nabati, dengan judul **Pemisahan dan Pencirian Senyawa Aktif Daun Kepayang dan Pengaruhnya Pada Mortalitas Ulat Kubis Instar III.**

Terimakasih penulis ucapkan kepada Dra. Tuti Setiawati, MS (almh.) sebagai pembimbing pertama, kemudian digantikan oleh Prof. Dr. Ir. Latifah K. Darusman. Penulis juga mengucapkan terimakasih kepada Dudi Tohir, MS sebagai pembimbing kedua, serta kepada Zulhan S.Si dan Wulan Triwahyuni S.Si yang telah banyak memberikan saran. Terima kasih juga penulis ucapkan kepada Bagian Kimia Analitik atas bantuan pendanaan penelitian ini.

Penghargaan juga penulis sampaikan kepada Bapak Suherman, serta seluruh staf Laboratorium Kimia Analitik IPB, Bapak Agus, Mba Ika, Dias, Novia, Titis, Indah, Uun, Nana, Ka Andrian dan Ratih atas bantuannya dalam pelaksanaan penelitian dan penyusunan skripsi. Ungkapan terimakasih juga disampaikan kepada ayah, ibu, dan seluruh keluarga atas doa, kasih sayang, dan dorongan moril yang telah diberikan, dan juga kepada teman-teman kimia 39 atas dukungan dan bantuannya.

Semoga karya ilmiah ini bermanfaat.

Bogor, Februari 2008

Intan Pratidina

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Cilacap, 13 Januari 1985 sebagai anak pertama dari 4 bersaudara dari pasangan Tursino dan Siti Susilowati, SPd.

Penulis menyelesaikan sekolah di SMU N 6 Bogor pada tahun 2002 dan pada tahun yang sama lulus seleksi masuk IPB melalui jalur Undangan Seleksi Masuk IPB. Penulis memilih Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.

Selama perkuliahan, penulis pernah menjadi asisten praktikum Kimia Dasar TPB tahun ajaran 2003/2004, Spektrofotometri D3 Analisis Kimia tahun ajaran 2004/2005, Kimia Analitik IV S1 Kimia tahun ajaran 2004/2005, Teknik Uji Hayati D3 Analisis Kimia tahun ajaran 2005/2006, Kimia Lingkungan S1 tahun ajaran 2005/2006, Kimia Analitik Dasar D3 Analisis Kimia tahun ajaran 2006/2007, Kimia Lingkungan D3 Analisis Kimia tahun ajaran 2006/2007, Kimia Dasar D3 tahun ajaran 2007/2008, Pengenalan Bahan D3 Analisis Kimia tahun ajaran 2007/2008, dan Kimia Fisik D3 Analisis Kimia tahun ajaran 2007/2008. Penulis juga pernah mengikuti Praktik Kerja Lapangan (PKL) di Laboratorium Kimia dan Biokimia, Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian (BB BIOGEN) selama periode bulan Juni sampai dengan Agustus 2005, dan menulis laporan ilmiah berjudul "Ketidakpastian Metode Analisis Kation Di dalam Tanah".

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL.....	viii
DAFTAR GAMBAR.....	viii
DAFTAR LAMPIRAN.....	viii
PENDAHULUAN	1
TINJAUAN PUSTAKA	
Kepayang (<i>Pangium edule</i> Reinw.)	1
Manfaat dan Kandungan Kimia Kepayang	2
Hasil Penelitian Sebelumnya Mengenai Kepayang	2
Ulat Kubis (<i>Plutella xylostella</i>)	3
Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	4
Pencirian Senyawa.....	4
BAHAN DAN PROSEDUR	
Bahan dan Alat	4
Prosedur	5
HASIL DAN PEMBAHASAN	
Ekstrak	6
Hasil Pemisahan	7
Mortalitas EM Terhadap Ulat Kubis Instar III	8
Mortalitas Fraksi-fraksi Terelusi Terhadap Ulat Kubis Instar III	8
Pemisahan dengan KLT Dua-Dimensi	9
Pencirian Fraksi VII.....	9
SIMPULAN DAN SARAN	
Simpulan	10
Saran	10
DAFTAR PUSTAKA	10
LAMPIRAN.....	12

DAFTAR TABEL

	Halaman
1 Hasil Uji fitokimia ekstrak, daun kepayang segar dan kering	7
2 Fraksi-fraksi terelusi dengan KLT preparatif.....	8
3 Uji mortalitas fraksi-fraksi	9
4 Hasil pemisahan dengan KLT dua-dimensi	9
5 Interpretasi spektrum IR	10

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1 Daun kepayang.....	2
2 Telur ulat Kubis	3
3 Larva, pupa dan Imago ulat kubis.....	4
4 Spot pemisahan EM.....	7
5 Peningkatan Kematian larva karena peningkatan konsentrasi ekstrak pada hari ke-1 Sampai dengan hari ke-3	8

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1 Hasil uji mortalitas EM.....	13
2 Hasil uji mortalitas fraksi-fraksi	13
3 Kromatogram hasil pemisahan KLT dua-dimensi	14
4 Spektrum IR fraksi VII dalam pellet KBr.....	15
5 Spektrum UV fraksi VII dengan pelarut metanol	16

PENDAHULUAN

Pestisida nabati adalah pestisida yang bahan dasarnya berasal dari tanaman atau tumbuhan. Pestisida nabati sudah lama digunakan oleh petani, misalnya penggunaan perasan daun tembakau sebagai pestisida nabati sudah dipraktikkan sejak tiga abad yang lalu. Pestisida nabati menjadi tumpuan pengendalian hama pada masa itu. (Sudarmo 2005).

Pestisida nabati mulai ditinggalkan ketika ditemukan DDT pada tahun 1939 di Eropa. DDT kemudian digunakan secara meluas dan memicu munculnya pestisida sintetik. Penggunaan pestisida sintetik di lingkungan pertanian di satu pihak menguntungkan karena dapat menekan kerusakan hasil pertanian akibat organisme pengganggu tanaman (OPT), tetapi di lain pihak pestisida sintetik justru menimbulkan dampak negatif terhadap lingkungan (Badan Pengkajian Teknologi Pertanian 2000).

Terjadinya krisis moneter menyebabkan harga pestisida sintetik naik menjadi dua sampai dengan tiga kali lipat dari harga semula. Pestisida sintetik telah menyebabkan hama kebal terhadap pestisida, selain itu dosis penyemprotan yang berlebihan, dan penyemprotan pestisida yang dilakukan secara berulang-ulang menimbulkan pencemaran lingkungan. Berdasarkan catatan Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) setiap tahun terjadi keracunan pestisida antara 44.000 dan 2.000.000 orang di seluruh dunia, dan dari angka tersebut yang terbanyak terjadi di negara berkembang (Sekretariat Pelayanan Tani dan Nelayan (SPTN) 2003).

Salah satu alternatif yang dapat dilakukan untuk mengatasi masalah tersebut adalah dengan menggunakan pestisida nabati. Pestisida nabati memiliki keunggulan berupa harga yang relatif murah, dan dapat mengurangi pencemaran lingkungan (Sudarmo 2005).

Kepayang (picung) merupakan salah satu tanaman beracun yang dapat digunakan sebagai pestisida nabati (SPTN 2003). Penelitian tentang pestisida nabati dari tanaman kepayang telah dilakukan. Salah satunya adalah penelitian yang dilakukan oleh Nurmala (2005). Nurmala meneliti efektifitas ekstraksi dan fraksinasi senyawa aktif daun kepayang terhadap larva ulat kubis (*Plutella xylostella*) instar III. Berdasarkan hasil penelitian tersebut ekstrak metanol merupakan ekstrak yang paling mematikan, dan menghambat aktivitas makan larva. Fraksinasi

yang dilakukan oleh Nurmala menghasilkan 15 fraksi, dengan fraksi yang paling mematikan adalah fraksi III, dan fraksi yang paling menghambat aktivitas makan larva adalah fraksi VII. Fraksi III mengandung dua spot, sedangkan fraksi VII mengandung satu spot.

Pencirian terhadap fraksi yang paling menghambat aktivitas makan larva (fraksi VII) dalam pelarut metanol, menunjukkan serapan pada panjang gelombang 202 nm, 226 nm, 220 nm, dan 264 nm. Hasil interpretasi IR fraksi VII menunjukkan serapan dari N-H, C-N, =CH, dan C=C.

Fraksi III, yaitu fraksi yang paling mematikan larva belum dapat dicirikan, karena pada kromatogram diketahui fraksi ini masing mengandung dua spot. Baik fraksi VII maupun fraksi III belum dilakukan uji fitokimia untuk menduga kandungan metabolit sekunder fraksi aktif. Uji ini penting dilakukan untuk menentukan metabolit sekunder penyebab efek racun atau efek yang bermanfaat dari fraksi (Harborne 1996).

Berdasarkan hasil penelitian Nurmala tersebut, maka perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk memisahkan dan mencirikan senyawa aktif yang paling mematikan terhadap ulat kubis instar III. Pencirian yang dilakukan meliputi uji fitokimia, interpretasi spektrum UV dan IR, untuk mengetahui ciri dari senyawa aktif daun kepayang yang paling mematikan larva instar III. Penelitian bertujuan memisahkan dan mencirikan senyawa aktif ekstrak metanol daun kepayang yang paling mematikan larva ulat kubis instar III.

TINJAUAN PUSTAKA

Kepayang (*Pangium edule* Reinw.)

Kepayang merupakan tanaman yang berasal dari jenis *Pangium edule*, dengan klasifikasi botani sebagai berikut:

Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Bangsa	: Cistales
Suku	: Flacourtiaceae
Marga	: Pangium
Jenis	: <i>Pangium edule</i> Reinw.

(Warintek 2006)

Tanaman ini merupakan tanaman yang tumbuh menahun, dan mulai berbuah di awal musim hujan pada umur 15 tahun, dengan

jumlah buah 300 di setiap pohonnya. kepayang memiliki beberapa nama sesuai daerah tempat tanaman ini berada. Dalam Bahasa Indonesia disebut kepayang, pangi (Melayu), pucung (Jakarta), hapesong (Sumatera Utara), kapayang, lapencuang, kapecong dan simoung (Minangkabau), picung (Jawa Barat), kluwak (Jawa Tengah), pangi (Bali dan Bugis), dan kalowa (Sumbawa dan Makassar) (Depkes 2006).

Tanaman kepayang memiliki tinggi antara 18 m dan 40 m. Batang tanaman ini berkayu dan berbentuk bulat dengan cabang muda berambut serta berwarna putih. Ciri fisik lain dari tanaman ini adalah ujung daun berbentuk runcing, pangkal daun tumpul, tepi daun berbentuk rata dengan pertulangan menjari, dan daun berwarna hijau (Gambar 1). Bunga kepayang merupakan bunga majemuk, panjang kelopak antara 1 cm dan 2 cm. Mahkota bunga berbentuk oval dan memiliki panjang 5 cm sampai dengan 8 cm. Tangkai bunga memiliki rambut, dan berwarna hijau muda.



Gambar 1 Daun kepayang

Akar tanaman kepayang merupakan akar tunggang yang berwarna kuning. Buah kepayang memiliki ciri berupa bentuknya yang bulat telur. Diameter buah antara 10 cm dan 25 cm, dan berwarna cokelat, sedangkan bijinya bersifat keras dan berwarna cokelat (Warintek 2006).

Manfaat dan Kandungan Kimia Kepayang

Daging biji Kepayang dikenal bermanfaat sebagai bumbu masakan, dan pengawet alami ikan segar (Shaleh 2006), sedangkan daun kepayang berguna sebagai obat cacung kremi dan penawar keracunan makanan (Warintek 2006). Kepayang diketahui memiliki kandungan asam sianida yang tinggi, baik pada bagian batang, daun, dan buahnya. Asam sianida bersifat racun, akan tetapi mudah dihilangkan karena sifatnya yang larut dalam air dan menguap pada suhu 26 °C. (Heyne 1987). Asam sianida dalam jaringan tanaman diperoleh dari hasil hidrolisis enzim

atau non enzim dari glikosida sianogen (Harborne 1996). Daging biji buah kepayang mengandung Saponin, flavonoid, dan polifenol (Warintek 2006).

Hasil Penelitian Sebelumnya Mengenai Kepayang

Beberapa penelitian mengenai potensi insektisida dari bagian tanaman kepayang telah dilakukan. Rusman (2002) melakukan penelitian aktivitas insektisida dari daun kepayang terhadap larva ulat grayak (*Spodoptera litura*). Hasil penelitian ini adalah ekstrak daun kepayang segar dalam heksana merupakan ekstrak yang paling mematikan dan menghambat aktivitas makan larva dengan nilai LD₅₀ sebesar 6,95 % dan penghambatan aktivitas makan 87,23 %.

Berdasarkan penelitian Yunita (2004) metanol merupakan pelarut terbaik untuk mengekstrak daging biji kepayang dengan cara maserasi, sedangkan pelarut heksana dan kloroform baik untuk ekstraksi dengan cara sokletasi. Ekstrak metanol merupakan ekstrak teraktif terhadap larva *Artemia salina* dengan nilai LD₅₀ 274,26 ppm.

Menurut Nazarwati (2005), air adalah pelarut terbaik untuk mengekstrak daging buah kepayang dengan rendemen 10,35 %. Ekstrak metanol memiliki nilai mortalitas dan penghambat aktivitas makan ulat kubis terbesar, yaitu sebesar 53,33 % dan 77,68 % pada konsentrasi ekstrak 10 %. Pemisahan dengan kromatografi lapis tipis preparatif menggunakan eluen metanol, kloroform, dan butanol dengan perbandingan 1:9:0,05 menghasilkan 9 fraksi. Berdasarkan uji fitokimia, fraksi IV positif mengandung alkaloid. Hasil ini di dukung oleh hasil spektrofotometer IR yang menunjukkan serapan dari O-H, N-H, C-O, C-N, dan C-H. Pencirian dengan spektrofotometer UV dalam pelarut metanol menunjukkan serapan pada panjang gelombang 204,8 nm.

Berdasarkan penelitian Sulistiyani (2005) ekstrak metanol daging biji kepayang merupakan ekstrak yang paling aktif terhadap penghambatan makan (74,13 %) dan mortalitas larva ulat kubis instar III (LD₅₀ 6,46 %). Pemisahan dengan KLTP dan eluen metanol:kloroform:butanol (1:9:0,05) menghasilkan 6 fraksi. Fraksi I adalah fraksi yang paling mematikan larva (LD₅₀ 40 %). Fraksi VI memberikan aktivitas hambat makan terbesar, yaitu 42,17 %. Menurut uji fitokimia baik fraksi I maupun fraksi VI positif

mengandung alkaloid. Hasil ini sesuai dengan interpretasi spektrum IR yang mencirikan serapan dari O-H, C-O, N=O, C=C, dan C-N, sedangkan fraksi VI menunjukkan serapan O-H, C-O, C=O, N-H, dan C-N. Hasil spektrofotometer UV dalam pelarut metanol fraksi I memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang 202 nm, dan fraksi VI memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang 208 nm.

Menurut Nulhakim (2005) ekstrak heksana adalah ekstrak terbaik terhadap mortalitas dan menghambat makan ulat grayak. Fraksinasi dengan teknik kromatografi kolom menghasilkan 9 fraksi dengan fraksi II adalah fraksi teraktif. Hasil uji kemurnian dengan KLT dua dimensi menunjukkan spot tunggal dari fraksi II. Berdasarkan uji fitokimia fraksi II positif mengandung alkaloid yang didukung oleh adanya serapan -CONH-, C-N, C-O, N-H, C=O, -C-H, H-C-H, dan benzena substitusi *orto* dari spektrum IR. Pencirian dengan spektrofotometer UV dalam pelarut heksana menunjukkan panjang gelombang maksimum pada 242 nm dan serapan tambahan pada 268 nm dan 280 nm.

Ekstrak heksana daging buah kepayang segar adalah ekstrak terbaik untuk uji mortalitas dan penghambatan makan ulat grayak. Pemisahan dengan eluen kloroform: *n*-heksana (1:1) menghasilkan tujuh fraksi. Fraksi V adalah fraksi teraktif. Panjang gelombang maksimum fraksi V dalam pelarut heksana menunjukkan serapan pada panjang gelombang 218 nm, 234 nm, 268 nm, dan 284 nm. Pencirian spektrum IR menunjukkan serapan dari N-H, C-H aromatik, C-H aldehyd, C≡C, C=O aldehyd, -CH₃, -CH₂-, dan -C-N dari suatu amina aromatik (Arif 2006).

Ulat Kubis (*Plutella xilostella*)

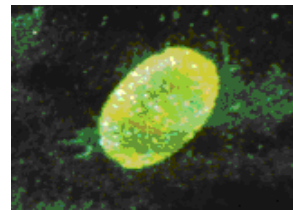
Ulat kubis termasuk ke dalam ordo Lepidoptera dari famili Plutelliade dengan nama sinonim *P. marculipenis* dan *P. cruceferarum*. (Kalshoven, 1981 dalam Winarto Loso dan Darmawati Nazir 2004). Menurut Tarumingkeng (2001) ulat kubis memiliki klasifikasi sebagai berikut,

Filum : Arthropoda
 Kelas : Insecta
 Ordo : Lepidoptera
 Famili : Plutellidae
 Genus : Plutella
 Spesies : *Plutella xylostella* Linnaeus.

Serangga ini pertama kali dikenal di Eropa, kemudian mulai menyebar ke wilayah Amerika, Asia Tenggara, Australia, dan New Zeland (Capinera 2006). Serangga ini bersifat oligofag, artinya hanya menyerang tanaman tertentu saja, yaitu tanaman *Cruciferae*. Larva hama ini menyerang tanaman pada masa krop (fase saat daun mulai melengkung ke atas dengan sangat rapat), seperti pada tanaman kubis, lobak, dan sayuran hijau seperti kangkung dan bayam (Phillips 2007).

Ulat kubis berkembang melalui metamorfosis sempurna dengan empat stadium hidup, yaitu telur, larva, pupa, dan imago. Perkembangan Ulat ini mulai dari telur sampai pupa membutuhkan waktu 25-30 hari atau 17-51 hari pada daerah dengan cuaca lebih panas (Capinera 2006).

Telur Ulat Kubis berwarna kuning terang, berbentuk oval dengan panjang sekitar 0,44 mm dan panjang 0,26 mm. Telur-telur serangga ini umumnya terletak secara bergerombol hingga dua atau tiga kelompok dalam setiap permukaan bagian atas atau bawah daun (Gambar 2). Telur akan menetas dalam 5-10 hari (Andaloro dan Baker 1983).



Gambar 2 Telur Ulat Kubis.

Ulat kubis berukuran kecil dan sangat aktif (Gambar 3 a). Ulat ini hidup dan berkembang pada suhu 10-40 °C, sedangkan serangga dewasa dapat hidup pada suhu sampai dengan 50 °C. Larva instar I berlangsung selama tiga hari pada musim panas dan 3-4 hari pada musim hujan dan 4-5 hari pada musim dingin. Ulat pada instar II berlangsung selama dua hari pada musim hujan dan 4-5 hari pada musim dingin (Chelliah dan Srivinasan 2007). Panjang tubuh ulat instar I kurang dari satu mm sedangkan ulat instar II mencapai 1,7 mm. Larva instar I dan II berwarna kuning terang, berambut pendek dan halus serta berkepala hitam (Chondoro dan Kuhar 2005).

Ulat kubis instar III dan IV berwarna hijau dengan rambut pendek dan halus, kepala berwarna kuning terang dengan bintik hitam di ujung kepalanya. Larva instar III memiliki

panjang 3,5 mm, sedangkan larva instar IV dapat mencapai 11,2 mm (Capinera 2006). Ulat instar III mulai aktif dan banyak merugikan, ulat bisa habis memakan daun, sehingga yang tersisa hanya bagian epidermis dan tulang daun. Larva instar III berlangsung selama dua hari pada musim panas dan hujan, serta 2-3 hari pada musim dingin. Ulat instar IV bergerak lebih lambat dibandingkan dengan ulat instar III. Ulat pada tahap perkembangan ini memakan seluruh bagian daun, sehingga yang tersisa hanya tulang-tulang daun saja. Ulat instar IV berlangsung selama dua hari pada musim panas, 2-3 hari pada musim hujan dan 3-4 hari pada musim dingin (Chelliah dan Srivinasan 2007).

Pupa ulat kubis tinggal di dalam kokon dengan panjang sekitar 7-9 mm. Pupa awalnya berwarna hijau (Gambar 3) pada awal fase kemudian berubah menjadi hitam kecokelatan pada akhir fase pupa. Fase pupa berlangsung selama sekitar 5-15 hari. Ulat dewasa (imago) (Gambar 3) berukuran kecil, dengan panjang 6 mm, berwarna abu-abu cokelat, memiliki pita berwarna putih di bagian punggungnya, serta memiliki antena kecil di bagian kepalanya. Pada sayap depan serangga terdapat tiga titik segiempat yang menyerupai intan, sehingga di beberapa negara serangga ini dikenal dengan nama *diamondback moth*. Serangga dewasa hidup selama 12 sampai dengan 16 hari (Capinera 2006).



Gambar 3 Larva (a), pupa (b), dan imago (c) ulat kubis.

Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi adalah metode yang dapat digunakan untuk memisahkan dua atau lebih senyawa dalam suatu campuran. Kromatografi dapat diklasifikasikan berdasarkan cara pemisahannya, yaitu adsorpsi, partisi, pertukaran ion, dan penetrasi pori (Christian 2004).

Kromatografi lapis tipis (KLT) termasuk dalam kromatografi adsorpsi. Senyawa yang dipisahkan akan terjerap dalam fase diam berupa padatan atau ikut mengalir bersama fase gerak yang berwujud cair. Fase diam pada KLT umumnya disangga oleh pelat alumunium atau plastik. Hampir semua bahan

yang dapat digunakan sebagai fase diam dalam kromatografi kolom dapat digunakan sebagai fase diam pada KLT (Christian 2004).

Pencirian Senyawa

Pencirian dapat dilakukan dengan instrumen spektrofotometer Ultraviolet (UV), dan Inframerah (IR). Spektrofotometri UV berguna untuk mengidentifikasi adanya kromofor dalam suatu senyawa. Kromofor adalah suatu gugus yang mampu menyerap radiasi UV (Skoog *et al.* 2004). Sebagian besar molekul organik dan gugus fungsional mampu meneruskan atau menyerap sebagian radiasi elektromagnetik pada daerah UV dan tampak, yaitu pada panjang gelombang 190 nm-800 nm. Radiasi elektromagnetik yang diberikan pada suatu materi akan menyebabkan transisi tingkat energi elektronik antara orbital ikatan atau orbital pasangan bebas dan orbital anti ikatan. Perbedaan tingkat energi dari orbital dapat diketahui dari panjang gelombang yang diserap oleh molekul tersebut (Pavia *et al.* 2001).

Spektrofotometri IR adalah metode yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi gugus fungsi dari suatu senyawa. Daerah spektrum IR antara 4000 dan 400 cm^{-1} (panjang gelombang 0,25-25,00 μm). Daerah IR dibagi menjadi tiga berdasarkan daerah panjang gelombangnya, yaitu IR dekat (0,75-2,5 μm), IR tengah (1,50-25,00 μm), dan IR jauh (14,29-50,00 μm). Metode ini sangat baik untuk analisis kualitatif, karena hampir semua gugus fungsi dalam suatu molekul mampu menyerap radiasi IR (Skoog *et al.* 2004).

BAHAN DAN PROSEDUR

Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan adalah daun kepayang muda yang diambil dari pohon yang belum berbuah (umur pohon ± 10 tahun) di daerah Cimahpar, Bogor, ulat kubis instar III, KLT analitik silika gel GF₂₅₄, KLTP silika gel GF₂₅₄, pereaksi Mayer, Dragendorf, dan Wagner.

Alat-alat yang digunakan adalah alat-alat kaca, evaporator putar, Pelat kaca, FTIR dengan merk BIORAD Excalibur Series Type FTS 3000, dan Spektrofotometer UV merk Hitachi model U-2800.

Prosedur

Ekstraksi

Daun kepayang segar dikeringudarkan lalu dihaluskan. Daun kepayang halus ditimbang kemudian dimaserasi dengan metanol selama 24 jam. Filtrat disaring, dan disimpan. Proses ini diulang sebanyak lima kali. Filtrat dijadikan satu lalu dipekatkan dengan evaporator putar pada suhu 45 °C.

Uji Kualitatif Ekstrak Kasar (Harborne 1996)

Uji Keberadaan Glikosida Sianogen
Keberadaan glikosida sianogen dalam tumbuhan dideteksi dengan kertas pikrat. Kertas pikrat dibuat dengan mencelupkan kertas saring ke dalam larutan jenuh asam pikrat (2,4,6-trinitrofenol) yang telah dinetralkan dengan larutan NaHCO₃. Ekstrak ditempatkan dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan satu tetes akuades dan 2 tetes toluena, lalu tabung ditutup dan diinkubasi pada suhu 40 °C selama 2 jam. Perubahan warna dari kuning menjadi cokelat merah menunjukkan adanya HCN yang telah dibebaskan secara enzimatik, bila tidak terjadi perubahan warna maka inkubasi dilanjutkan selama 24-48 jam.

Uji Alkaloid Ekstrak daun kepayang sebanyak 0,1 g dilarutkan ke dalam 10 mL kloroform dan beberapa tetes NH₄OH, kemudian disaring ke dalam tabung reaksi tertutup. Ekstrak kloroform dalam tabung reaksi dikocok dengan 10 tetes H₂SO₄ 2 M, lalu lapisan asam dipisahkan dalam tabung reaksi yang lain. Lapisan asam diteteskan pada lempeng tetes, dan ditambahkan pereaksi Dragendrof, Mayer, dan Wagner. Uji menunjukkan hasil positif, jika menimbulkan endapan dengan warna berturut-turut merah jingga, putih, dan cokelat.

Uji Terpenoid dan Steroid Ekstrak daun kepayang sebanyak 0,1 g dilarutkan dalam 25 mL etanol panas (50 °C), kemudian disaring ke dalam piringan porselin dan diuapkan sampai kering. Residu ditambahkan eter dan ekstrak eter diteteskan ke dalam lempeng tetes lalu ditambahkan 3 tetes anhidrida asam asetat dan satu tetes asam sulfat pekat (Uji Lieberman-Buchard). Warna merah atau ungu menunjukkan adanya triterpenoid dan warna hijau atau biru menunjukkan adanya steroid.

Uji Saponin dan Flavonoid Ekstrak daun kepayang sebanyak 0,1 g dimasukkan ke dalam gelas piala, dan ditambahkan 100 mL air panas, lalu dibiarkan mendidih selama 5 menit, dan disaring. Uji saponin dilakukan dengan mengocok 10 mL filtrat dalam tabung reaksi tertutup selama 10 menit. Adanya saponin ditunjukkan dengan terbentuknya buih stabil. Uji flavonoid dilakukan dengan menambahkan 0,5 gram serbuk magnesium, 2 mL alkohol klorhidrat, dan 20 mL amil alkohol ke dalam 10 mL filtrat, lalu dikocok dengan kuat. Terbentuknya warna merah, kuning, dan jingga pada lapisan amil alkohol menunjukkan adanya flavonoid.

Uji Kuinon dan Tanin Ekstrak sebanyak 0,1 g ditambahkan dengan 100 mL air panas, dibiarkan mendidih selama 5 menit dan disaring. Ke dalam 10 mL filtrat ditambahkan beberapa tetes larutan NaOH 1 N. Warna merah yang terbentuk menunjukkan adanya kuinon. Sebanyak 0,1 gram ekstrak ditambahkan 100 mL air panas, lalu dididihkan selama 5 menit dan disaring. Sebagian filtrat ditambahkan larutan FeCl₃. Warna hitam kehijauan yang terbentuk menunjukkan adanya tanin.

Uji Mortalitas Larva *P. xylostella* (L.)

Uji mortalitas dilakukan dengan metode celup daun, yaitu dengan mencelupkan daun ke dalam bahan uji. Ekstrak daun kepayang dilarutkan dalam akuades, kemudian ditambahkan Tween-80 dan diencerkan untuk mendapatkan larutan dengan konsentrasi 0,1 %, 1 %, dan 10 % (b/v). Pengujian dilakukan pada beberapa taraf konsentrasi yang diharapkan dapat menyebabkan kematian larva uji pada kisaran 20-95 %.

Daun caisin dipotong berbentuk kotak dengan ukuran 3 x 3 cm², lalu potongan daun ini dicelupkan ke dalam ekstrak selama 5-10 detik, sebagai kontrol daun dimasukkan ke dalam pelarut, yaitu air dan Tween-80. Masing-masing daun dikeringudarkan, lalu dimasukkan ke dalam cawan Petri yang sudah dialasi kertas tisu dan berisi 10 ekor ulat kubis instar III. Setiap perlakuan diulang sebanyak 3 kali. Jumlah ulat yang mati dicatat setiap 24 jam. Uji ini dilakukan selama 72 jam (3 hari). Persen kematian dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$KT (\%) = ((Po - Pc) / (100 - Pc)) \times 100 \%$$

KT = kematian terkoreksi

Po = % kematian kumulatif pada perlakuan

Pc = % kematian kumulatif pada kontrol.

Pemisahan

Pemisahan dengan Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP) Pemisahan dilakukan pada pelat KLTP silika gel dengan ukuran 20 cm x 20 cm² dan tebal 0,75-0,80 mm. Eluen yang digunakan adalah eluen terbaik yang digunakan oleh Nurmala (2005) yaitu kloroform dan diklorometana (CHCl₃ dan CH₂Cl₂) dengan nisbah 2,5:1. Ekstrak kasar ditotolkan sebanyak 1 mL dari 0,1 g ekstrak pekat. Pelat KLTP tersebut selanjutnya dikembangkan dalam eluen terbaik hingga eluen mencapai jarak tertentu. Pelat KLTP diangkat lalu dikeringudarkan.

Cara visualisasi dilakukan melalui pengamatan di bawah sinar ultraviolet (UV). Pengumpulan komponen yang terpisah dilakukan dengan mengeruk adsorben menggunakan spatula. Hasil pengerukan tersebut dikumpulkan, kemudian diekstrak dengan metanol.

Pengujian Fraksi Aktif dengan KLT Analitik 2 Dimensi Fraksi aktif dilarutkan dalam metanol lalu ditotolkan ke dalam KLT analitik (9 x 9) cm², lalu dikeringudarkan. Elusi dilakukan dengan mencelupkan pelat ke dalam pelarut 1, yaitu CHCl₃:CH₂Cl₂ (2,5:1) kemudian dikering-udarkan. Pelat hasil elusi dengan pelarut 1 dikeringudarkan, lalu diamati di bawah lampu UV. Elusi dilanjutkan dengan memasukkan pelat hasil elusi dengan pelarut 1 ke dalam pelarut 2 (metanol, kloroform, dan *n*-Heksana) serta dalam pelarut campuran metanol dan kloroform dengan nisbah (MeOH:CHCl₃) 1:1, 1:2, 1:3, 2:1, dan 3:1. Pelat hasil elusi dengan pelarut 2 dikering-udarkan lalu diamati di bawah lampu UV.

Pencirian Fraksi Aktif

Fraksi aktif hasil pemisahan dicirikan dengan spektrofotometer ultraviolet (UV), dan FTIR. Pencirian dengan spektrofotometer IR dilakukan dengan mencampurkan fraksi VII dengan bubuk KBr. Campuran ini ditekan dalam suatu cakram bening yang bersih dan dibiarkan selama beberapa menit, sehingga terbentuk pellet dengan ketebalan tertentu.

Radiasi IR dilewatkan melalui pellet pada bilangan gelombang 4000-300 cm⁻¹.

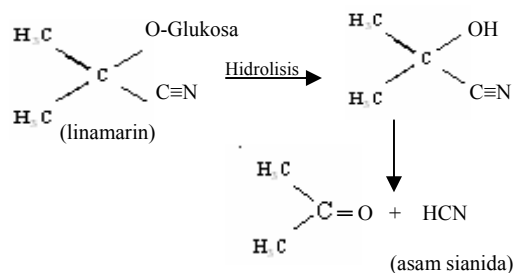
Pencirian dengan spektrofotometer UV dengan melarutkan fraksi aktif dengan pelarut metanol. Fraksi aktif kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang 200-800 nm. pengukuran dilakukan dengan menggunakan metanol sebagai blanko.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak

Ekstrak diperoleh dari mengekstraksi daun kepayang muda. Daun muda dipilih, karena daun kepayang muda telah diketahui memiliki efek racun yang lebih tinggi dibandingkan dengan daun yang tua (Burkill dalam Nulhakim 2005). Pengerian daun dilakukan pada suhu ruang untuk mencegah kerusakan senyawa atau hilangnya senyawa-senyawa yang mudah menguap. Hal ini tampak pada hasil uji fitokimia (Tabel 1), daun kepayang kering masih mengandung glikosida sianogen yang mudah terhidrolisis pada suhu ruang menghasilkan HCN yang juga mudah menguap, titik didih HCN 26 °C (Weast 1981 dalam Arif 2006). Hidrolisis dari glikosida sianogen ini menghasilkan asam sianida yang menimbulkan noda cokelat pada kertas pikrat.

Reaksi hidrolisis glikosida sianogen menurut Harborne (1996) adalah sebagai berikut,



Daun kepayang kering diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan pelarut metanol. Cara ini merupakan cara terbaik untuk menghasilkan ekstrak dengan aktivitas insektisida tertinggi terhadap ulat kubis instar III. Cara maserasi baik digunakan karena relatif tidak berpengaruh terhadap kestabilan zat-zat yang tidak tahan panas (Nurmala 2005).

Ekstrak metanol yang diperoleh memiliki bentuk fisik padat, dan sedikit lengket. Ekstrak yang lengket dapat disebabkan adanya kandungan lemak pada daun yang ikut

terekstraksi oleh metanol. Metanol mampu menembus intrasel tumbuhan, sehingga mampu mengekstraksi senyawa-senyawa dengan berbagai sifat kepolaran, termasuk lemak.

Tabel 1 Hasil uji fitokimia ekstrak, daun kepayang segar, dan kering

Metabolit Sekunder	Sampel Daun kepayang		EM DPK
	segar	kering	
Glikosida sianogen	+++	++	-
Alkaloid	+	+	+
Triterpenoid	-	-	-
Steroid	+	++	++
Tanin	-	+	+
Saponin	+	-	-
Flavonoid	-	-	-
Kuinon	-	-	-

* EM DKK : Ekstrak metanol daun kepayang kering

+ : menunjukkan jumlah secara kualitatif

- : menunjukkan hasil negatif

Rendemen ekstrak yang diperoleh sebesar 21,93 %. Nilai ini lebih rendah dari ekstrak metanol daun kepayang kering hasil penelitian Nulhakim (2005), yaitu sebesar 23,75 %. Rendemen hasil penelitian Nurmala (2005) jauh lebih rendah yaitu sebesar 5,49 %. Nilai yang berbeda dapat disebabkan beberapa faktor, salah satunya adalah waktu pengambilan sampel yang berbeda, sehingga mempengaruhi kadar air dan kandungan metabolit sekunder pada daun.

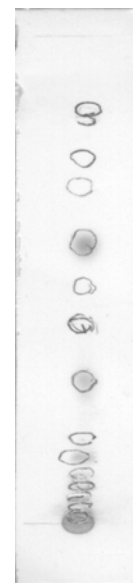
Daun kepayang untuk penelitian diambil pada musim hujan, pada musim hujan kandungan air dan klorofil daun lebih banyak dibandingkan dengan pada saat musim kemarau. Air dan klorofil merupakan komponen penting berlangsungnya fotosintesis yang menghasilkan metabolit primer, seperti karbohidrat dan metabolit sekunder. Akibatnya metabolit sekunder yang terdapat pada daun kepayang yang diambil pada musim hujan jauh lebih besar dibandingkan dengan daun yang diambil pada musim kemarau, sehingga rendemennya pun lebih besar.

Uji fitokimia ekstrak menunjukkan hasil positif terhadap alkaloid, steroid, dan tanin. Glikosida sianogen yang ada pada daun kepayang segar maupun kering tidak terdapat pada ekstrak. Hilangnya metabolit sekunder ini, disebabkan adanya proses pemanasan pada saat pemekatan ekstrak, yaitu pada suhu 45 °C. Berbeda dengan glikosianida sianogen, tanin yang awalnya tidak terdeteksi pada

sampel segar, menunjukkan hasil positif pada daun kering dan ekstrak. Senyawa metabolit sekunder pada daun kepayang segar diduga terikat pada sel daun, sehingga pada saat dilakukan uji fitokimia terhadap daun segar senyawa-senyawa tersebut belum lepas dari selnya. Proses pemanasan dan ekstraksi dapat membebaskan beberapa senyawa, sehingga senyawa-senyawa yang awalnya tidak terdeteksi dapat terdeteksi.

Hasil Pemisahan

Pemisahan dilakukan dengan menggunakan eluen CHCl_3 dan CH_2Cl_2 (2,5:1), eluen ini merupakan eluen terbaik berdasarkan hasil penelitian Nurmala (2005). Berdasarkan hasil pemisahan dengan KLT analitik, eluen ini mampu memisahkan 15 spot (Gambar 4). Baik kloroform maupun diklorometana termasuk senyawa dengan polaritas yang rendah, walau demikian kloroform dan diklorometana memiliki efek elusi yang cukup kuat terhadap fase diam (silika gel). Tabel 1 menunjukkan hasil pemisahan dengan KLT preparatif dari ekstrak metanol. Rendemen ekstrak diperoleh dengan cara memisahkan 0,6 g ekstrak metanol dalam 6 plat KLT preparatif. Fraksi yang diperoleh sebanyak tujuh fraksi dengan rendemen keseluruhan yang terpisah sebesar 5,63 %. Fraksi yang tidak terpisah sebanyak 8 fraksi (Gambar 4), yaitu fraksi dengan nilai R_f 0,28; 0,25; 0,19; 0,18; 0,15; 0,1; 0,06; dan 0,03 memiliki rendemen sebesar 94,37 %.



Gambar 4 Spot pemisahan EM.

Tabel 1 Fraksi-fraksi terelusi oleh KLT preparatif

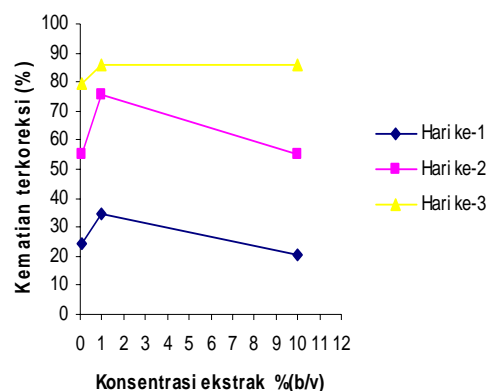
Nomor fraksi	R _f	Warna	Rendemen (% b/b)
I	0,96	kuning	1,22
II	0,88	Biru (lampu UV)	0,59
III	0,74	Biru (lampu UV)	1,10
IV	0,51	Hijau kekuningan	0,68
V	0,48	Hijau tua	1,18
VI	0,41	Hijau kekuningan	0,83
VII	0,32	Biru (lampu UV)	0,03

Eluen CHCl₃ dan CH₂Cl₂ (2,5:1) bersifat lebih polar dibandingkan dengan fase diam. Pergerakan dari senyawa dipengaruhi oleh polaritas senyawa-senyawa yang akan dipisahkan. Polaritas eluen akan melemahkan interaksi antara senyawa dengan fase diam, sehingga senyawa dapat bergerak bersama eluen. Senyawa paling polar akan lebih mudah terbawa eluen, karena interaksinya dengan eluen akan lebih kuat dibandingkan dengan senyawa-senyawa yang kepolarannya lebih rendah. Senyawa-senyawa yang polaritasnya lebih rendah akan lebih lambat terbawa oleh eluen. Spot yang paling dekat dengan garis akhir elusi, yaitu spot 1 (Tabel 1) memiliki sifat yang lebih polar dibandingkan dengan senyawa-senyawa yang terkandung dalam spot yang lain.

Mortalitas EM Terhadap Ulat Kubis Instar III

Uji Mortalitas ekstrak metanol daun kepayang kering dilakukan selama 72 jam. waktu uji ini dilakukan berdasarkan waktu yang dibutuhkan ulat instar III untuk berkembang sampai dengan menjadi pupa. Uji dilakukan pada ulat instar III, karena pada tahap ini ulat memiliki aktivitas makan yang besar. Ulat dipuaskan selama empat jam untuk menyeragamkan aktivitas makan ulat.

Konsentrasi ekstrak untuk uji adalah sebesar 0,1 %, 1 %, dan 10 % (b/v). Konsentrasi uji ini sesuai dengan yang telah dilakukan oleh Nurmala (2005). LD₅₀ yang diperoleh pada penelitian adalah sebesar 1,47 %. Hasil ini berbeda dengan nilai LD₅₀ hasil penelitian Nurmala (2005), yaitu sebesar 0,02 %. Nilai berbeda ini dapat disebabkan komposisi kandungan metabolit sekunder ekstrak pada saat penelitian berbeda dengan kandungan metabolit sekunder pada penelitian Nurmala (2005).



Gambar 5 Peningkatan kematian larva karena peningkatan konsentrasi ekstrak pada hari ke-1 sampai dengan hari ke-3.

Metanol merupakan pelarut yang mampu mengekstraksi senyawa-senyawa dengan berbagai sifat kepolaran, termasuk senyawa-senyawa yang terikat dalam sel-sel daun. Gambar 5 dan Lampiran 1 menunjukkan mortalitas tertinggi ulat disebabkan oleh ekstrak pada konsentrasi 1 %. Jumlah ulat yang mati pada ekstrak dengan konsentrasi 10 % lebih rendah dibandingkan dengan ekstrak 1 %. Beragamnya kandungan kimia pada ekstrak memungkinkan senyawa aktif insektisida berinteraksi dengan senyawa lain, sehingga aktivitasnya terhambat. Kondisi inilah yang menyebabkan ekstrak pada konsentrasi 10 % memiliki aktivitas yang lebih rendah dibandingkan dengan konsentrasi 1 %. Ekstrak dengan konsentrasi 10 % diduga mengandung lebih banyak senyawa-senyawa yang menghambat aktivitas senyawa aktif insektisida dibandingkan dengan konsentrasi 1 %.

Mortalitas Fraksi-Fraksi Terelusi Terhadap Ulat Kubis Instar III

Berdasarkan hasil uji mortalitas (Tabel 2 dan Lampiran 2), aktivitas insektisida fraksi-fraksi terelusi menunjukkan mortalitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak kasar. Mortalitas tertinggi ekstrak pada hari ke-3 adalah sebesar 86,21 %, sedangkan mortalitas fraksi yang tertinggi adalah sebesar 92,59 %, yaitu fraksi V. Mortalitas fraksi lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak karena pada fraksi senyawa-senyawa yang dapat menghambat senyawa aktif telah terpisah.

Tabel 2 Uji mortalitas fraksi-fraksi

Fraksi no	Jumlah Spot	% kematian terkoreksi hari ke-		
		1	2	3
Ktp	-	0	0	0
Kp	-	0	0	0
I	1	10,34	37,93	74,07
II	2	24,14	31,03	48,15
III	2	13,79	62,07	70,37
IV	9	6,897	48,28	70,37
V	8	58,62	68,97	92,59
VI	2	31,03	48,28	77,78
VII	1	41,38	65,52	85,19

*Ktp : Kontrol tanpa pelarut

Kp : Kontrol pelarut

Fraksi V dan VII adalah fraksi yang paling aktif terhadap mortalitas ulat kubis instar III. Fraksi VII menyebabkan mortalitas sebesar 85,19 %. Hasil pemisahan pada Tabel 1 dan 2 menunjukkan fraksi V terdiri atas 8 spot, sedangkan fraksi VII mengandung satu spot. Berdasarkan jumlah spot, fraksi VII dianalisis lebih lanjut. Fraksi V merupakan fraksi yang potensial untuk diuji lebih lanjut, karena nilai rendemen dan aktivitasnya tinggi. Banyaknya spot pada fraksi V dapat menyebabkan sinergi dari senyawa-senyawa pada fraksi. Sinergi ini sangat berpengaruh terhadap aktivitas insektisida. Pemisahan dari fraksi V diduga dapat menurunkan daya aktivitas insektisida fraksi V.

Pemisahan dengan KLT Dua-Dimensi

Pemisahan dengan KLT dua-dimensi dilakukan untuk menguji kemurnian dari fraksi terelusi. Teknik ini baik digunakan untuk memisahkan komponen-komponen yang memiliki kemiripan sifat sehingga sulit untuk dipisahkan. Eluen pertama pada pemisahan ini adalah kloroform dan diklorometana dengan nisbah $\text{CHCl}_3:\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (2,5:1).

Tabel 3 Hasil pemisahan KLT dua-dimensi

Eluen ke-2	R _f 1	R _f 2
MeOH	0,69	0,37
CHCl_3	0,63	0,73
<i>n</i> -Heksana	0,63	0,00
MeOH : CHCl_3 1:1	0,50	0,45
MeOH : CHCl_3 2:1	0,59	0,44
MeOH : CHCl_3 3:1	0,59	0,41
MeOH : CHCl_3 1:2	0,53	0,59
MeOH : CHCl_3 1:3	0,53	0,75

*R_f : Nisbah jarak tempuh senyawa terhadap jarak tempuh eluen

Hasil pemisahan (Lampiran 3) menunjukkan spot tetap tunggal dalam berbagai eluen. Pada pelarut *n*-heksana spot tidak menunjukkan adanya pergerakan dari senyawa oleh eluen. Pelarut *n*-heksana memiliki daya elusi sangat lemah. Sifat *n*-heksana yang lebih nonpolar dibandingkan fase diam menyebabkan eluen ini tidak cukup kuat untuk menarik senyawa yang terjerap pada fase diam. Baik metanol maupun kloroform memiliki kepolaran yang lebih tinggi dibandingkan dengan fase diam, sehingga senyawa yang terjerap pada fase diam akan lebih mudah untuk dialirkan oleh eluen. Kromatogram (Lampiran 3) menunjukkan adanya pergerakan spot dari pemisahan menggunakan eluen metanol, kloroform dan campuran kedua pelarut tersebut.

Nilai R_f 1 (Tabel 1), yaitu nisbah antar jarak tempuh senyawa terhadap jarak tempuh eluen ke-1 (campuran kloroform dan diklorometana (2,5:1)) menunjukkan pada eluen yang sama dan sampel yang sama terdapat perbedaan nilai R_f 1. Perbedaan ini dapat disebabkan adanya perbedaan jalur yang ditempuh oleh senyawa pada saat pemisahan, perbedaan jalur ini mengakibatkan satu spot dapat lebih cepat bergerak dan spot lainnya lebih lambat. Perbedaan pemilihan jalur ini dikenal dengan difusi eddy.

Pencirian Fraksi VII

Uji fitokimia fraksi VII menunjukkan hasil positif terhadap alkaloid. Intensitas yang rendah pada alkaloid baik pada daun kepayang segar dan kering maupun pada ekstrak metanol disebabkan jumlah alkaloid dalam tumbuhan umumnya berada dalam kadar yang sangat sedikit, yaitu kurang dari 1 % (Putra 2008). Alkaloid adalah kelompok senyawa bernitrogen. Adanya serapan dari N pada spektrum IR dapat mencirikan adanya senyawa golongan alkaloid pada fraksi.

Hasil dari uji fitokimia dikuatkan oleh hasil spektrofotometer IR (Lampiran 4). Hasil interpretasi spektrum IR (Tabel 4) menunjukkan adanya serapan tajam dan melebar pada bilangan gelombang 3500-3300 cm^{-1} , yaitu pada 3425 cm^{-1} yang menunjukkan uluran dari N-H, serapan tunggal dan tajam menunjukkan ciri dari amina sekunder. Serapan N-H ini diperkuat dengan adanya tekukan N-H pada daerah bilangan gelombang 1640-1560 cm^{-1} , yaitu pada 1646,41 cm^{-1} serapan pada bilangan gelombang 1646 ini juga menunjukkan uluran C=O dari suatu amida. Spektrum IR juga

menunjukkan adanya serapan dari C–N suatu amina aromatik pada bilangan gelombang 1388,20 cm^{-1} , dan uluran C–N alifatik pada bilangan gelombang 1075,81 cm^{-1} (Pavia *et al.* 2001). Hasil spektrofotometer UV dari fraksi VII dalam pelarut metanol (Lampiran 5) menunjukkan serapan maksimum pada panjang gelombang 210 nm dan 260 nm.

Tabel 4 Interpretasi spektrum IR

Bilangan gelombang (cm^{-1})	Intensitas	Interpretasi
3425,24	tajam	N–H, uluran
2923,40 dan 2853,49	sedang	C–H
2284	lemah	$\equiv\text{C}$, uluran
1646,41	sedang	N–H, tekukan, atau uluran C=O
1388,2	sedang	C–N
1075,81	sedang	C–N

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Ekstrak metanol daun kepayang kering memiliki rendemen 21,93 %. Mortalitas ekstrak diperoleh sebesar 1,47 %. Hasil pemisahan dengan KLT preparatif diperoleh tujuh fraksi, dengan fraksi teraktif adalah fraksi V, dan VII, nilai % kematian terkoreksi masing-masing fraksi adalah 92,59 %, dan 85,19 %. Berdasarkan hasil pemisahan kromatografi lapis tipis dua dimensi, fraksi VII mengandung 1 spot. Menurut uji fitokimia fraksi VII positif terhadap alkaloid. Hasil uji fitokimia ini dikuatkan oleh adanya serapan dari C–N, N–H, C=O, C–H, dan $\equiv\text{C}$ pada spektrum IR. Spektrofotometer UV fraksi VII memiliki panjang gelombang maksimum 210 dan 260 nm.

Saran

Perlu dilakukan pemisahan dengan kromatografi gas untuk menguji kemurnian dari fraksi VII. Senyawa murni fraksi VII dapat diidentifikasi dengan spektrofotometer MS dan NMR. Fraksi V dapat dianalisis lebih lanjut dan dicirikan senyawa aktifnya, karena nilai rendemen dan aktivitasnya tinggi terhadap mortalitas ulat kubis.

DAFTAR PUSTAKA

- Andoloro JT, Baker PB. 1983. Diamondback Moth (*Plutella xylostella* (Linnaeus)). *Vegetable Crops*. 751.20. <http://www.nysipm.cornell.edu/factsheets/vegetables/cruc/dm.pdf> [6 April 2006].
- Arif Z. 2005. Identifikasi Fraksi Daging Buah Picung (*Pangium edule* Reinw.) Yang Aktif Sebagai Insektisida Botani Terhadap Ulat Grayak (*Spodoptera litura* F. (Lepidoptera: Noctuidae)) [skripsi]. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.
- [BPTP] Badan Pengkajian Teknologi Pertanian. 2000. Pestisida Nabati. *Lembar Informasi Pertanian* 2000; 05. <http://www.softwarelabs.com> [18 Jan 2006].
- Christian GD. 2004. *Analytical Chemistry*. Hoboken: John Wiley and Sons.
- Capinera JL. 2006. Diamondback Moth, *Plutella xylostella* (Linnaeus) (Insecta: Lepidoptera: Plutellidae). *EENY*. 119. <http://edis.ifas.ufl.edu/pdf/IN/IN27600.pdf>. [7 Apr 2007].
- Chondoro RJ, Kuhar TP. 2005. Diamondback Moth in Virginia. *Entomology* 444-007.
- Chelliah S, Srivinasan K. 2007. Biology and Management of Diamondback Moth in India. <http://www.avrc.org/pdf/86dbm/86DBM07.pdf>. [7 Apr 2007]. <http://www.ext.vt.edu/pubs/entomology/444-007/444-007.pdf>. [6 April 2007].
- [Depkes] Departemen Kesehatan. 2006. Pengawet alami pengganti formalin sudah ada sejak dulu. [terhubung berkala]. <http://www.depkes.go.id/index.php?option=news&task=viewarticle&sid=1511&Itemid=2-20k> [21 Jan 2006].
- Heyne K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia*. Jilid III. Jakarta: Departemen Kehutanan.
- Harborne JB. 1996. Metode Fitokimia. Penuntun cara modern menganalisa tumbuhan. Padmawinata K dan I Sudiro, penerjemah. Bandung: Institut Teknologi Bandung. Terjemahan dari: *Phytochemical Methods*.

- Nurmala IM. 2005. Efektifitas ekstraksi dan fraksinasi senyawa aktif daun picung (*Pangium edule* Reinw.) dan pengaruhnya terhadap hama kubis (*Plutella xylostella* (L.)) (Lepidoptera: Yopnometidae) [skripsi]. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.
- Nulhakim L. 2005. Karakterisasi senyawa aktif daun picung (*Pangium edule* Reinw.) sebagai insektisida Botani terhadap ulat grayak (*Spodoptera litura* F.) (Lepidoptera: Noctuidae) [skripsi]. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.
- Nazarwati Y. 2005. Penapisan Ekstrak Daging Buah Picung (*Pangium edule* Reinw.) sebagai Insektisida Botani Terhadap *Plutella xylostella*. [skripsi]. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, institut Pertanian Bogor.
- Pavia DL, Kriz GS, Lampman GM. 2001. *Introduction to Spectroscopy*. Ed ke-3. Bellingham: Brooks/Cole Thomson Learning.
- Phillips PA. 2007. Diamodback Moth: A key pest of Cruciferous Crops. <http://www.ucce.ucdavis.edu/files/filelibrary/2028/23064.pdf>. [7 Apr 2007].
- Putra SE. 2008. Alkaloid: Senyawa organik terbanyak di alam. <http://www.chem-is-try.org/?sect=artikel&ext=125> [23 Jan 2008]
- Rusman. 2002. Penapisan Senyawa Insektisida dari Ekstrak Daun Picung (*Pangium edule* Reinw.) [skripsi]. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.
- Sulistiyani A. 2005. Ekstraksi dan identifikasi senyawa aktif daging biji picung dan uji aktivitas insektisida terhadap *Plutella xylostella* Linn. [skripsi]. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, institut Pertanian Bogor.
- Skoog DA, West DM, Holler FJ, Crouch SR. 2004. *Fundamentals Of Analytical Chemistry*. Belmont CA: Brook/Cole-Thomson Learning.
- Shaleh H. 17 Januari 2006. Picung, Pengawet alami ikan segar. [terhubung berkala]. http://www.suaramerdeka.com/suaramerdeka_cetak_/0305/19/ekonomi/314533.htm [17 Jan 2006].
- [SPTN] Sekretariat Pelayanan Tani dan Nelayan. 2003. Pestisida alami. http://www.sptn.or.id/article.php?action=lihat&isi_id=30-12k-vol7_1-set03. [18 Jan 2006].
- Sudarmo S. 2005. *Pestisida Nabati: Pembuatan dan Pemanfaatannya*. Yogyakarta: Kanisius.
- Tarumingkeng RC. 2001. Serangga dan lingkungan. http://www.tumoutou.net/SERANGGA_LINGK.htm. [1 Apr 2007].
- Warintek. 2006. *Pangium edule* Reinw. [terhubung berkala]. http://www.warintek.com/warintek/pdf_files/tanaman_obat/1-217 [30 Jan 2006].
- Winarto L, Nazir D. 2004. Teknologi pengendalian hama *Plutella xylostella* dengan insektisida dan agensia hayati pada kubis di Kabupaten Karo. *Jurnal Pengkajian dan Pengembangan Teknologi Pertanian* Vol.7, No.1:2733. http://bp2tp.litbang.deptan.go.id/file/vol7_1_set03.pdf. [6 Apr 2007].
- Yunita FC. 2004. Ekstraksi daging biji picung (*Pangium edule* Reinw.) dan uji toksisitas terhadap *Artemia salina* Leach. [skripsi]. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.

LAMPIRAN

Lampiran 1 Hasil uji mortalitas EM

konsentrasi ekstrak (%b/v)	Hari Uji									% kematian			% kematian terkoreksi (KT)		
	1			2			3			1	2	3	1	2	3
	1	2	3	1	2	3	1	2	3						
Ktp	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Kp	1	0	0	0	0	0	0	0	0	3,33	3,33	3,33	0	0	0
0,1	5	2	1	1	3	5	3	2	2	26,67	56,67	80,00	24,14	55,17	79,31
1	5	4	2	4	4	4	1	0	2	36,67	76,67	86,67	34,48	75,86	86,21
10	3	3	1	2	5	3	3	2	4	23,33	56,67	86,67	20,69	55,17	86,21

Lampiran 2 Hasil uji mortalitas fraksi-fraksi

Fraksi no	jumlah kematian hari ke-									% kematian			% kematian terkoreksi		
	1			2			3			1	2	3	1	2	3
	1	2	3	1	2	3	1	2	3						
Ktp	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Kp	0	1	0	0	0	0	1	0	1	3,33	3,33	10,00	0	0	0
I	2	1	1	3	4	1	3	4	4	13,33	40,00	76,67	10,34	37,93	74,07
II	4	2	2	2	0	0	0	4	2	26,67	33,33	53,33	24,14	31,03	48,15
III	1	1	3	4	7	3	1	0	2	16,67	63,33	73,33	13,79	62,07	70,37
IV	2	0	1	4	5	3	2	2	3	10,00	50,00	73,33	6,897	48,28	70,37
V	6	5	7	0	2	1	3	3	1	60,00	70,00	93,33	58,62	68,97	92,59
VI	3	2	5	3	2	0	3	5	1	33,33	50,00	80,00	31,03	48,28	77,78
VII	3	4	6	2	2	3	0	4	2	43,33	66,67	86,67	41,38	65,52	85,19

Contoh Perhitungan % kematian dan % kematian terkoreksi

Contoh Perhitungan % kematian dan % kematian terkoreksi: (0,1 %)

$$\begin{aligned} \% \text{ Kematian} &= \frac{\text{Jumlah larva yang mati}}{\text{Jumlah seluruh larva uji}} \times 100\% \\ &= (8/30) \times 100 = 26,67\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{KT} (\%) &= ((P_o - P_c) / (100 - P_c)) \times 100\% \\ &= ((26,67 - 3,33) / (100 - 3,33)) \times 100\% = 24,14\% \end{aligned}$$

KT = kematian terkoreksi

P_o = % kematian kumulatif pada perlakuan

P_c = % kematian kumulatif pada Kontrol.

Lampiran 3 Kromatogram hasil pemisahan KLT dua-dimensi

Eluen 1 : $\text{CHCl}_3:\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (2,5:1)

(a)

(b)

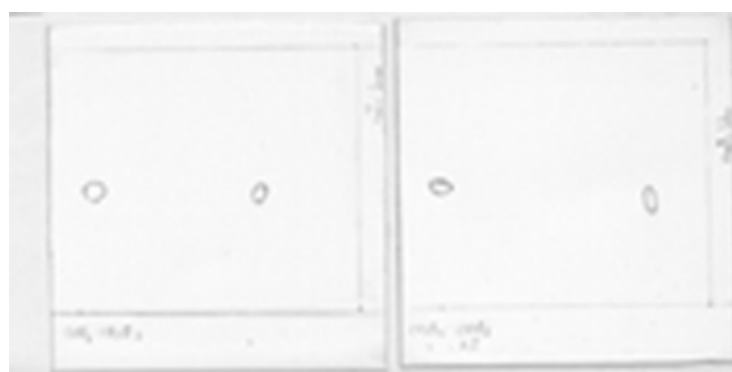
(c)



(d)

(e)

(f)



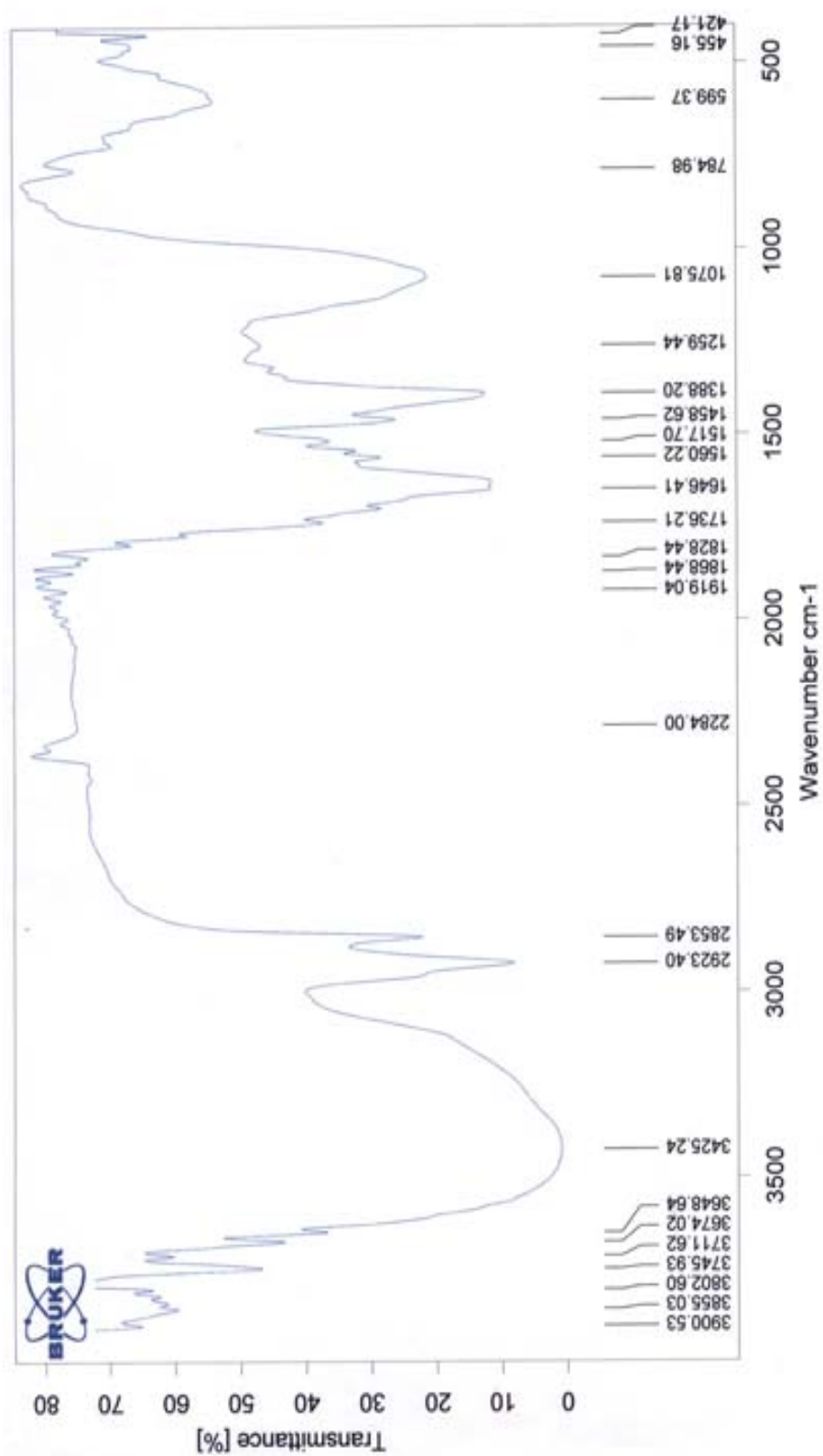
(g)

(h)

* a = Metanol (MeOH)
 b = Kloroform (CHCl_3)
 c = *n*-Heksana
 d = $\text{MeOH} : \text{CHCl}_3$ 1:1
 e = $\text{MeOH} : \text{CHCl}_3$ 2:1

g = $\text{MeOH} : \text{CHCl}_3$ 1:2
 h = $\text{MeOH} : \text{CHCl}_3$ 1:3
 f = $\text{MeOH} : \text{CHCl}_3$ 3:1

Lampiran 4 Spektrum IR fraksi VII dalam pellet KBr



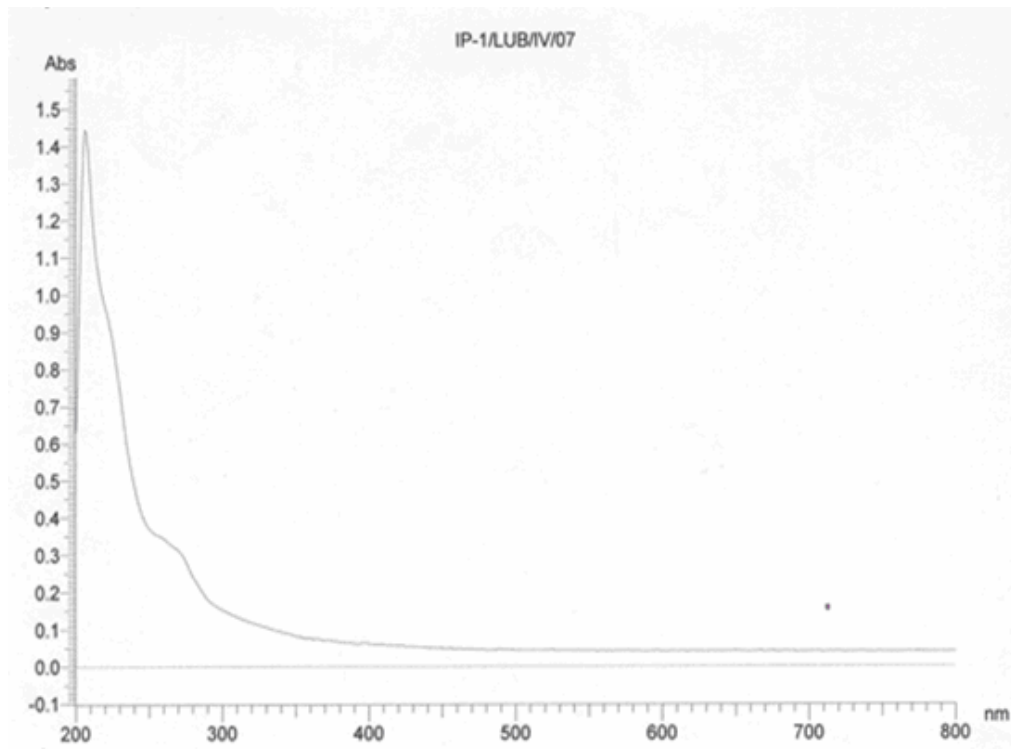
31/05/2007

PADATAN

IP-1-LUB-V-07

C:\OPUS\DATA\PENELITIAN\PRAKTIKUM ANIS\28 05 07\IP-1-LUB-V-07.0

Lampiran 5 Spektrum UV fraksi VII dengan pelarut metanol



Kecepatan scan : 200 nm/menit
Panjang gelombang awal : 800,0 nm
Panjang gelombang akhir : 200,0 nm
Interval pengukuran panjang gelombang : 10,0 nm