

Dr. Weny J. A Musa, M.Si.

ideas
PUBLISHING

TANAMAN TOMBILI *Sebagai Pestisida Nabati*

TANAMAN TOMBILI

Sebagai Pestisida Nabati



ideas
PUBLISHING

Jl. Gelatik No. 24 Kota Gorontalo
e-mail: infoideaspublishing@gmail.com
Telp/faks. 0435-830476

ISSN 978-602-6626-26-6



TANAMAN TOMBILI

Sebagai Pestisida Nabati

Dr. Weny J. A Musa, M.Si.

BAB I

PENDAHULUAN

Keanekaragaman tanaman, menghasilkan berbagai senyawa metabolit sekunder. Ahli kimia organik berpendapat bahwa metabolit sekunder adalah bahan alam yang terpenting dalam kehidupan. Bahan alam selalu menarik perhatian para ahli kimia dan biologi. Hal ini yang menimbulkan tantangan bagi ahli kimia organik bahan alam untuk mengisolasi, mensintesis serta menguji bioaktivitas terhadap senyawa hasil isolasi (Manitto,1992) salah satu bioaktivitas yang dihasilkan oleh tanaman sebagai pestisida.Oleh karena itu penelitian tentang kimia bahan alam sangat diperlukan untuk menambah pengetahuan guna memanfaatkan tanaman demi kepentingan umat manusia.

Pestisida nabati memiliki beberapa fungsi, antara lain: repelant; menolak kehadiran serangga, misalnya dengan bau yang menyengat, antifidant;mencegah serangga makan tanaman yang disemprot, merusak perkembangan telur, larva, menghambat reproduksi serangga betina, racun syaraf, mengacaukan sistem syaraf di dalam tubuh serangga, pemikat serangga, yang dapat dipakai sebagai perangkap serangga, mengendalikan jamur atau bakteri (Kadja,2011).

Penggunaan pestisida nabati ini diharapkan dapat menekan populasi hama yang menyerang tanaman tanpa mematikan hama. Namun, penggunaan pestisida ini kadang (sangat jarang) mematikan hama tetapi hanya menyebabkan toksin pada hama tersebut seperti racun perut, pengurang nafsu makan hama dan lain-lain. Tombili, merupakan salah satu jenis tanaman yang mempunyai peluang untuk digunakan sebagai pestisida nabati karena banyak mengandung metabolit sekunder.

Tanaman ini merupakan jenis tanaman semak berduri yang tersebar secara luas terutama di India, Srilangka, dan Kepulauan Andaman dan Nicobar (Sing, 2012).

Salah satu tanamanyang mengandung metabolit sekunder adalah *Caesalpinia bonduc* (L.)Roxb. mengandung metabolit sekunder. Masyarakat Gorontalo mengenal tanaman ini dengan nama tombili. Namun, kebanyakan masyarakat di Indonesia belum mengetahui khasiat daripada tanaman ini sendiri.

Caesalpinia bonduc (L.) Roxb.adalah tanaman obat yang tergolong dalam family *Caesalpinaceae*. Tanaman ini merupakan jenis tanaman semak berduri yang tersebar secara luas di seluruh dunia terutama di India, Sri Lanka, dan Kepulauan Andaman dan Nicobar, India khusus ditemukan di daerah tropis.Dalam tanaman obat tradisional India, telah dianggap sebagai obat penting bagi pengobatan beberapa penyakit(Singh dan Raghav, 2012). Masyarakat memanfaatkan tanaman *C. bonduc*(L.)Roxb secara tradisional sebagai obat malaria. Selain itu, beberapa petani tradisional di Gorontalo memanfaatkan tumbuhan ini sebagai pestisida nabati khususnya untuk mengatasi hama pada tanaman padi.

Penggunaan pestisida nabati ini diharapkan dapat menekan populasi hama yang menyerang tanaman tanpa mematikan hama. Namun, penggunaan pestisida ini kadang (sangat jarang) mematikan hama tetapi hanya menyebabkan toksin pada hama tersebut seperti racun perut, pengurang nafsu makan hama dan lain-lain. Tombili, merupakan salah satu jenis tanaman yang mempunyai peluang untuk digunakan sebagai pestisida nabati karena banyak mengandung metabolit sekunder. Tanaman ini merupakan jenis tanaman semak berduri yang tersebar secara luas terutama di India, Srilangka, dan Kepulauan Andaman dan Nicobar (Sing, 2012).

Penelitian terdahulu terhadap biji tombili membuktikan bahwa pada biji tombili ini mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid, flavonoid, tanin, saponin dan terpenoid, ekstrak biji tombilisudah di lakukan aplikasi terhadap tanaman padi dengan tujuan mengetahui efektifitas pemberian ekstrak pada tanaman padi, dimana pada tahap ini ekstrak kental dari biji tombili dengan fraksi metanol 0,25%, n-heksan 0,05%, etil asetat 0,05% dan air 0,25% menunjukkan bahwa fraksi fraksi ini efektif. Dilihat dari hasil panen tanaman padi yang lebih banyak dari yang di hasilkan oleh kelompok kontrol.(Suchi Safitri 2015)

BAB II

Tanaman Tombili *Caesalpinia bonduc* (L.) Roxb

Caesalpinia bonduc L. Roxb adalah tanaman obat yang tergolong dalam family *Caesalpinaceae*. Tanaman ini merupakan tanaman semak berduri yang tumbuh dan tersebar secara luas di seluruh Dunia terutama di India, Sri Lanka, dan Kepulauan Andaman dan Nicobar. Di India, tanaman ini khusus ditemukan di daerah tropis. (Singh dan Raghav, 2012). *C. bonduc* L. sebagian besar ditemukan di semak belukar, kadang juga ditemukan di habitat pesisir dan jarang ditemukan di hutan primer. Sebagian besar spesies tanaman ini lebih suka iklim kering musiman, tetapi beberapa juga ditemukan dalam kondisi lembab. Tanaman *C. bonduc* ditemukan pada berbagai jenis tanah dari permukaan laut sampai dengan 1700-2000 M dpl. Biji *C. Bonduc* dapat mengapung dan mempertahankan kelangsungan hidup mereka dalam air untuk waktu yang lama (Vakenburg dan Bunyapraphatsara, 2002).

Dalam tanaman obat tradisional India, tanaman ini telah dianggap sebagai obat penting bagi pengobatan beberapa penyakit. Hal ini populer dalam sistem adat obat seperti Ayurveda, Siddha, Unani dan Homoeopathy. Semua bagian tanaman memiliki sifat obat sehingga merupakan tanaman obat yang sangat berharga yang digunakan dalam sistem pengobatan tradisional. Tanaman ini telah dilaporkan memiliki aktivitas anxiolytic, antinociceptive, antidiarrhoeal, antidiabetes, adaptogenik, obat cacing, antiestrogenik, anti inflamasi, anti malaria, antimikroba, antijamur, antispasmodic, antioxidant, antiproliferatif, antipsoriatik, antitumor, larvicidal, kontraktile otot, hepatoprotektif, antikonvulsan dan aktivitas antifilarial. Analisis fitokimia *C. bonduc* (L.) telah mengungkapkan bahwa pada tanaman ini mengandung alkaloid, flavonoid, glikosida, saponin, tanin dan triterpenoid. (Singh dan Raghav, 2012). Yadav (2009) menemukan bahwa pada tumbuhan *C. Bonduc* mengandung senyawa Cassane Diterpenes yaitu suatu senyawa golongan terpenoid. Struktur molekul ini diteliti menggunakan spektroskopi NMR serta didukung oleh pengukuran menggunakan spektroskopi IR dan UV-Vis. Senyawa dengan golongan yang sama ditemukan oleh Kinoshita (2000) yaitu senyawa dengan jenis cassane furanoditerpen. Senyawa ini dianalisis menggunakan NMR, IR dan UV-Vis. Penelitian sejenis juga dilakukan

oleh Mobasher (2014), dari penelitian ini ditemukan suatu senyawa golongan terpenoid yaitu jenis 6β , 7β -dibenzoyloxyvouacapen- 5α -ol.

C. bonduc dapat dijumpai di berbagai habitat pantai, terutama daerah-daerah terganggu, tapi juga tumbuh di daratan terutama hutan sekunder sampai dengan ketinggian 800 meter. Perbanyakannya secara alami dilakukan dengan biji. Di Filipina, bijinya dapat menyembuhkan sakit perut dan sebagai pencahar ringan, juga dipakai sebagai tonik dalam bentuk bubuk. Di Thailand, daunnya dipandang sebagai karminatif dan dipakai untuk menyembuhkan gangguan buang air kecil. Tanaman Tombili *Caesalpinia bonduc* (L.) Roxb. dapat dilihat pada Gambar 2.1



Gambar 2.1 Tanaman Tombili (*Caesalpinia bonduc* (L.) Roxb.)
(www.seabean.com)

Daunnya merupakan bahan obat batuk. Di Indonesia, daunnya atau biji yang dimemarkan dipakai sebagai antelmintik. Di Papua Nugini, rebusan daun dipakai untuk anti depresi bagi orang yang mentalnya terganggu. Rebusan daun tumbuhan *C. Bonduc* juga dipakai untuk obat sinusitis, dan akarnya digunakan sebagai obat lelah. (Vakenburg dan Bunyapraphatsara, 2002).

BAB III

Taksonomi dan Morfologi Tanaman Tombili

Menurut Singh dan Raghav, 2012, taksonomi tanaman *Caesalpinia bonduc* (L.)

Roxb. adalah sebagai berikut :

Regnum	: Plantae
Phylum	: Magnoliopsida
Divisi	: Magnoliopsida
Class	: Angiospermae
Ordo	: Fabales
Family	: Fabaceae
Genus	: <i>Caesalpinia</i>
Species	: <i>Caesalpinia bonduc</i>

C. bonduc merupakan tanaman jenis liana dengan ranting biasanya berduri. Daun menyirip genap, dengan 6-11 pasang pinak, pinak daun berhadapan sampai agak berhadapan, pangkal membundar, ujung membundar sampai meruncing. Perbungaan tandan atau malai supra-aksiler atau terminal, bunga berkelamin tunggal. Polong tertutup oleh duri berambut yang panjang, berbiji 1-2, bisa masak merekah. Biji membulat telur, halus berwarna abu-abu. (Vakenburg dan Bunyapraphatsara, 2002). Karakter umum tanaman *Caesalpinia bonduc* dapat dilihat pada Tabel 2.1 berikut.

Tabel 3.1 Karakter Umum Dari Tanaman *Caesalpinia bonduc* L. Roxb

Jenis tanaman	Semak belukar
Akar	Akar tunggang
Jenis batang	Berbatang keras
Jenis daun	Menyirip genap, bulat memanjang
Warna daun	Hijau
Permukaan daun	Mengkilap
Jenis biji	Dikotil
Aroma	Khas
Rasa	Pahit
Tinggi tanaman	Medium (10-20 m)
Tinggi sebenarnya	Maksimum: 15 m
Kegunaan tanaman	Industri, Komersial dan obat-obatan

(Sumber: Singh dan Raghav, 2012)

BAB IV

Pestisida Nabati

Pestisida nabati adalah pestisida yang bahan dasarnya berasal dari tumbuhan yang sifatnya mudah terurai (biodegradable) di alam. Pestisida nabati tidak mencemari lingkungan dan relatif aman bagi manusia dan hewan lainnya karena residunya mudah hilang. Pestisida nabati bersifat “pukul dan lari” atau “hit and run” karena apabila diaplikasikan, akan membunuh serangga pada saat itu dan residunya akan cepat menghilang di alam. Pestisida nabati dapat berfungsi sebagai penghambat nafsu makan (anti feedant), penolak (repellent), penarik (attractant), penghambat perkembangan, berperan sebagai racun dan pencegah peletakan telur. Keunggulan yang dimiliki oleh pestisida nabati adalah mudah mengalami degradasi/penguraian oleh sinar matahari, memiliki efek/pengaruh yang cepat seperti menghentikan nafsu makan serangga, toksitasnya rendah bagi lingkungan, memiliki spektrum pengendalian luas (racun lambung dan syaraf) dan bersifat selektif, dapat diandalkan untuk hama yang sudah resisten dengan pestisida sintetik, murah dan dapat dibuat sendiri oleh petani (Setiawati, 2008).

Pembuatan pestisida dapat dengan memanfaatkan daun, akar, biji atau buah tergantung dengan tanamannya. Secara umum bentuk pestisida nabati tersebut bisa berupa cairan berupa ekstrak atau minyak, pasta serta berupa tepung. Efektivitas suatu bahan-bahan alami yang digunakan sebagai pestisida nabati sangat tergantung pada bahan tumbuhan yang dipakai. Lebih dari 1500 jenis tumbuhan di segala penjuru dunia telah diketahui dapat digunakan sebagai pestisida nabati.

Salah satu tumbuhan yang mempunyai potensi sebagai pestisida nabati yaitu biji tombili. Tumbuhan ini merupakan tanaman liar dan mudah ditemui serta belum dimanfaatkan secara optimal sebagai bahan pengendali biologi. Alkaloid, flavonoid, tanin, dan seskuiterpenoid merupakan senyawa bahan aktif sebagai pengendali hama dan menyebabkan adanya aktivitas biologi.

BAB V

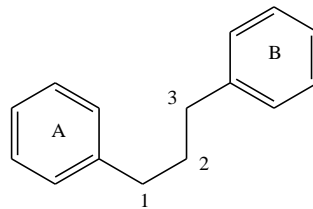
Metabolit Sekunder

Senyawa-senyawa kimia yang merupakan hasilmetabolit sekunder pada tumbuhan sangat beragam dan dapat diklasifikasikan dalam beberapa golongan

senyawa bahan alam yaitu Flavonoid, Alkaloid, Steroid, dan Terpenoid (Lenny 2006).

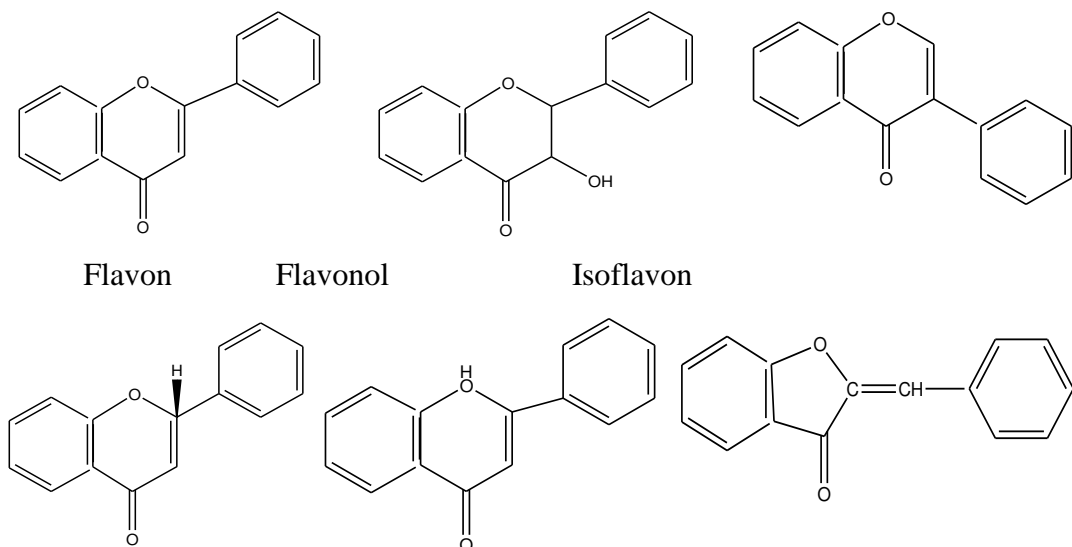
Flavonoid

Flavonoid adalah suatu kelompok senyawa fenol yang terbesar yang ditemukan di alam. Senyawa-senyawa flavonoid memiliki warna merah, ungu, biru, dan sebagian warna kuning yang ditemukan dalam tumbuh-tumbuhan. Flavonoid mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri dari 15 atom karbon, dimana dua cincin benzena (C₆) terikat pada suatu rantai propana (C₃) sehingga membentuk suatu susunan C₆-C₃-C₆ (Gambar 2.2).



Gambar 5.1 Struktur Umum Flavonoid

Senyawa-senyawa flavonoid terdiri dari beberapa jenis, bergantung pada oksidasi dari rantai propan dari system 1,3 diaryl propan. Dalam hal ini, flavan mempunyai tingkat oksidasi yang terendah sehingga senyawa ini dianggap sebagai senyawa induk dalam tata nama senyawa-senyawa turunan flavon. Berdasarkan kerangka dasarnya, maka dikenal beberapa jenis flavonoid, masing-masing senyawa mempunyai struktur dasar tertentu yaitu:



Flavonon

Khalkon

Auron

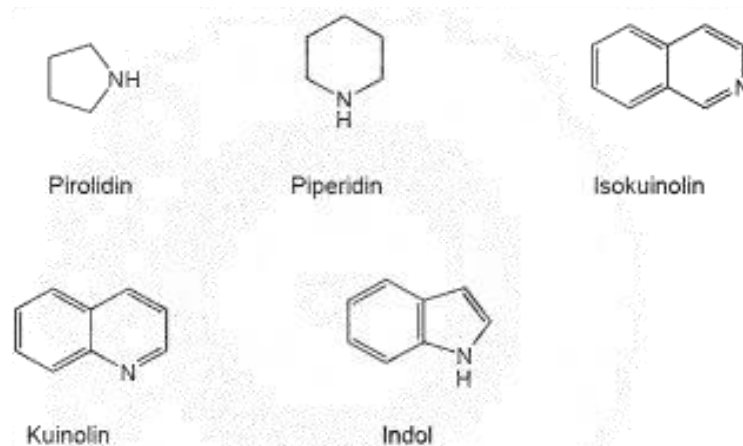
Gambar 2.3.Jenis-jenisFlavonoid

Alkaloid

Alkaloid adalah suatu golongan senyawa organik yang terbanyak ditemukan di alam. Hampir seluruh senyawa alkaloid berasal dari tumbuh–tumbuhan dan tersebar luas dalam berbagai jenis tumbuhan. Semua alkaloid mengandung paling sedikit satu atom nitrogen yang biasanya bersifat basa dan dalam sebagian besar atom nitrogen ini merupakan bagian dari cincin heterosiklik.

Hampir semua alkaloida yang ditemukan di alam mempunyai keaktifan biologis tertentu, ada yang sangat beracun tapi ada pula yang sangat berguna dalam pengobatan. Misalnya kuinin, morfin dan stiknin adalah alkaloid yang terkenal dan mempunyai efek fisiologis dan psikologis. Alkaloida dapat ditemukan dalam berbagai bagian tumbuhan seperti biji, daun, ranting dan kulit batang. Alkaloida umumnya ditemukan dalam kadar yang kecil dan harus dipisahkan dari campuran senyawa yang rumit yang berasal dari jaringan tumbuhan.

Alkaloida tidak memiliki tata nama sistematis, oleh karena itu, suatu alkaloida dinyatakan dengan nama trivial, misalnya kuinin, morfin dan stiknin. Hampir semua nama trivial ini berakhiran – in yang mencirikan alkaloida. Ada beberapa cara yang digunakan untuk mengklasifikasikan alkaloid, yang pertama berdasarkan jenis cincin heterosiklik nitrogen yang merupakan bagian dari struktur molekul. Menurut klasifikasi ini, alkaloid dapat dibedakan atas beberapa jenis seperti alkaloid pirolidin, piperidin, isokuinolin, kuinolin, indol. Struktur masing-masing alkaloid tersebut adalah sebagai berikut:



Gambar 2.4 Jenis-Jenis Alkaloid (Achmad, 1986)

Cara yang kedua yaitu berdasarkan jenis tumbuhan dari mana alkaloid ditemukan. Cara ini digunakan untuk menyatakan jenis alkaloid yang pertama-tama ditemukan dalam suatu jenis tumbuhan. Berdasarkan cara ini, alkaloid dibedakan atas beberapa jenis, seperti alkaloid tembakau, alkaloid amiryllidaceae, alkaloid erythrina, dan sebagainya.

Cara yang ketiga yaitu berdasarkan asal-usul biogenetik. Dari biosintesa alkaloid, menunjukkan bahwa alkaloid berasal dari hanya beberapa asam amino tertentu saja. Berdasarkan hal tersebut maka alkaloid dapat dibedakan atas tiga jenis utama. Pertama, alkaloid alisiklik yang berasal dari asam-asam amino ornitin dan lisin. Kedua, alkaloid aromatik jenis fenilalanin, yang berasal dari fenilalanin tirosin, dan 3,4-dihidroksifenialanin. Ketiga, alkaloid aromatik jenis indol yang berasal dari triptofan (Achmad, 1986).

Saponin

Saponin adalah suatu glikosida yang mungkin ada pada banyak macam tumbuhan. Saponin ada pada seluruh tumbuhan dengan konsentrasi tinggi pada bagian-bagian tertentu, dan dipengaruhi oleh varietas tumbuhan dan tahap pertumbuhan. Berdasarkan aglikonnya (sapogeninnya), saponin dapat dibagi menjadi dua macam, yaitu tipe steroid dan tipe triterpenoid.

Saponin dengan tipe steroid memiliki aglikon berupa steroid yang diperoleh dari metabolisme sekunder tumbuhan. Saponin steroid tersusun atas inti steroid (C_{27}) dengan molekul karbohidrat. Dihidrolisis menghasilkan suatu aglikon yang dikenal

sebagai saraponin. Salah satu contoh saponin jenis ini adalah Asparagosida (Asparagussarmentosus). Senyawa ini terkandung didalam tumbuhan Asparagus sarmentosus yang hidup dikawasan hutan kering Afrika. Tanaman ini juga biasa digunakan sebagai obat anti nyeri dan rematik oleh orang Afrika.

Saponin dengan tipe triterpenoid memiliki komponen aglikon berupa triterpen yang memiliki atom C sebanyak 30. Saponin jenis ini bersifat asam.Saponin triterpenoid tersusun atas inti triterpenoid dengan molekul karbohidrat. Dihidrolisis menghasilkan suatu aglikon yang disebut sapogenin. Salah satu jenis contoh saponin ini adalah asiatosida. Senyawa ini terdapat pada tumbuhan Gatu kolayang tumbuh di daerah India. Senyawa ini dapat dipakai sebagai antibiotik (Sulistiono, 2010).

Tanin

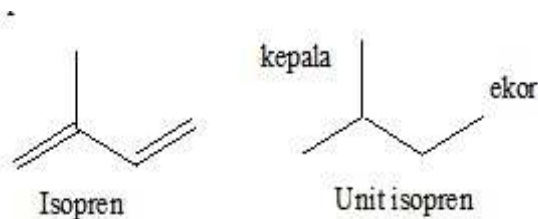
Tanin merupakan senyawa aktif metabolit sekunder yang diketahui mempunyai beberapa khasiat yaitu sebagai astringen, anti diare, anti bakteri dan antioksidan.Tanin merupakan komponen zat organik yang sangat kompleks, terdiri dari senyawa fenolik yang sukar dipisahkan dan sukar mengkristal, mengendapkan protein dari larutannya dan bersenyawa dengan protein tersebut Desmiaty (2008) dalam Liberty P. Malangngi, dkk (2012).Tanin dibagi menjadi dua kelompok yaitu tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi.Tanin memiliki peranan biologis yang kompleks mulai dari pengendap protein hingga pengkhelat logam.Tanin juga dapat berfungsi sebagai antioksidan biologis (Hagerman, 2002) dalam Liberty P. Malangngi, dkk (2012).

Terpenoid

Terpenoid merupakan suatu golongan hidrokarbon yang banyak dihasilkan oleh tumbuhan dan terutama terkandung pada getah dan vakuola selnya. Pada tumbuhan, senyawa-senyawa golongan terpenoid, merupakan metabolit sekunder. Terpenoid dihasilkan pula oleh sejumlah hewan, terutama serangga dan beberapa hewan laut. Di samping sebagai metabolit sekunder, terpenoid merupakan kerangka penyusun sejumlah senyawa penting bagi makhluk hidup. Sebagai contoh, senyawa-senyawa steroid adalah turunan skualena, suatu triterpen; juga karoten dan retinol.

Secara kimia, terpenoid umumnya larut dalam lemak dan terdapat di dalam sitoplasma sel tumbuhan (Harbone, 1987).

Secara umum terpenoid terdiri dari unsur-unsur C dan H dengan rumus molekul umum $(C_5H_8)_n$.



Gambar 2.5 . Struktur Isoprena dan Unit Isoprena (Achmad, 1986)

BAB VI

Proses Ekstraksi

Ekstraksi dapat didefinisikan sebagai metode pemisahan komponen dari suatu campuran dengan menggunakan suatu pelarut. Ekstraksi bertujuan untuk menarik komponen kimia yang terdapat dalam sampel (Anwar, 1996). Ekstraksi adalah penarikan komponen kimia dari simplisia dengan menggunakan pelarut yang cocok. Hasil ekstraksi disebut ekstrak yang mengandung berbagai macam komponen kimia. Tujuan ekstraksi adalah untuk menarik komponen kimia yang terdapat dalam simplisia. Ekstraksi ini didasarkan perpindahan massa komponen zat padat ke dalam pelarut, setelah pelarut menembus lapisan permukaan dinding sel kemudian berdifusi, sehingga terjadi perbedaan konsentrasi di luar dan di dalam sel. Pemilihan pelarut yang digunakan dalam ekstraksi didasarkan pada kemampuan melarutkan zat aktif dalam jumlah yang maksimum (Sudjati, 1986).

Ekstraksi adalah suatu metode pemisahan komponen dari campuran dengan menggunakan suatu pelarut. Tujuan dari ekstraksi adalah untuk menarik komponen-komponen kimia yang terdapat dalam simplisia. Proses terekstraksinya zat aktif dalam sel tanaman yakni pelarut organik akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dalam pelarut organik tersebut sehingga terjadi perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dan pelarut organik di luar sel, maka larutan terpekat akan terdistribusi ke

luar sel. Proses ini terus terulang sampai terjadi keseimbangan antara konsentrasi cairan zat aktif di dalam dan di luar sel.

Pelarut yang digunakan dalam mengekstraksi harus dapat mengekstrak substansi yang diinginkan. Dalam proses ekstraksi ini, bahan aktif akan terlarut oleh zat penyari yang sesuai sifat kepolarannya.

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada suhu kamar. Prinsip kerja proses maserasi ini dilakukan dengan penyarian zat aktif yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari yang sesuai pada temperatur kamar, terlindung dari cahaya. Cairan penyari akan masuk ke dalam sel melewati dinding sel. Isi sel akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam sel dengan di luar sel. Larutan yang konsentrasinya tinggi akan terdesak keluar dan diganti oleh cairan penyari dengan konsentrasi rendah (proses difusi). Peristiwa tersebut berulang sampai terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel (Sudjadi, 1986).

Maserasi merupakan cara ekstraksi yang paling sederhana. Bahan simplisia yang dihaluskan sesuai dengan syarat farmakope (umumnya terpotong-potong atau berupa serbuk kasar) disatukan dengan bahan pengekstraksi. Selanjutnya rendaman tersebut disimpan terlindung dari cahaya langsung (mencegah reaksi yang dikatalisis cahaya atau perubahan warna) dan dikocok kembali. Waktu lamanya maserasi berbeda-beda antara 4-10 hari. Secara teoritis pada suatu maserasi tidak memungkinkan terjadinya ekstraksi absolut. Semakin besar perbandingan cairan pengekstraksi terhadap simplisia, akan semakin banyak hasil yang diperoleh (Voigt, 1995 dalam Sjahid, 2008).

Metode ekstraksi maserasi digunakan untuk mengekstrak suatu komponen kimia yang tahan panas maupun tidak. Kekurangan dari metode ini, yaitu diperlukan waktu yang lama dan banyak menggunakan larutan pengekstrak (Akbar, 2010).

BAB VII

Teori Kromatografi

Kromatografi adalah teknik pemisahan campuran didasarkan atas perbedaan distribusi dari komponen-komponen campuran tersebut diantara dua fase, yaitu fase diam (padat atau cair) dan fase gerak (cair atau gas). Bila fase diam berupa zat padat yang aktif, maka dikenal istilah kromatografi penyerapan (adsorption chromatography). Bila fase diam berupa zat cair, maka teknik ini disebut kromatografi partisi (partition chromatography) (Nurhidayat 2012 dalam Gafur, 2013).

Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi lapis tipis merupakan adsorpsi dan adsorben bertindak sebagai fase stasioner. Empat macam adsorben yang umum dipakai ialah silika gel (asam silikat), alumina (aluminium oxide), kieselguhr (diatomaceous earth), dan selulosa. Dari keempat jenis adsorben tersebut, yang paling banyak dipakai ialah silika gel dan masing-masing terdiri dari beberapa jenis yang mempunyai nama perdagangan macam-macam. Kieselguhr merupakan adsorben yang lebih lemah dari silika gel dan alumina, oleh karena itu lebih cocok untuk memisahkan senyawa-senyawa polar (Adnan, 1997). Kieselguhr merupakan adsorben netral dengan aktivitas rendah. Daya resolusinya juga kecil. Dapat ditambahkan sebagai campuran pada silika gel yang akan memberikan adsorben campur yang kurang aktif, juga dapat ditambah dengan Ca_2SO_4 (Nurhidayat 2012 dalam Maryati 2013). Adapun pelaksanaan proses kromatografi lapis tipis meliputi pemilihan fase diam, fase gerak, penotolan sampel, deteksi bercak, dan perhitungan nilai R_f yaitu sebagai berikut:

1. Fase Diam

Fase diam yang digunakan dalam KLT merupakan penyerap berukuran kecil dengan diameter partikel antara 10-30 μm . Semakin kecil ukuran rata-rata partikel fase diam dan semakin sempit kisaran ukuran fase diam, maka semakin baik kinerja KLT dalam hal efisiensi dan resolusinya. Penyerap yang paling sering digunakan adalah silika dan serbuk selulosa, sementara mekanisme sorpsi yang utama pada KLT adalah adsorpsi dan partisi.

2. Fase Gerak

Fase gerak pada KLT dapat dipilih dari pustaka, tetapi lebih sering dengan mencoba-coba karena waktu yang diperlukan hanya sebentar. Sistem yang paling sederhana ialah campuran 2 pelarut organik karena daya elusi campuran kedua pelarut ini dapat mudah diatur sedemikian rupa sehingga pemisahan dapat terjadi secara optimal.

3. Penotolan Sampel

Untuk memperoleh reproduibilitas, volume sampel yang ditotolkan paling sedikit 0,5 μ l. Jika volume sampel yang ditotolkan lebih besar dari 2-10 μ l, maka penotolan harus dilakukan secara bertahap dengan dilakukan pengeringan antar totolan.

4. Deteksi Bercak

Deteksi bercak pada KLT dapat dilakukan secara kimia dan fisika. Cara kimia yang biasa digunakan adalah dengan mereaksikan bercak dengan suatu pereaksi melalui cara penyemprotan sehingga bercak menjadi jelas. Cara fisika yang dapat digunakan untuk menampakkan bercak adalah dengan dengan cara pencacahan radioaktif dan fluoresensi sinar ultraviolet. Fluoresensi sinar ultraviolet terutama untuk senyawa yang dapat berfluoresensi, membuat bercak akan terlihat jelas.

5. Perhitungan Nilai Rf

Perhitungan nilai Rf didasarkan atas rumus : $R_f = \text{jarak yang ditempuh oleh komponen} / \text{jarak yang ditempuh oleh pelarut}$. Nilai Rf dinyatakan hingga angka 1,0 beberapa pustaka menyatakan nilai Rf yang baik yang menunjukkan pemisahan yang cukup baik adalah berkisar antara 0,2-0,8 (Rohman, 2009)

Kromatografi Kolom

Pemisahan komponen secara kromatografi kolom dilakukan dalam suatu kolom yang diisi dengan fase stasioner dan cairan (pereaksi) sebagai fase mobil untuk mengetahui banyaknya komponen contoh yang keluar melalui kolom (Adnan 1997). Pengisian kolom dilakukan dengan memasukkan adsorben dalam bentuk larutan (slurry), dan partikelnya dibiarkan mengendap.

Pemisahan komponen campuran melalui kromatografi adsorpsi tergantung pada kesetimbangan adsorpsi-adsorpsi antara senyawa yang teradsorb pada

permukaan dari fase diam padatan dan pelarut dalam fase cair. Tingkat adsorpsi komponen tergantung pada polaritas molekul, aktivitas adsorben, dan polaritas fase gerak cair. Umumnya, senyawa dengan gugus fungsional lebih polar akan teradsorb lebih kuat pada permukaan fase padatan. Aktivitas adsorben tergantung komposisi kimianya, ukuran partikel, dan pori-pori partikel (Braithwaite and Smith, 1995).

Pengisian kolom harus dikerjakan dengan seragam. Adsorben dapat diseragamkan kepadatannya dalam kolom dengan menggunakan vibrator atau dengan plunger (pemadat). Selain itu dapat juga dikerjakan dengan memasukkan adsorben dalam bentuk larutan (slurry) dan partikelnya dibiarkan mengendap. Pengisian kolom yang tidak seragam akan menghasilkan rongga-rongga di tengah-tengah kolom. Cara untuk mengatasi masalah ini adalah dengan mengadakan back fushing, sehingga terjadi pengadukan, yang seterusnya dibiarkan lagi mengendap. Pada bagian bawah (dasar) dan atas dari isian kolom diberi wol kaca (glass wool) untuk menyangga isian. Bila kolom telah diberi bahan isian, permukaan cairan tidak boleh dibiarkan turun dibawah permukaan bahan isian bagian atas, karena akan memberikan peluang masuknya gelembung udara masuk ke kolom (Adnan, M., 1997).

BAB VIII

Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis adalah anggota teknik analisis spektroskopik yang memakai sumber radiasi elektromagnetik ultraviolet dekat (190-380 nm) dan sinar tampak (380-780 nm) dengan memakai instrumen spektrofotometer. Spektrofotometri UV-Vis melibatkan energi elektronik yang cukup besar pada molekul yang dianalisis, sehingga spektrofotometri UV-Vis lebih banyak dipakai untuk analisis kuantitatif dibandingkan kualitatif. (Fernandez, 2011)

Teknik spektroskopi pada daerah ultra violet dan sinar tampak biasa disebut spektroskopi UV-Vis. Dari spektrum absorpsi dapat diketahui panjang gelombang dengan absorbans maksimum dari suatu unsur atau senyawa. Konsentrasi suatu unsur atau senyawa juga dengan mudah dapat dihitung dari kurva standar yang diukur pada panjang gelombang dengan absorbans maksimum (Fernandez, 2011).

Komponen Spektrofotometri UV-Vis

Untuk mendapatkan hasil pengukuran yang optimum, setiap komponen dari instrumen yang dipakai harus berfungsi dengan baik. Komponen-komponen spektrofotometri UV-Vis meliputi sumber sinar, monokromator, kompartemen sampel, detector, visual display, dan sistem optik.

- a. Sebagai sumber sinar; lampu deuterium atau lampu hidrogen untuk pengukuran UV dan lampu tungsten digunakan untuk daerah visibel.
- b. Monokromator; digunakan untuk mendispersikan sinar ke dalam komponen-komponen panjang gelombangnya yang selanjutnya akan dipilih oleh celah (slit). Monokromator berputar sedemikian rupa sehingga kisaran panjang gelombang dilewatkan pada sampel sebagai scan instrumen melewati spektrum.
- c. Kompartemen sampel, digunakan sebagai tempat diletakkannya kuvet. Kuvet merupakan wadah yang digunakan untuk menaruh sampel yang akan dianalisis.
- d. Detector, berfungsi untuk menangkap sinar yang diteruskan oleh larutan. Sinar kemudian diubah menjadi sinar listrik oleh amplifier dan dalam recorder ditampilkan dalam bentuk angka-angka.
- e. Visual display, merupakan system baca yang memperagakan besarnya isyarat listrik, menyatakan dalam bentuk % transmistan maupun adsorbansi.
- f. Optik-optik; dapat didesain untuk memecah sumber sinar sehingga sumber sinar melewati 2 kompartemen, dan sebagai mana dalam spektrofotometer berkas ganda (double beam), suatu larutan blanko dapat digunakan dalam satu kompartemen untuk mengkoreksi pembacaan atau spektrum sampel. Yang paling sering digunakan sebagai blanko dalam spektrofotometri adalah semua pelarut yang digunakan untuk melarutkan sampel atau pereaksi (Yazid, 2005).

Mekanisme Kerja

Sinar dari sumber sinar adalah sinar polikromatis maka dilewatkan terlebih dahulu melalui monokromator, kemudian sinar monokromatis dilewatkan melalui kuvet yang berisi contoh maka akan menghasilkan sinar yang ditransmisikan dan diterima oleh detektor untuk diubah menjadi energi listrik yang kekuatannya dapat

diamati oleh alat pembaca (satuan yang dihasilkan adalah absorban atau transmittan) (Yazid, 2005).

BAB IX

Spektrofotometer IR

Pada spektroskopi IR meskipun bisa digunakan untuk analisa kuantitatif, namun biasanya lebih kepada analisa kualitatif. Umumnya spektrofotometer IR digunakan untuk mengidentifikasi gugus fungsi pada suatu senyawa, terutama senyawa organik. Setiap serapan pada panjang gelombang tertentu menggambarkan adanya suatu gugus fungsi spesifik. Hasil analisa biasanya berupa signal kromatogram hubungan intensitas IR terhadap panjang gelombang. Untuk identifikasi, signal sampel akan dibandingkan dengan signal standar. Perlu juga diketahui bahwa sampel untuk metode ini harus dalam bentuk murni. Karena bila tidak, gangguan dari gugus fungsi kontaminan akan mengganggu signal kurva yang diperoleh.

Bila sinar IR dilewatkan melalui cuplikan senyawa organik, maka sejumlah frekuensi yang lain akan diteruskan. Karena atom-atom dalam suatu molekul tidak diam melainkan bervibrasi, maka penyerapan frekuensi (energi ini mengakibatkan terjadinya transisi diantara tingkat vibrasi dasar dan tingkat vibrasi tereksitasi. Metode ini juga digunakan dalam mendeteksi gugus fungsional, mengidentifikasi senyawa dan menganalisis campuran (Day and Underwood, 2001).

Sinar inframerah mempunyai energi yang rendah dengan bilangan gelombang antara $600\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$ atau sekitar ($1,7 \times 10^{-3}\text{ cm}$ sampai dengan $2,5 \times 10^{-4}\text{ cm}$). Sinar infra merah hanya dapat menyebabkan vibrasi (getaran) pada ikatan baik berupa rentangan (stretching = str) maupun berupa bengkokan (bending = bend) (Marham Sitorus, 2009: 29). Bila radiasi inframerah dilewatkan melalui suatu cuplikan, maka molekul-molekulnya dapat menyerap (mengabsorpsi) energi dan terjadilah transisi diantara tingkat vibrasi dasar (ground state) dan tingkat energi tereksitasi (exited state) (Khopkar, 2003).

Metode spektrofotometrik mengukur jumlah radiasi elektromagnetik yang diserap oleh larutan contoh. Jumlah serapan ini berkaitan dengan konsentrasi analit

dalam larutan. Terdapat tiga proses dasar penyerapan radiasi oleh molekul yang semuanya melibatkan kenaikan molekul ke tingkat energi yang lebih tinggi, yaitu rotasi, vibrasi, dan transisi elektronik. Panjang gelombang serapan oleh suatu ikatan bergantung pada jenis getaran ikatan antaratom. Oleh karena itu, tipe ikatan yang berlainan akan menyerap radiasi IR pada panjang gelombang yang berbeda. Vibrasi yang terjadi meliputi vibrasi ulur dan tekuk dan dikenal beberapa istilah, yaitu rocking, twisting, scissoring, dan waging (Fessenden & Fessenden 1986).

Daerah radiasi spektroskopi IR berkisar pada bilangan gelombang 12800-10 cm^{-1} . Daerah 1400-4000 cm^{-1} merupakan daerah yang khusus untuk identifikasi gugus-gugus fungsional sedangkan daerah 1400-700 cm^{-1} merupakan daerah sidik jari (fingerprin region). Pada daerah sidik jari, sedikit saja perbedaan struktur dan susunan molekul akan menyebabkan perubahan distribusi puncakserapan. Spektrum IR diperoleh dengan mengukur intensitas radiasi cahaya sebelum (I_0) dan sesudah (I) melewati contoh. Spektrum IR ditampilkan dengan mengalurkan transmitan ($T=I/I_0$) sebagai fungsi dari bilangan gelombang. Nilai transmitans dapat diganti dengan nilai serapan, yaitu sinar yang diserap oleh contoh. Serapan pada panjang gelombang tertentu dapat menghasilkan nilai konsentrasi contoh berdasarkan hukum Beer (Widyastuty, 2006).

BAB IX

Preparasi Sampel biji tombili

Sampel yang digunakan hasil penelitian adalah biji tombili yang diambil di daerah Gorontalo. Biji tombili sebanyak 1,5 kg, dicuci terlebih dahulu sampai bersih. Dikeringkan dengan cara diangin-anginkan di udara terbuka. Sampel yang sudah kering dihaluskan dengan cara digiling.

Sampel biji tanaman Tombili (*Caesalpinia bonduc*), sebanyak 1,5 kg dimaserasi dengan metanol setelah dihaluskan terlebih dahulu. Cara maserasi dipilih oleh karena senyawa yang akan diisolasi belum diketahui karakternya sehingga cara ekstraksi dengan pemanasan dihindari untuk mencegah kerusakan pada senyawa-senyawa yang tidak tahan panas. Proses maserasi dilakukan selama 3 x 24 jam, dimana setiap 24 jam pelarut metanol diganti dengan yang baru. Dalam proses

maserasi digunakan pelarut metanol karena metanol diketahui bersifat sebagai pelarut universal yang dapat mengikat komponen baik yang bersifat polar, semi polar, dan non polar. Maserat yang terkumpul diuapkan menggunakan alat rotary evaporator pada suhu 30-40°C sehingga diperoleh ekstrak kental metanol sebanyak 85,79 gram.

Ekstrak kental metanol diambil sebanyak 33,34 gram selanjutnya disuspensi menggunakan campuran metanol : air dengan perbandingan 1 : 2. Komposisi ini dipilih agar ekstrak dapat larut dengan kepolaran yang cukup sehingga dapat dipisahkan dengan cara partisi menggunakan pelarut n-heksan dan etilasetat. Proses ini dilakukan dengan tujuan untuk mendapatkan fraksi-fraksi berdasarkan tingkat kepolarannya, sehingga lebih memudahkan pada saat pemisahan dan pemurnian. Fraksi-fraksi tersebut adalah fraksi n-heksan merupakan fraksi non polar, fraksi etil asetat merupakan fraksi semi polar, dan fraksi metanol-air adalah fraksi polar. Hasil partisi dari masing-masing fraksi diuapkan menggunakan rotary evaporator sehingga didapatkan ekstrak kental yang ditunjukkan pada Tabel 4.1 berikut.

Tabel Berat Fraksi Hasil Partisi dari 33,34 gr ekstrak kentalmetanol biji tombili

No	Fraksi	Berat (gram)
1	n-heksan	4,54
2	Etil Asetat	1,6
3	Air	9,34

Dari Tabel 4.1, dapat dilihat bahwa jumlah total ekstrak hasil dari masing-masing partisi adalah sebesar 15,48 gram. Hal ini berarti bahwa masih tersisa 18,06 gram ekstak yang tidak terdistribusi pada masing-masing fraksi. Distribusi yang tidak sempurna ini disebabkan karena tidak semua ekstrak terlarut dalam pelarutnya, yaitu campuran metanol dan air dengan perbandingan 1:2 pada proses suspensi, melainkan ada yang tertinggal sebagai residu.

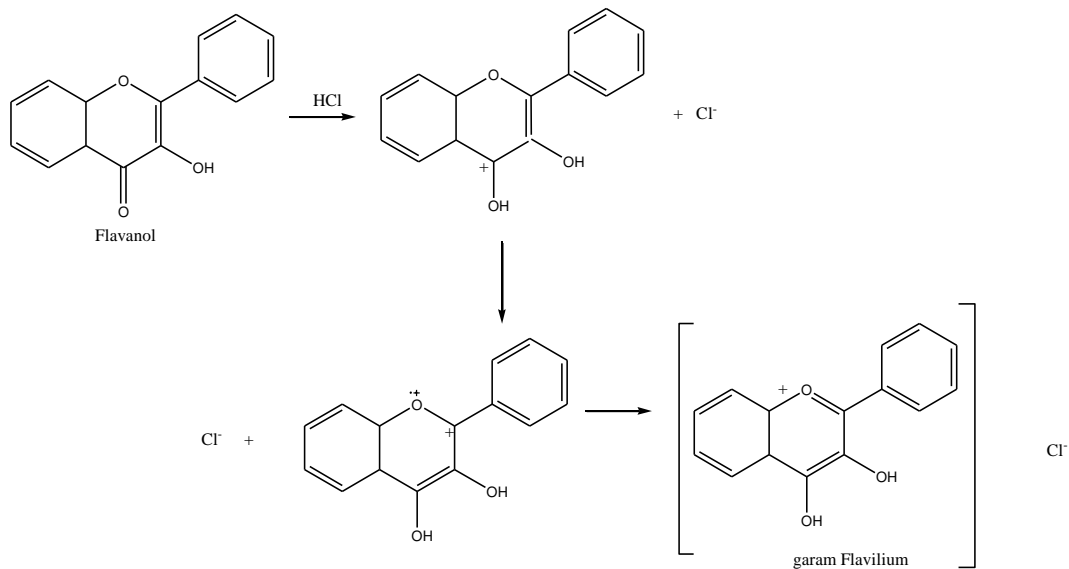
Hasil uji flavonoid pada biji Tombili(Caesalpinia bonduc) dapat dilihat pada Tabel berikut.

Tabel Hasil Uji Flavonoid biji Tombili

Ekstrak	Pereaksi	Perubahan Warna	Hasil Uji
Metanol	NaOH 10% H ₂ SO ₄ pekat HCl + serbuk Mg	Orange - kuning keruh dan ada endapan Orange - kecoklatan Orange - Coklat kemerahan	Positif Positif Positif
Etil Asetat	NaOH 10% H ₂ SO ₄ pekat HCl + serbuk Mg	Kuning - Kuning Tua Kuning - Merah Kecoklatan Kuning - Orange Muda	Positif Positif Positif
n-heksan	NaOH 10% H ₂ SO ₄ pekat HCl + serbuk Mg	Kuning -Orang dan ada endapan coklat muda Kuning - Coklat muda Kuning - Orange	Positif Positif Postif
Air	NaOH 10% H ₂ SO ₄ pekat HCl + serbuk Mg	Kuning - Kuning Keruh dan ada endapan Kuning - Merah Kecoklatan Kuning - Merah	Positif Positif Positif

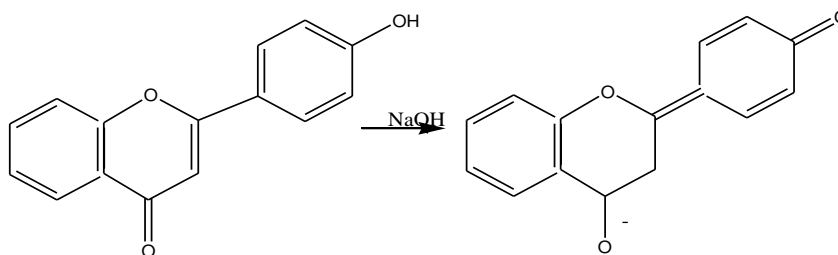
Berdasarkan Tabel, semua ekstrak (metanol, eti asetat, n-heksan dan air) mengandung senyawa flavonoid yang ditandai dengan adanya perubahan warna saat ditambahkan reagen flavonoid. Pereaksi uji yaitu Mg+HCl, NaOH 1 M dan H₂SO₄ pekat. Tujuan penambahan Mg-HCl yaitu untuk mereduksi senyawa flavonoid. Penambahan HCl pekat dalam uji flavonoid digunakan untuk menghidrolisis O-glikosil dari flavonoid menjadi aglikonnya. Glikosil akan diganti dengan H⁺ dari asam, dan penambahan serbuk Mg menghasilkan senyawa kompleks yang berwarna merah atau jingga.

Menurut Achmad (1986) dalam Soerya (2005), kemungkinan reaksi yang terjadi jika senyawa flavonoid bereaksi dengan pereaksi tertentu misalnya HCl dan Mg dapat dilihat pada Gambar 4.1 di bawah ini.



Gambar reaksi Senyawa Flavonoid Dengan HCl+serbuk Mg

Hasil positif flavonoid juga teramati pada penambahan NaOH, yang ditandai dengan terjadinya perubahan warna. Perubahan warna terjadi karena terbentuknya garam dan struktur kuinoid (warna kuning) yang mengandung ikatan rangkap terkonjugasi dan planar sehingga dapat berfluorosensi (Robinson, 1995 dalam Septianingsih, dkk., 2012:160-161).Reaksi senyawa flavonoid dengan NaOH dapat dilihat pada gambar 4.2 berikut.



Gambar Reaksi Senyawa Flavonoid Dengan NaOH (Mulyani dan Toga, 2011)

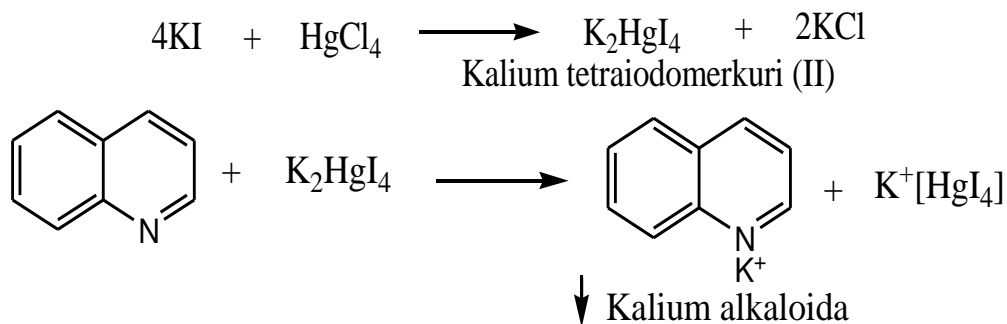
Hasil uji alkaloid pada biji Tombili(Caesalpinia bonduc)dapat dilihat pada Tabel berikut.

Tabel Hasil Uji Alkaloid Biji Tombili

Ekstrak	Pereaksi	Reaksi Yang Terjadi	Hasil Uji
Metanol	Mayer	Terbentuk endapan berwarna kuning	Positif
	Hager	Terbentuk endapan berwarna putih	Positif
	Wagner	Terbentuk endapan merah	Positif
	Dragendorf	Terbentuk endapan putih kecoklatan	Positif
Etil Asetat	Mayer	Terbentuk endapan berwarna kuning	Positif

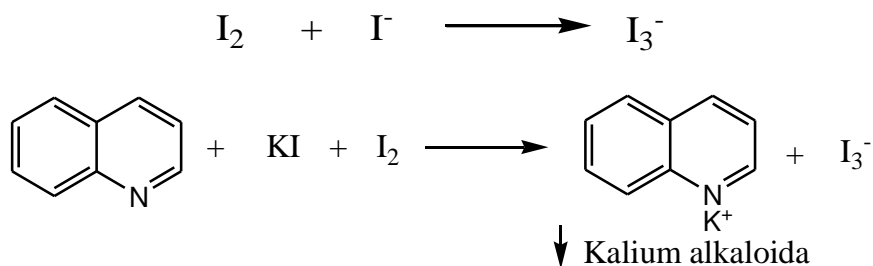
	Hager Wagner Dragendorf	Terbentuk endapan berwarna putih Terbentuk endapan berwarna orange Terbentuk endapan putih kecoklatan	Positif Positif Positif
n-heksan	Mayer Hager Wagner Dragendorf	Tidak terjadi perubahan Tidak terjadi perubahan Tidak terjadi perubahan Tidak terjadi perubahan	Negatif Negatif Negatif Negatif
Air	Mayer Hager Wagner Dragendorf	Terbentuk endapan berwarna kuning Terbentuk endapan berwarna putih Terbentuk endapan berwarna merah Terbentuk endapan putih kecoklatan	Positif Positif Positif Positif

Terbentuknya endapan pada uji alkaloid dengan pereaksi meyer menandakan adanya senyawa alkaloid dalam sampel hal ini terjadi karena diperkirakan nitrogen pada alkaloid akan bereaksi dengan ion logam K^+ dari kalium tetraiodomercurat(II) membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap.



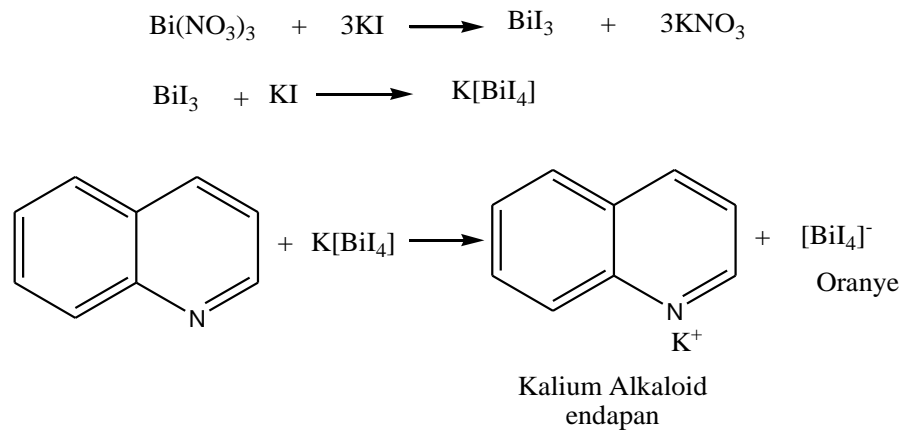
Gambar Reaksi Alkaloid Dengan Reagem Mayer (Soerya, 2005)

Pada uji Wagner, ion logam K^+ akan membentuk ikatan kovalen koordinat dengan nitrogen pada alkaloid membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap (Sastrohamidjojo, 1996 dalam Sangi, 2008).



Gambar Reaksi Alkaloid Dengan Reagen Wagner (Soerya, 2005)

Pada uji alkaloid dengan pereaksi Dragendorff, nitrogen digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan K^+ yang merupakan ion logam (Soerya, 2005).



Gambar Reaksi Alkaloid dengan reagen Dragendorff

Hasil uji steroid biji Tombili (*Caesalpinia bonduc*) dapat dilihat pada Tabel berikut.

Tabel Hasil Steroid Biji Tombili

Ekstrak	Pereaksi	Perubahan warna	HasijUji
Metanol	Lieberman-Bouchard	tidak terbentuk warna hijau kebiruan	Negatif
Etil asetat	Lieberman-Bouchard	tidak terbentuk warna hijau kebiruan	Negatif
n-Heksan	Lieberman-Bouchard	tidak terbentuk warna hijau kebiruan	Negatif
Air	Lieberman-Bouchard	tidak terbentuk warna hijau kebiruan	Negatif

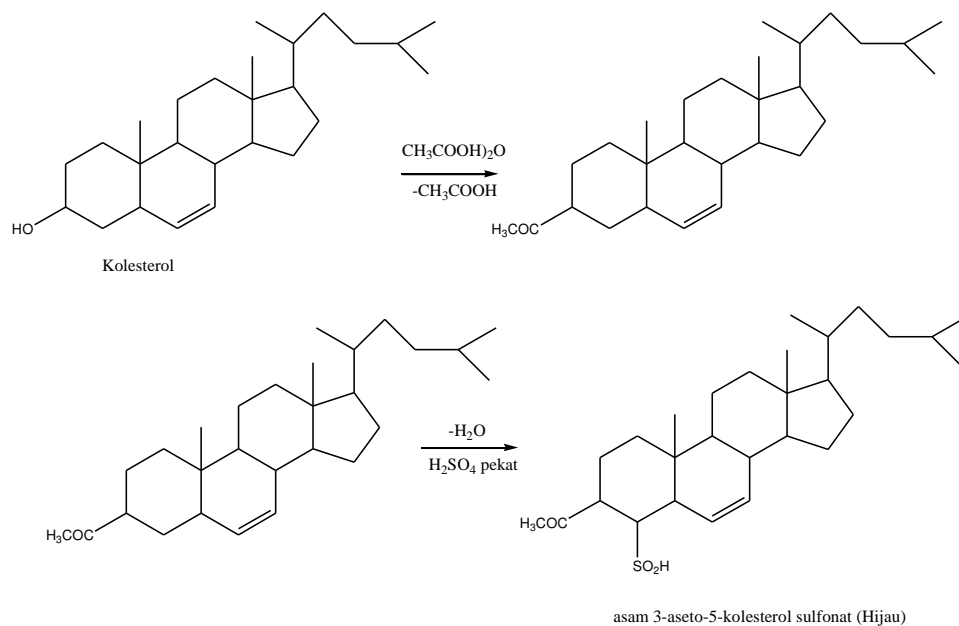
Berdasarkan Tabel di atas, dapat dilihat bahwa pada semua ekstrak biji tombili (*Caesalpinia bonduc*) tidak mengandung stereroid. Hal ini dibuktikan dengan tidak terjadi perubahan warna saat penambahan pereaksi Lieberman-Bouchard. Hasil uji terpenoid biji Tombili (*Caesalpinia bonduc*) dapat dilihat pada Tabel berikut.

Tabel Hasil Uji terpenoid biji tombili

Ekstrak	Pereaksi	Perubahan warna	HasijUji
---------	----------	-----------------	----------

Metanol	Lieberman-Bouchard	Orange - Merah kecoklatan	Positif
Etil asetat	Lieberman-Bouchard	Kuning - Merah kecoklatan	Positif
n-Heksan	Lieberman-Bouchard	Kuning - Merah kecoklatan	Positif
Air	Lieberman-Bouchard	Kuning - Merah kecoklatan	Positif

Terpenoid terdapat pada semua fraksi dengan identifikasi warna merah kecoklatan saat diuji dengan reagen Lieberman-Bouchard, adanya perubahan warna menjadi merah kecoklatan yang menunjukkan adanya terpenoid sedangkan perubahan warna hijau kebiruan menunjukkan adanya steroid. Analisis ini didasarkan pada kemampuan senyawa terpenoid dan steroid membentuk warna oleh H_2SO_4 pekat dalam pelarutan asetat anhidrida (Harborne, 1987). Adapun reaksi perkiraan uji terpenoid dan steroid adalah sebagai berikut.



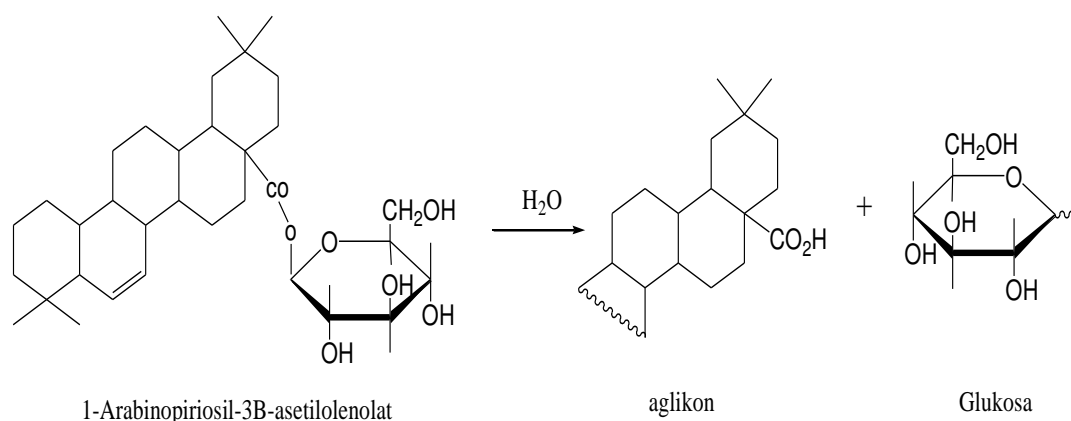
Gambar Perkiraan reaksi uji terpenoid

Hasil uji saponin biji Tombili (*Caesalpinia bonduc*) dapat dilihat pada Tabel berikut.

Tabel Hasil Uji Saponin biji Tombili

Ekstrak	Pereaksi	Reaksi yang terjadi	Hasil Uji
Metanol	Aquades panas	Terbentuk Busa	Positif
Etil asetat	Aquades panas	Tidak terbentuk busa	Negatif
n-Heksan	Aquades panas	Tidak terbentuk busa	Negatif
Air	Aquades panas	Terbentuk Busa	Positif

Adanya saponin ditandai dengan adanya buih/busa disebabkan oleh kemampuan glikosida untuk membentuk buih dalam air (Rusdi, 1990 dalam Marlina, dkk., 2005:29). Penambahan aquades panas pada uji saponin menyebabkan terjadinya reaksi hidrolisis. Reaksi antara Saponin dan Air dapat dilihat pada gambar berikut.



Gambar Perkiraan Reaksi Hidrolisis Saponin dalam air (Santos et al., 1979 dalam Soerya 2005)

Saponin adalah golongan senyawa glikosida yang mempunyai struktur steroid dan terpenoid. Glikosida saponin adalah glikosida yang aglikonnya berupa sapogenin. Reaksi hidrolisis yang terjadi pada reaksi diatas menyebabkan putusnya ikatan glikosida. Putusnya ikatan glikosidik menghasilkan aglikon yang disebut sapogenin dan glukosa (Najib, 2010:5).

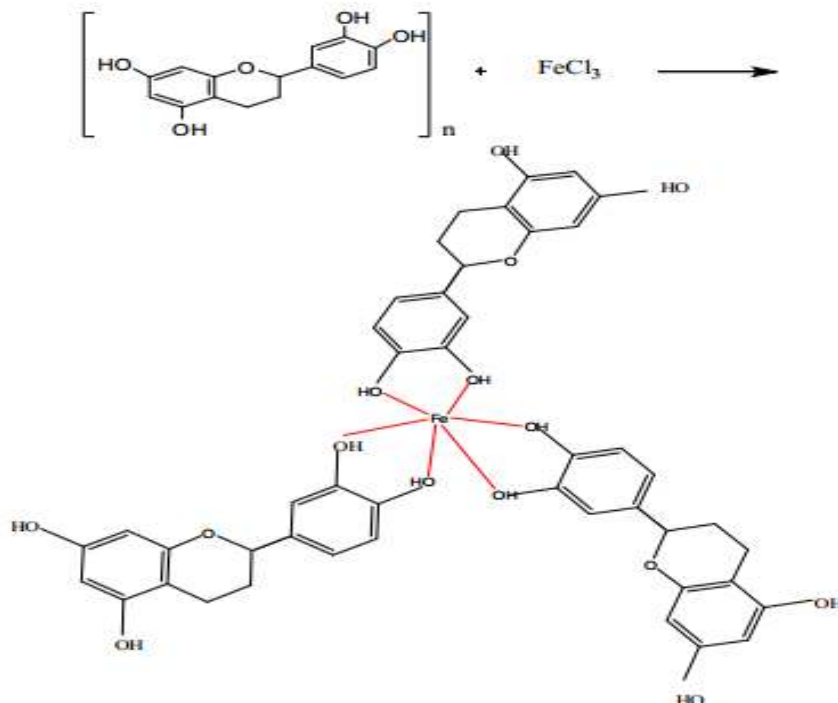
Hasil uji Tanin pada biji Tombili (*Caesalpinia bonduc*) dapat dilihat pada Tabel berikut.

Tabel Hasil Uji Tanin Biji Tombili

Ekstrak	Pereaksi	Reaksi yang terjadi	Hasil Uji
Metanol	FeCl ₃ 1 % H ₂ SO ₄ pekat	Terbentuk warna abu-abu kehitaman Terbentuk endapan coklat	Positif
Etil asetat	FeCl ₃ 1 % H ₂ SO ₄ pekat	Terbentuk warna abu-abu kehitaman Terbentuk endapan coklat	Positif
n-Heksan	FeCl ₃ 1 % H ₂ SO ₄ pekat	Terbentuk warna abu-abu kehitaman Terbentuk endapan coklat	Positif

Air	FeCl ₃ 1 % H ₂ SO ₄ pekat	Terbentuk warna abu-abu kehitaman Terbentuk endapan coklat	Positif
-----	---	---	---------

Pada penambahan pereaksi FeCl₃ terhadap sampel ditunjukkan dengan timbulnya warna hijau kehitaman atau biru tua, ini berarti dalam sampel dimungkinkan terkandung senyawa tanin karena tanin merupakan senyawa polifenol (Harborne, 1987 dalam Darmawijaya dan Yudha, 2013). Terbentuknya warna hijau atau biru tinta pada sampel setelah dilakukan penambahan FeCl₃ kemungkinan senyawa tanin akan membentuk kompleks dengan ion Fe³⁺ seperti pada Gambar 4.8



Gambar perkiraan Reaksi Antara Tanin dan FeCl₃ (Saadah,2010 dalam Darmawijaya dan Yudha 2013)

BAB X

PEMISAHAN DAN PEMURNIAN

Pemisahan dan pemurnian dilakukan dengan menggunakan kromatografi kolom gravitasi. Jenis kromatografi kolom ini adalah kromatografi kolom adsorpsi/kromatografi cair-padat, dengan bahan kolom yang digunakan yaitu silika gel. Sebelum melakukan pemisahan dengan menggunakan kromatografi kolom, ekstrak terlebih dahulu dianalisis dengan teknik KLT (Kromatografi Lapis Tipis) untuk melihat eluen dan ekstrak yang paling baik yang digunakan dalam

kromatografi kolom. Ekstrak n-heksan, etil asetat, metanol dan ekstrak air dianalisis dengan teknik KLT dengan menggunakan eluen campuran n-heksan dan etil asetat sebagai fasa geraknya (fasa mobile) dengan perbandingan 8:2 (n-heksan: etil asetat) sedangkan fasa diamnya (fasa stationer) adalah silika gel, hasil KLT seperti pada Gambar.

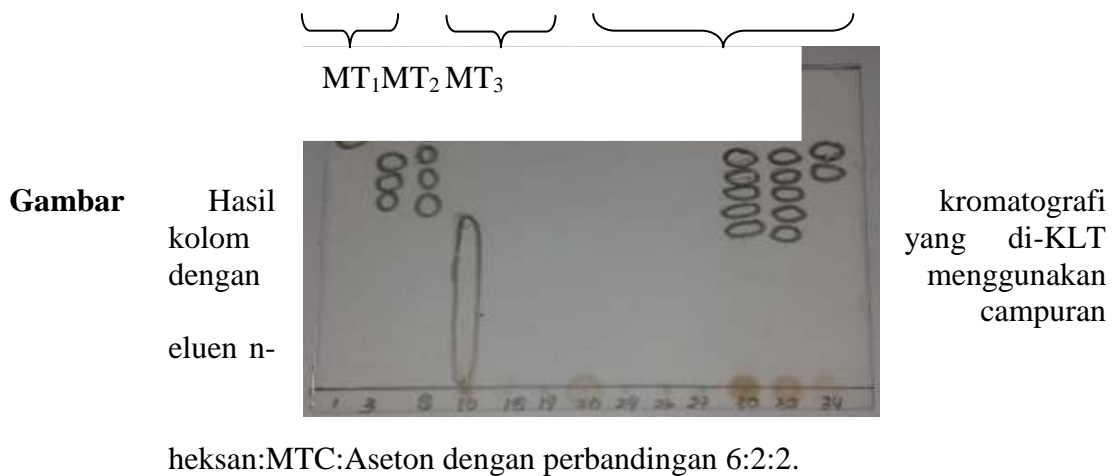


Gambar Hasil KLT fraksi n-heksan (N), ekstrak metanol (M), etil asetat (E) dan fraksi air (A) dengan menggunakan fasa gerak campuran n-heksan: etil asetat dengan perbandingan 8:2

Berdasarkan hasil KLT, ekstrak yang menunjukkan pola noda dan pemisahan yang baik yaitu ekstrak metanol, sehingga ekstrak ini yang diambil untuk dilanjutkan pada tahap pemisahan menggunakan kromatografi kolom. Pemisahan menggunakan kromatografi kolom diawali dengan pengemasan kolom yaitu membuat filter dari kapas untuk menahan silika agar tidak keluar bersama pelarut. Pengemasan kolom dilakukan dengan cara kering, yaitu kolom diisi pelarut n-heksan kemudian dimasukkan silika gel kering yang telah dipanaskan dalam oven ± 20 menit secara perlahan-lahan, untuk mencegah terjadinya gelembung gas dan posisi kran dalam keadaan terbuka. Kolom yang digunakan yaitu kolom yang memiliki panjang 50 cm, dan dimasukkan silika gel sebanyak 30 gram dengan ketinggian 20 cm. Kolom dielusi kurang lebih 4 jam dan dibiarkan selama 1 malam.

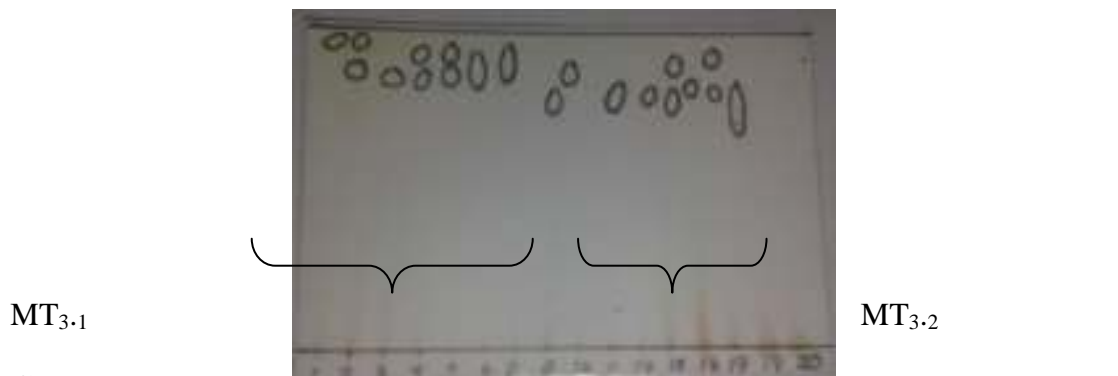
Ekstrak kental metanol sebanyak 10,6 gram ditambahkan dengan silika gel dan dicampurkan sampai ekstrak tercampur dengan rata dan dimasukkan ke dalam kolom dengan kran terbuka. Ekstrak dielusi dengan etil asetat : metanol bergradien mulai dari etil asetat 100% hingga metanol 100% diperoleh 58 fraksi. Dari 58 fraksi

dianalisis dengan teknik kromatografi lapis tipis (KLT) menggunakan eluen n-heksan : Metilen Klorida : Aseton dengan perbandingan 6:2:2 untuk menentukan noda yang sama. Noda-noda yang sama digabung, yang disimbolkan dengan fraksi-fraksi, seperti pada Gambar



Gambar 4.10 merupakan gambaran senyawa yang dipisahkan pada plat KLT. Jarak pemisahan senyawa pada plat silika gel tergantung pada polaritasnya. Senyawa yang tidak polar dan sedikit polar bergerak paling jauh dari titik awal penotolan, sedangkan senyawa yang paling polar bergerak naik dengan jarak paling dekat dari titik awal penotolan tersebut. Hal ini dikarenakan senyawa polar akan lebih teradsorpsi pada plat silika gel dibandingkan senyawa non polar. Kekuatan adsorpsi pada plat silika gel tergantung pada kuat lemahnya interaksi antara senyawa, pelarut, dan adsorben (Padmawinata, 1991 dalam Septianingsi, 2010). Berdasarkan hasil KLT di atas, fraksi yang memiliki pola noda yang sama digabung (disatukan) hingga dan dapatkan sebanyak 34 fial. Hasil kromatograsi pertama mendapatkan 3 fraksi diberi nama MT yang artinya metanol tombili. Terdapat tiga fraksi yaitu fraksi metanol tombili 1 (MT₁)(1-8) 0,9 gram, metanol tombili 2 (MT₂)(9-17) 0,15 gram, dan metanol tombili 3 (MT₃)(18-34) 3 gram. Pada fraksi MT₃ dilakukan pemisahan

lebih lanjut dengan menggunakan kromatografi kolom yang lebih kecil, dengan menggunakan eluen etil asetat : metanol secara bergradien dengan kenaikan kepolaran 10%. Hasil pemisahan mendapatkan 20 vial, kemudian dianalisis dengan KLT untuk melihat pola noda dari masing-masing vial. Hasil KLT terlihat pada Gambar



Gambar Hasil kromatografi kolom yang di-KLT dengan menggunakan campuran eluen n-heksan: metanol dengan perbandingan 1:1.

Nilai Rf yang diperoleh dari hasil analisis kromatografi (KLT) terlihat pada Tabel

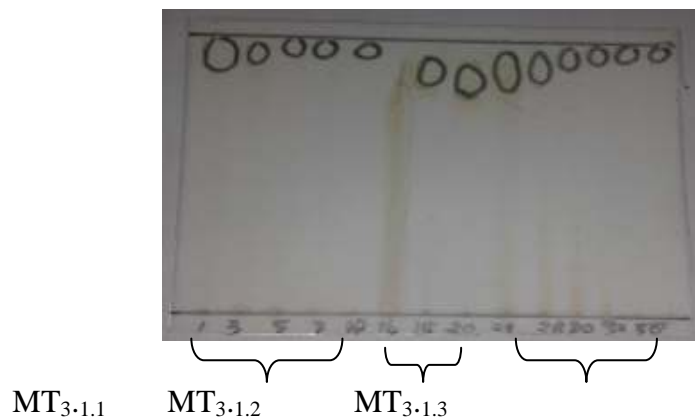
Tabel Nilai Rf hasil analisis KLT dengan menggunakan eluenn-heksan : MTC : aseton (6:2:2)

Fraksi	Botol vial	Berat fraksi (gr)	Rf
(Metanol tombili 3.1) MT _{3.1}	1-10	0,68	0,96
Metanol tombili 3.2) (MT _{3.2})	11-20	0,98	0,9

Pada Tabel 4.8 memperoleh 2 fraksi yaitu fraksi MT_{3.1}(1-10) 0,68 gram dan fraksi MT_{3.2}(11-20) 0,98 gram.

Hasil KLT pada Gambar belum menunjukkan adanya isolat murni, sehingga untuk fraksi MT_{3.1} dilakukan pemisahan kembali dengan menggunakan kromatografi kolom dengan menggunakan eluen etil asetat : n-heksan secara bergradien dengan kenaikan 10%. Hasil pemisahan ini menghasilkan 40 vial. Masing-masing vial dilakukan analisis dengan KLT, untuk melihat pola noda. Pola noda yang sama digabungkan dan mendapatkan 3 fraksi yaitu fraksi MT_{3.1.1}(1-11)

0,18 gram dan fraksi MT_{3.1.2}(12-20) 1,78 gram dan MT_{3.1.3}(21-40) 1,86 gram. Hasil analisis kromatografi lapis tipis (KLT) menunjukkan adanya noda tunggal yang menandakan adanya isolat murni. Hasil KLT terlihat pada Gambar 4.12



Gambar Hasil kromatografi lapis tipis dengan eluen etil asetat : metanol (8:2)

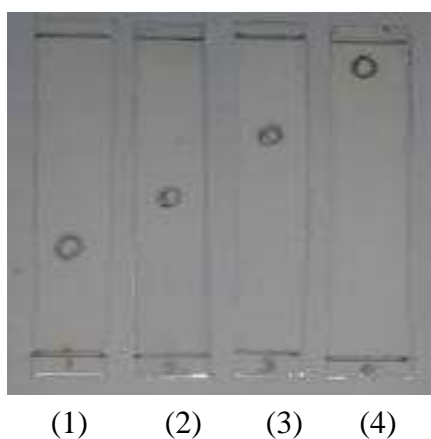
Berdasarkan Gambar 4.12, nilai Rf dapat dilihat pada Tabel 4.9.

Tabel Nilai Rf hasil analisis KLT dengan menggunakan eluen n-heksan : MTC : aseton (6:2:2)

Fraksi	Botol vial	Berat fraksi (gr)	Rf
(Metanol tombili 3.1.1) MT _{3.1.1}	1-11	0,18	0,96
Metanol tombili 3.1.2 (MT _{3.1.2})	12-20	1,78	0,9
Metanol tombili 3.1.3 (MT _{3.1.3})	21-40	1.86	0,96

Uji Kemurnian

Pada fraksi $MT_{3.1.1}$ menunjukkan kemungkinan adanya isolat murni, sehingga di lakukan uji kemurnian menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT) dengan menggunakan berbagai perbandingan eluen yaitu n-heksan : MTC : aseton (9:1:0,5), n-heksan : etil asetat (8:2), n-heksan : aseton (8:2), etil asetat : metanol (9:1). Hasil uji kemurnian dengan menggunakan uji KLT terlihat pada Gambar



Gambar Hasil kromatografi lapis tipis dengan menggunakan berbagai eluen.(1) n-heksan : MTC : aseton (9:1:0,5), (2) n-heksan : etil asetat (8:2), (3) n-heksan : aseton (8:2), (4) etil asetat : metanol (9:1)

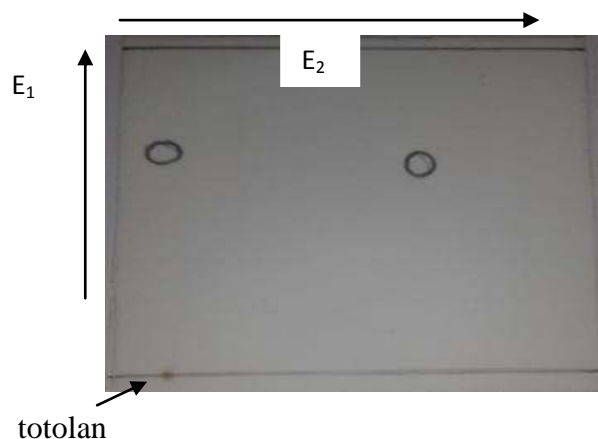
Berdasarkan hasil analisis kromatografi lapis tipis (KLT), (Gambar 4.13) fraksi $MT_{3.1.1}$ menunjukkan adanya isolat murni, hal ini juga terlihat pada pola noda yang ada hanya memberikan pola noda tunggal pada berbagai variasi eluen. Nilai Rf yang diperoleh dari hasil analisis kromatografi (KLT) fraksi $MT_{3.1.1}$ berbagai eluen terlihat pada Tabel 4.10.

Tabel. Nilai Rf hasil analisis KLT dugaan isolat murni (fraksi $MT_{3.1.1}$) berbagai eluen

Fraksi	Eluen	Nilai Rf
Fraksi $MT_{3.1.1}$	n-heksan : MTC :Aseton (9:1:0,5)	0,34
	n-heksan : etil asetat (8:2)	0,5
	n-heksan : aseton (8:2)	0,66

Etil asetat : metanol (9:1)	0,84
-----------------------------	------

Fraksi $MT_{3.1.1}$ yang menunjukkan isolat murni diuji kemurniannya kembali dengan analisis kromatografi lapis tipis dua dimensi. Cara pengerjaan pada kromatografi lapis tipis dua dimensi dilakukan dengan menggunakan eluen (fasa gerak) yang berbeda, dimana sampel (fraksi $MT_{3.1.1}$) ditotolkan pada plat KLT kemudian dielusi dengan menggunakan eluen n-heksan : aseton (8:2) sebagai E_1 , lalu plat KLT diangkat, dikeringkan dan diputar 90° , dan dielusi kembali dengan menggunakan eluen yang berbeda yaitu kloroform : metanol (8:2) sebagai E_2 . Hasil uji kemurnian dengan menggunakan analisis kromatografi lapis tipis dua dimensi terlihat pada Gambar



Gambar. Hasil kromatografi lapis tipis dua dimensi menggunakan eluen n-heksan : aseton (8:2) sebagai E_1 , dan eluen kloroform : metanol (8:2) sebagai E_2 .

Berdasarkan Gambar, nilai R_f pada kromatografi lapis tipis dua dimensi dapat dilihat pada Tabel.

Tabel. Nilai R_f hasil analisis KLT dua dimensi (fraksi $MT_{3.1.1}$)

Eluen	Nilai R_f
n-heksan : aseton (8:2)	0,6
kloroform : metanol (8:2)	0,7

Uji fitokimia Isolat Murni

Fraksi hasil kolom yang diduga merupakan isolat murni dilakukan uji fitokimia, untuk melihat senyawa yang terkandung di dalamnya. Hasil uji fitokimia isolat murni dapat dilihat pada Tabel.

Tabel. Hasil uji fitokimia isolat ekstrak metanol biji tombili fraksi MT_{3.1.1}

Uji Fitokimia	Pereaksi	Hasil uji	Keterangan
Flavonoid	NaOH	Negatif	Tidak terjadi perubahan warna dari semua pereaksi
	H ₂ SO ₄	Negatif	
	Mg-HCl	Negatif	
Steroid	Lieberman-Burchard	Negatif	Tidak terjadi perubahan warna
Terpenoid	Lieberman-Burchard	Negatif	Tidak terjadi perubahan warna
Alkaloid	Mayer	Positif	Terbentuk endapan pada pereaksi Dragendrof
	Wagner		
	Dragendroff		
	Hager		

Berdasarkan Tabel hasil uji fitokimia isolat murni menunjukkan bahwa isolat murni mengandung senyawa alkaloid. Hal ini dibuktikan dengan terbentuknya endapan pada pada pereaksi Dragendrof. Sedangkan pada uji flavonoid, steroid, dan terpenoid menunjukkan hasil yang negatif dengan tidak adanya perubahan warna dari masing-masing pereaksi. Dari hasil Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh (Suci safitri, 2015) hasil uji fitokimia isolat murni yang didapatkan adalah terpenoid, hasil ini berbeda dimana isolat yang ditemukan mengandung senyawa alkaloid. Hal ini dimungkinkan terjadi dikarenakan fraksi isolat yang ditemukan berbeda dengan isolat yang ditemukan sekarang. Isolat yang ditemukan sebelumnya ditinjau dari segi kepolaran berada pada pelarut semi polar ditinjau dari proses pemisahan kromotografi menggunakan pelarut hampir non polar, sedangkan isolat yang ditemukan sekarang lebih ke arah polar. Hal ini dapat dibuktikan pada proses

pemisahan kolom ke 3 dari awal paking kolom menggunakan etil asetat serta eluan secara bergradien etil asetat – metanol.

BAB XII

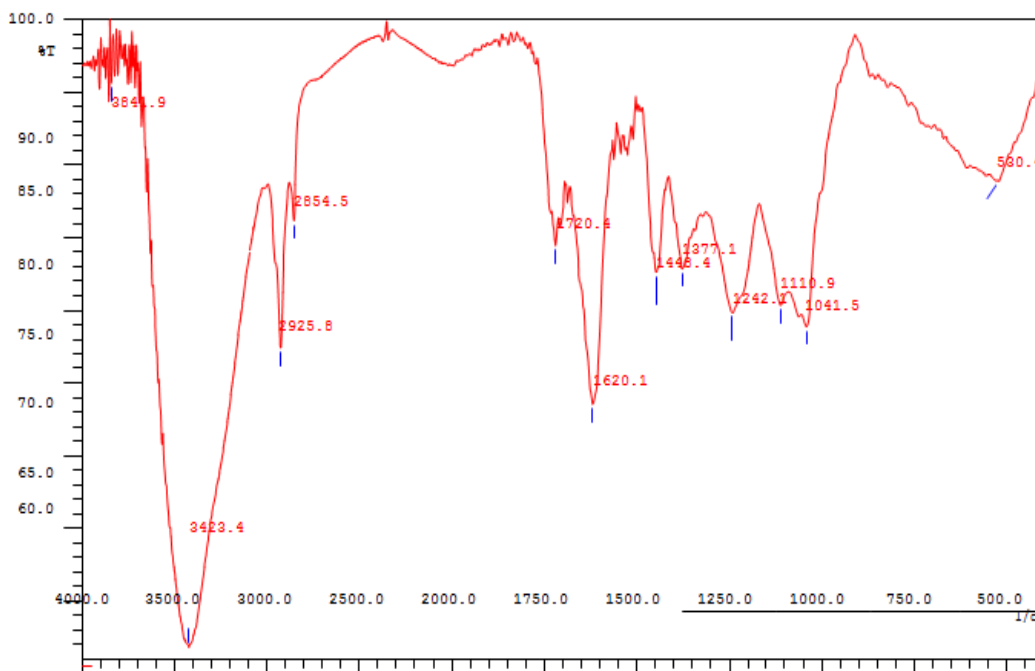
KARAKTERISASI SENYAWA

Karakterisasi golongan senyawa aktif dilakukan dengan alat spektrofotometer inframerah dan spektrofotometer UV-Vis.

Spektrofotometer Inframerah

Spektrofotometer inframerah digunakan untuk mengetahui gugus fungsi yang terdapat dalam isolat. Hasil spektrofotometer inframerah terlihat pada Gambar 4.12

Gambar Hasil spektrofotometer inframerah dari isolat (Fraksi MT_{3.1.1})



Berdasarkan Gambar 4.12 Hasil spektrofotometer inframerah isolat

Berdasarkan Gambar memperlihatkan bahwa isolat dari fraksi MT_{3.1.1} menunjukkan adanya serapan seperti ulur -N-H pada daerah bilangan gelombang 3423.4 cm⁻¹ terlihat pada daerah 3300-3500 cm⁻¹(Creswell,dkk 1982). Serapan ini didukung dengan munculnya serapan pada bilangan gelombang 1242.1 cm⁻¹ yang

menunjukkan adanya serapan tekukan C-N yang terlihat pada daerah 1020-1250 cm^{-1} (silverstein,dkk 1984). Adanya pita tajam dengan intensitas lemah pada bilangan gelombang 2925,8 cm^{-1} dan 2854,5 cm^{-1} merupakan ulur C-H pada daerah 2850-2950 cm^{-1} (silverstein, dkk 1984), dan didukung oleh adanya serapan tajam dan intensitas lemah pada bilangan gelombang 1475-1540 cm^{-1} yang merupakan vibrasi tekukan C-H (Creswell, dkk 1982).

Gugus karbonil (C=O) terdapat pada bilangan gelombang 1720,4 terlihat pada daerah 1870-1540 cm^{-1} (Creswell,dkk 1982), yang didukung dengan adanya serapan tajam dan lemah pada bilangan gelombang 1620,1 cm^{-1} pada daerah 1500-1675 cm^{-1} (silverstein,dkk 1984).

Tabel Analisis hasil spektrofotometer inframerah dari isolat (Fraksi MT_{3.1.1})

No	Bilangan Gelombang (Cm^{-1})						
	Isolat	Pustaka (Santi 2010)	Pustaka (silverstein 1984)	Pustaka (Creswell 1982)	Bentuk Pita	Intensitas	Kemungkinan gugus fungsi
1	3423,4	3425,3	-	3300-3500	Lebar	Kuat	Ulur N-H
2	2925,8 2854,5	2927,7	2850-2950	-	Tajam	Lemah	Ulur C-H
3	1720,4	1735,8	-	1870-1540	Tajam	Lemah	Ulur C=O
4	1620,1	-	1500-1675	-	Tajam	Lemah	Ulur C=C
5	1448,4 1377,1	1423,4	-	1475-1300	Tajam	Lemah	Tekuk C-H
6	1242,1 1110,9 1041,5	1110,9	1020-1250	-	Tajam	Lemah	Tekuk C-N
7	530,4	-	-	-	Lebar	Lemah	-

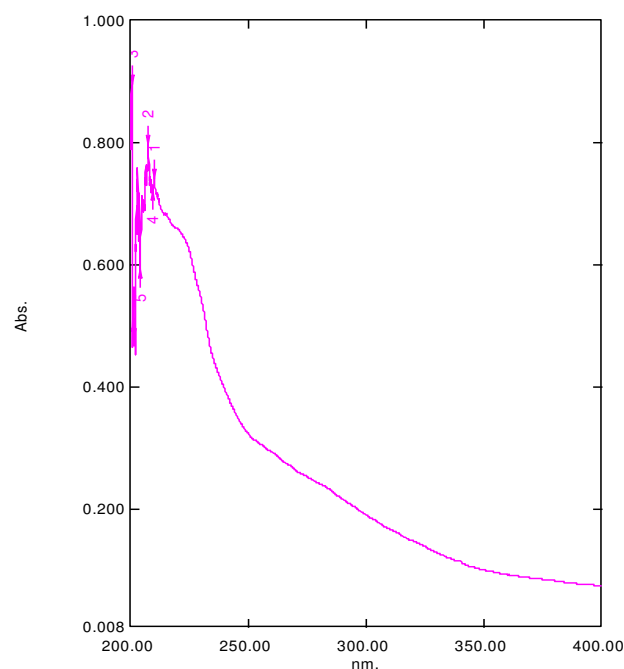
Berdasarkan Tabel 4.13 di atas dapat disimpulkan bahwa isolat mempunyai karakteristik gugus fungsi –N-H, C-H, C-N, dan C=O.

Spektrometri UV-Vis

Hasil analisis spektrum UV-Vis ekstrak metanol biji tombili menunjukkan adanya tiga puncak serapan terlihat pada Gambar 4.13.

Berdasarkan Gambar 4.13, Data spektrum UV-Vis memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang 209,9 nm. Hal tersebut mengindikasikan

adanya ikatan rangkap tidak terkonjugasi yang menunjukkan adanya ikatan rangkap pada gugus fungsi C=O. Puncak tersebut diduga akibat terjadinya transisi elektronik berturut-turut dari $n-\pi^*$ dan $n-\sigma^*$. Senyawa yang mempunyai transisi elektron $n-\sigma^*$ disebabkan oleh suatu kromofor yang tidak terkonjugasi, contohnya adalah gugus C=O. Transisi cahaya mengabsorpsi cahaya pada panjang gelombang sekitar 200 nm, sedangkan senyawa yang mempunyai transisi elektron $n-\pi^*$. Mengabsorpsi cahaya di daerah ultraviolet kuat antara 200-400 nm (Creswell, 2005).



Gambar Hasil spektrofotometer UV-Vis (Fraksi $MT_{3.1.1}$)

BAB XII

Uji Hayati

Uji hayati ini dilakukan untuk mengetahui efektifitas pemberian isolat fraksi metanol biji tombili sebagai pestisida nabati dalam penanggulangan hama pada tanaman padi. Isolat yang digunakan sebagai sampel uji hayati yaitu hasil dari pemisahan dan pemurnian $MT_{3.1}$ yang menunjukkan adanya noda tunggal yang menandakan adanya isolat murni dan mendapatkan tiga fraksi yaitu fraksi $MT_{3.1.1}$ (1-11) 0,18 gram dan fraksi $MT_{3.1.2}$ (12-20) 1,78 gram dan $MT_{3.1.3}$ (21-40) 1,86 gram.

Masing masing fraksi tersebut diencerkan dengan konsentrasi 0,1%, 0,05%, dan 0,01%, ditambah dengan variasi kontrol (kontrol tanpa daun, kontrol + daun, dan kontrol daun + metanol) setelah konsentrasi masing-masing siap lalu disiapkan wadah dan dimasukan kertas saring yang sudah disesuaikan dengan ukuran wadah. Kemudian memasukan 3 helai daun padi segar yang telah dioleskan dengan sediaan konsentrasi. Setelah semua wadah sudah terisi daun padi dengan konsentrasi masing masing kemudian dimasukkan hama. Hama yang digunakan yaitu hama yang didapat dari para petani di daerah sekitar Gorontalo, dengan jenis hama yaitu kepinding tanah, dan diamati 1 × 24 jam. Hasil uji masing masing kontrol maupun konsentrasi isolat fraksi metanol biji tombili dapat dilihat pada Tabel 4.14, 4.15, 4.16, dan 4.17.

Tabel. Hasil uji variasi kontrol (kontrol tanpa daun, kontrol + daun, dan kontrol daun + metanol

No	Kontrol	Daun (Helai)	Kondisi hama	Kondisi hama setelah diuji	Keterangan
Pengamatan pukul 10:00 Pagi					
1.	Tanpa daun	3 (Segar)	Hidup	Hidup	Daun berwarna hijau kekuningan
2.	Daun	3 (Segar)	Hidup	Hidup	Daun berwarna hijau kekuningan
3.	Daun + Metanol	3 (Segar)	Hidup	Hidup	Daun berwarna hijau kekuningan
Pengamatan pukul 22:00 Malam					
1.	Tanpa daun	3 (Segar)	Hidup	Hidup	Daun berwarna hijau kekuningan
2.	Daun	3 (Segar)	Hidup	Hidup	Daun berwarna hijau kekuningan
3.	Daun + Metanol	3 (Segar)	Hidup	Hidup	Daun berwarna hijau kekuningan

Hasil uji kontrol menunjukkan bahwa hama (kepinding tanah), dari pengamatan pukul 10:00 pagi dan pukul 22:00 malam tidak mengalami kematian.

Hal ini menandakan hama tersebut tidak terpengaruh dengan adanya uji kontrol tanpa daun, daun, dan daun + metanol. Hasil uji fraksi MT_{3.1.1} dapat dilihat pada Tabel 4.15

Tabel. Hasil uji Efektivitas Pestisida Nabati dari isolat metanol biji tombili pada Tanaman Padi (MT_{3.1.1})

No	Isolat	Konsentrasi ekstrak (%)	Daun (Helai)	Kondisi hama	Kondisi hama setelah diuji	Keterangan
Pengamatan pukul 10:00 Pagi						
1.	MT _{3.1.1}	0,1	3 (Segar)	Hidup	Mati	Daun berwarna hijau kekuningan,.
		0,05	3 (Segar)	Hidup	Mati	Daun berwarna hijau kekuningan,
		0,01	3 (Segar)	Hidup	Hidup	Daun berwarna hijau kekuningan,
Pengamatan pukul 22:00 Malam						
		0,1	3 (Segar)	Mati	Mati	Daun berwarna hijau kekuningan,k ering dan menggulung
		0,05	3 (Segar)	Mati	Mati	Daun berwarna hijau kekuningan, kering dan menggulung
		0,01	3 (Segar)	Hidup	Hidup	Daun berwarna hijau kekuningan, kering dan menggulung

Berdasarkan Tabel 4.15, setelah diuji dengan menggunakan isolat MT_{3.1.1} pada konsentrasi 0,1% dan 0,05% pukul 10:00 pagi hama mengalami kematian. Kemudian pada pengamatan pukul 22:00 malam tidak terjadi perubahan dimana konsentrasi 0,1% dan 0,05% hama mati sedangkan pada konsentrasi 0,01% hama tidak mengalami kematian.

Tabel. Hasil uji Efektivitas Pestisida Nabati dari isolat metanol biji tombili pada Tanaman Padi (MT_{3.1.2})

No	Isolat	Konsentrasi ekstrak (%)	Daun (Helai)	Kondisi hama	Kondisi hama setelah diuji	Keterangan
Pengamatan pukul 10:00 Pagi						
1.	MT _{3.1.2}	0,1	3 (Segar)	Hidup	Mati	Daun berwarna hijau kekuningan,.
		0,05	3 (Segar)	Hidup	Hidup	Daun berwarna hijau kekuningan,
		0,01	3 (Segar)	Hidup	Hidup	Daun berwarna hijau kekuningan,
Pengamatan pukul 22:00 Malam						
	MT _{3.1.2}	0,1	3 (Segar)	Mati	Mati	Daun berwarna hijau kekuningan, kering dan menggulung
		0,05	3 (Segar)	Hidup	Mati	Daun berwarna hijau kekuningan, kering dan menggulung
		0,01	3 (Segar)	Hidup	Hidup	Daun berwarna hijau kekuningan, kering dan menggulung

Tabel menunjukkan hasil uji isolat MT_{3-1.2} mulai dari pengamatan pukul 10:00 menunjukkan pada konsentrasi 0,1% hama mengalami kematian sedangkan pada konsentrasi 0,05% dan konsentrasi 0,01% hama tidak mengalami kematian. Tetapi pada pengamatan pukul 22:00 malam menunjukkan bahwa pada konsentrasi 0,1% dan 0,05% hama mengalami kematian dan konsentrasi 0,01% hama tidak mengalami kematian. Hal ini menunjukkan adanya perubahan kondisi hama dari pengamatan pukul 10:00 pagi sampai pukul 22:00 malam.

Tabel. Hasil uji Efektivitas Pestisida Nabati dari isolat metanol biji tombili pada Tanaman Padi (MT_{3-1.3})

No	Isolat	Konsentrasi ekstrak (%)	Daun (Helai)	Kondisi hama	Kondisi hama setelah diuji	Keterangan
Pengamatan pukul 10:00 Pagi						
1.	MT _{3-1.3}	0,1	3 (Segar)	Hidup	Mati	Daun berwarna hijau kekuningan,.
		0,05	3 (Segar)	Hidup	Mati	Daun berwarna hijau kekuningan,
		0,01	3 (Segar)	Hidup	Hidup	Daun berwarna hijau kekuningan,
Pengamatan pukul 22:00 Malam						
		0,1	3 (Segar)	Mati	Mati	Daun berwarna hijau kekuningan,k ering dan menggulung
		0,05	3 (Segar)	Mati	Mati	Daun berwarna hijau kekuningan, kering dan menggulung
		0,01	3 (Segar)	Hidup	Hidup	Daun berwarna hijau kekuningan, kering dan menggulung

Tabel, menunjukkan hasil yang tidak jauh berbeda dengan hasil uji isolat MT_{3.1.1} dan MT_{3.1.2} dimana pada konsentrasi 0,1% dan 0,05% hama mengalami kematian mulai dari pengamatan pukul 10:00 pagi sampai pada pengamatan pukul 22:00 malam.

Berdasarkan tabel 4.14, 4.15, 4.16, dan 4.17 dapat disimpulkan bahwa konsentrasi isolat yang memiliki efektifitas yang sangat baik pada uji hayati yaitu konsentrasi 0,1% dan 0,05%. Hal ini dapat dilihat dari kematian hama (Kepinding tanah).

Kepinding tanah merupakan salah satu hama tanaman padi, yang dapat menimbulkan kerugian bagi petani. Ciri kepinding ini adalah berbau busuk, menyerang tanaman dengan cara menghisap cairan pada tanaman, ukuran tubuh dengan panjang 1 cm dan lebar 1 cm. Cara makannya dilakukan dengan mulut penghisapnya, menghisap cairan batang, daun tanaman. Kepinding menghisap cairan sari makanan dalam batang, daun tanaman, sehingga dapat mengurangi energi dan unsur hara yang diperlukan oleh tanaman. (Liptan, 1998)

Pengisapan oleh kepinding tanah pada fase anakan menyebabkan jumlah anakan berkurang dan pertumbuhan terhambat (kerdil), dan gabah hampa, bekas hisapan berubah warna menjadi coklat atau kuning. Daun menjadi kering dan menggulung secara membujur. Apabila serangan terjadi setelah fase bunting, tanaman menunjukkan gejala terhambatnya pembentukan malai sampai pada tidak terbentuknya malai, atau terbentuk malai yang kerdil, dan gabah hampa, (Paendong, 2011).

Kematian hama (kepinding tanah) pada uji hayati ini disebabkan oleh adanya senyawa toksik dalam biji tombili yang bekerja sebagai racun, yaitu senyawa alkaloid. Senyawa alkaloid ini merupakan golongan senyawa organik yang paling banyak ditemukan di alam. Alkaloid umumnya dapat didefinisikan sebagai substansi dasar yang memiliki satu atau lebih atom nitrogen yang bersifat basa dan tergabung dalam suatu sistem siklis, yaitu cincin heterosiklik. Alkaloid akan terasa pahit di lidah, Alkaloid dikategorika sebagi racun, senyawa tersebut menunjukkan aktivitas

fisiologis yang luas, hampir tanpa terkecuali bersifat basa, lazim mengandung nitrogen dalam cincin heterosiklik (Harbone,1997).

Alkaloid dapat menghambat daya makan serangga, senyawa alkaloid dapat bertindak sebagai stomach poisoning atau racun perut. Oleh karena itu, bila senyawa alkaloid masuk kedalam tubuh serangga, maka alat pencernaannya akan terganggu. Selain itu, senyawa tersebut menghambat reseptor perasa pada daerah mulut serangga. Racun perut juga akan mempengaruhi metabolisme larva setelah makan racun. Racun akan masuk kedalam tubuh dan diedarkan bersama darah. Racun yang terbawa darah akan mempengaruhi sistem saraf dan kemudian akan menimbulkan kematian(Khoirul, 2016).

BAB XV PENUTUP

Hasil uji fitokimia isolat dari ekstrak metanol biji tombili adalah alkaloid. Senyawa metabolit sekunder yang bersifat sebagai pestisida nabati yaitu senyawa alkaloid. Karena senyawa alkaloid ini mempunyai daya racun, yang mempengaruhi sistem saraf kepinging tanah dan bisa digunakan sebagai penolak serangga. Cara kerja senyawa alkaloid adalah bertindak sebagai stomach poisoning atau racun perut. Konsentrasi ekstrak metanol biji tombili yang paling efektif digunakan sebagai pestisida nabati yaitu pada konsentrasi 0,1% dan 0,05%.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, S. Arifin. 1986. Kimia Organik Bahan Alam. Universitas Terbuka: Jakarta
- Adnan, M. 1997. Teknik Kromatografi untuk Analisis Bahan Makanan. Yogyakarta: ANDI
- Anwar, Chairil. 1996. Pengantar Praktikum Kimia Organik. Yogyakarta ; UGM
- Astuti, Maria Dewi., Kuntorini, Evi Mintowati., dan Putri, Farah Eka. 2014. Isolasi dan Identifikasi Terpenoid dari Fraksi n-butanol Herba Lampasau (*Diplazium esculentum* Swartz). Valensi Vol. 4, No.1. FMIPA Universitas Lambung Mangkurat: Kalimantan Selatan.
- Creswell, Clifford J., Olaf A. Runquist, dan Malcolm M. Campbell. 2005. Analisis Spektrum Senyawa Organik. ITB. Bandung

- Darmawijaya, Putu, dan Yudha, Ari Natalia. 2013. Skrining fitokimia Ekstrak Etanol Daun Pancasona (*Tinospora coricae* Beumee). Penelitian Hibah Dosen Pemula DIKTI. Bali : Universitas Dhyana Pura
- Day & Underwood. 2001. Analisis Kimia Kuantitatif. Jakarta; Erlangga
- Fernandez, Benny Rio. 2011. Spektroskopi Infra Merah (FT-IR) dan Sinar Tampak (UV-Vis). Pascasarjana Universitas Andalas. Padang
- Fessenden & Fessenden. 1986. Kimia Organik Jilid 1 Edisi Ketiga. Erlangga : Jakarta
- Gafur, A. Maryati; Isa, Ishak; dan Bialangi, Nurhayati. 2013. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Daun Jamblang (*Syzygium cumini*). Jurnal Entropi Gorontalo : UNG
- Harborne, J. B, 1987. Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan, Edisi kedua, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soedira, ITB Press, Bandung
- Khopkar SM. 2003. Konsep Dasar Kimia Analitik. Jakarta: UI Press
- Kinoshita, Takeshi. 2000. Chemical Studies on the Philippine Crude Drug Calumbibit (Seeds of *Caesalpinia bonduc*): The Isolation of Cassane *Diterpenes Fused with α,β -Butenolide*. Chem. Pharm. Bull 48(9). Faculty of Pharmaceutical Science. Teikyo University: Japan
- Lenny, Sovia. 2006. Senyawa Flavonoida, Fenilpropanoida dan Alkaloida. Karya Ilmiah. Universitas Sumatera Utara: Medan.
- Malangngi L.P., M.S. Sangi dan J.J.E. Paendong. 2012. Penentuan Kandungan Tanin dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Buah Alpukat (*Persea americana* Mill.). Unsrat, Manado.
- Manitto, Paolo. 1992. Biosintesis Produk Alami. Semarang: IKIP Semarang Press
- Marlinda, Mira., Sangi, S Meiske., Wuntu, D Audy. 2012. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Biji Buah Alpukat (*Persea americana* Mill). Manado : Jurusan Kimia FMIPA Unstrat
- Mayanti, Tri W, dan Drajat Natawigena, Unang Supratman, Roekmi-ati Tjokronegoro. 2007. Senyawa Tetranortriterpenoid Yang Bersifat Antimakan Dari Biji Buah *Lansium domesticum* Corr cv. Kokossan (MELIACEAE)
- Mobasher, Sarah; Sumaya, Saied; Naz, Shaista and Khan, Juhi. 2014. Studies on Chemical Constituen of *Caesalpinia bonduc* L Roxb. Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Karachi 75270: Pakistan.
- Mulyani, Sri dan Toga Laksana. 2011. Analisis Flavonoid dan Tannin dengan Metoda Mikroskopi-Mikrokimiawi. Majalah Obat Tradisional. Universitas Gajah Mada. Yogyakarta
- Regnault_Roger, C., 1997. The potential of botanical essential oils for insect pest control *Integrated Pest Management Reviews* 2: 25-34
- Rohman, Abdul. 2009. Kromatografi untuk Analisis Obat. Graha Ilmu. Yogyakarta
- Sangi, M., S., Momuat, L., I. dan Kumaunang, M. 2012. Uji Toksisitas Dan Skrining Fitokimia Tepung Gabah Pelepah Aren (*Arenga pinnata*). Universitas Sam Ratulangi. Manado
- Silverstein, Bassler, dan moril 1984. Penyediaan Spektrometrik Senyawa Organik. Edisi ke-4, Jakarta: Erlangga.

- Singh, Vibha. dan Pramod, K. Raghav. 2012. Review on Pharmacological Properties of *Caesalpinia Bonduc* (L). Vol 2, no 3. India : Jayoti Vydapeeth Woman's University
- Soerya, Dewi Marlina, dan Venty Suryanti, Suyono. 2005. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol. Jurusan Biologi FMIPA UNS Surakarta
- Sudjati. 1986. Metode Pemisahan. UGM-Press : Yogyakarta
- Vankenburg, Van, and Buyaphastsara, N. 2002. Plant Resources of South East Asia no.12 (2). Medicinal and Poisonous Plants. Bogor: Indonesia
- Widiastuty, Winda. 2006. Teknik Spektroskopi Inframerah Transformasi Fourier untuk Penentuan Profil Kadar Xantorizol dan Aktivitas Antioksidan Temulawak.
- Yadav, Prem Prakash. 2009. Cassane Diterpenes from *Caesalpinia bonduc*. Central Drug Research Institute: India
- Yang, R.Z. dan C.S. Tang. 1988. Plants used for pest control in China: a literature review. *Economic Botany* 42: 376-406.
- Yazid, Estien. 2005. Kimia Fisika untuk Paramedis. Yogyakarta
- Zenta, Firdaus. 2003. Spektroskopi Ultraviolet-Tampak dan Inframerah. Universitas Hasanudin. Makasar

LAMPIRAN 1 : CARA PEMBUATAN REAGEN UJI FITOKIMIA

a. Pereaksi Wagner

KI sebanyak 6 gr dilarutkan dalam 15 mL aquadest kemudian ditambahkan 2 gr I_2 dan aquadest hingga volume 100 mL.

b. Pereaksi Mayer

$HgCl_2$ sebanyak 1,358 gr dilarutkan dalam 60 mL aquadest (larutan A). KI sebanyak 5 gr dilarutkan dalam 10 mL aquadest (larutan B). Larutan A dituangkan kedalam larutan B, diencerkan dengan aquadest sampai volume larutan menjadi 100 ml.

c. Pereaksi Hager

Sebanyak 2,5 gr asam pikrat dilarutkan dalam 250 mL aquadest

d. Pereaksi Dragendroff

27,7 gr KI dilarutkan dalam 50 mL aquadest, ditambahkan Bismut nitrat yang dilarutkan dalam 209 mL HNO_3 . Jika terjadi kristal KNO_3 yang mengapung, dekantasi dengan 100 mL.

LAMPIRAN 2 : DOKUMENTASI PENELITIAN





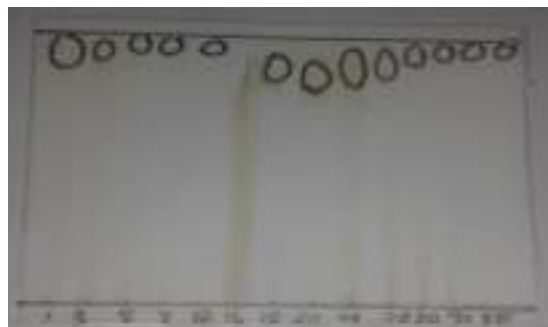
Ekstrak kental metanol sebanyak 68 gram



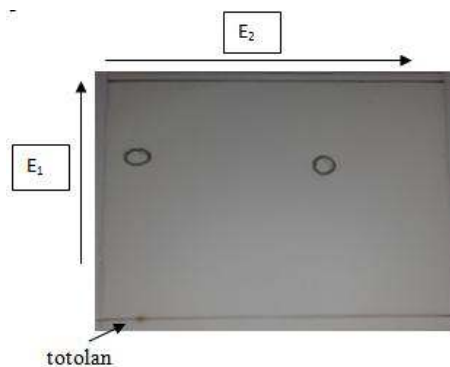
Proses pemisahan dengan menggunakan kromatografi kolom



Isolat Murni



Hasil Kromatografi lapis tipis dengan eluen etil asetat : metanol



Hasil kromatografi lapis tipis dua dimensi menggunakan eluen n-heksan : aseton (8:2) sebagai E_1 , dan eluen kloroform : metanol (8:2) sebagai E_2 .



Hasil kromatografi lapis tipis dengan menggunakan berbagai eluen.(1) n-heksan : MTC : aseton (9:1:0,5), (2) n-heksan : etil



Proses Uji fitokimia



Larutan uji hayati dengan berbagai konsentrasi



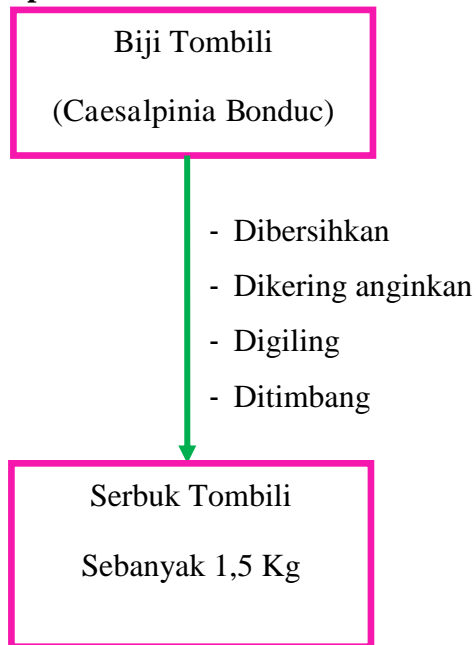


Hama kepinding tanah

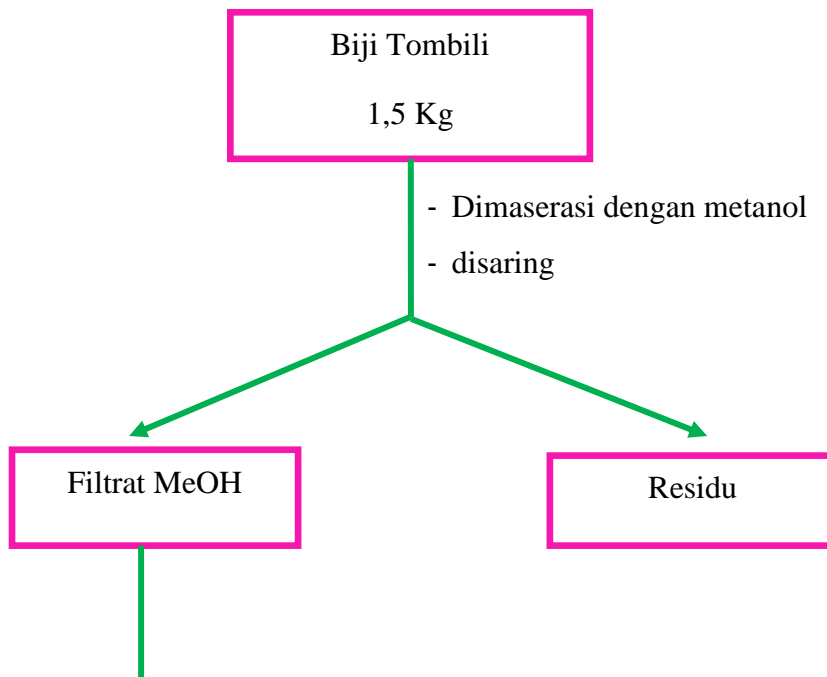
Hama ini adalah hama yang digunakan dalam uji hayati

LAMPIRAN 3 : DIAGRAM ALIR PROSEDUR KERJA

1. Preparasi Sampel



2. Maserasi

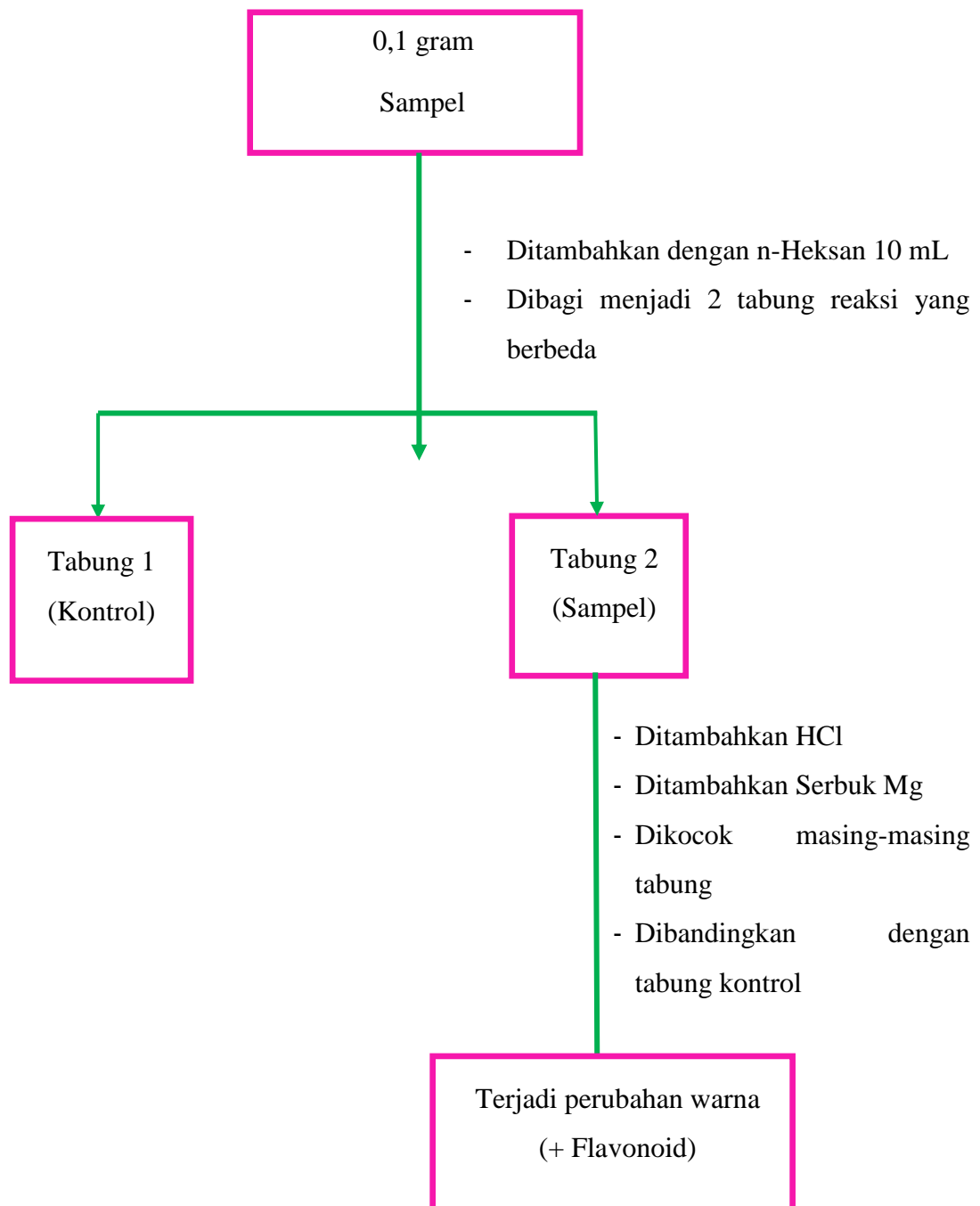


- Dipekatkan dengan rotary evaporator pada suhu 40-45 °C

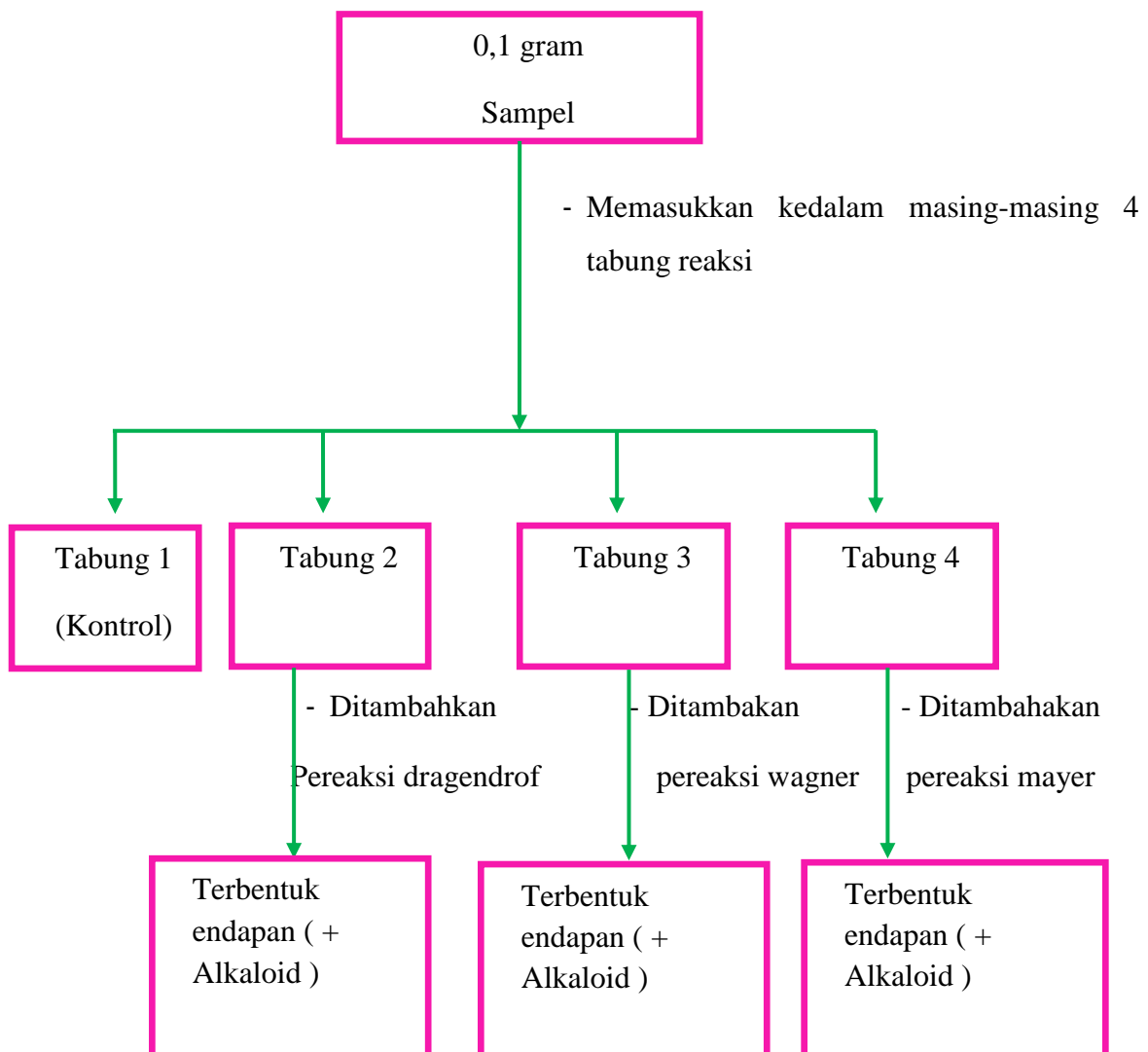
Ekstrak kental MeOH
Sebanyak 68 gram

3. Uji Fitokimia Ekstrak kental metanol

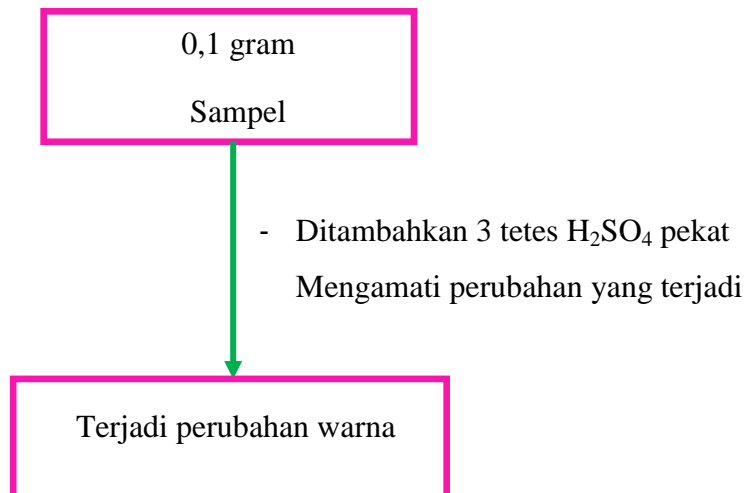
3.1 Uji Flavonoid



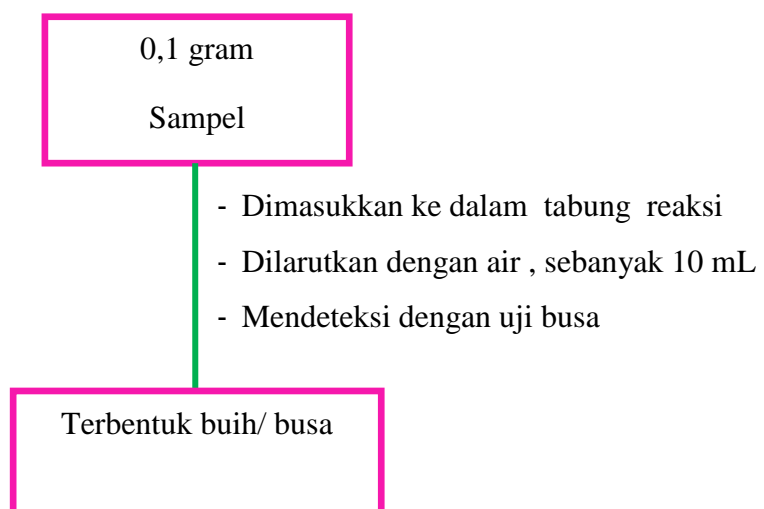
3.2 Uji Alkaloid



3.3.Uji terpenoid/Steroid

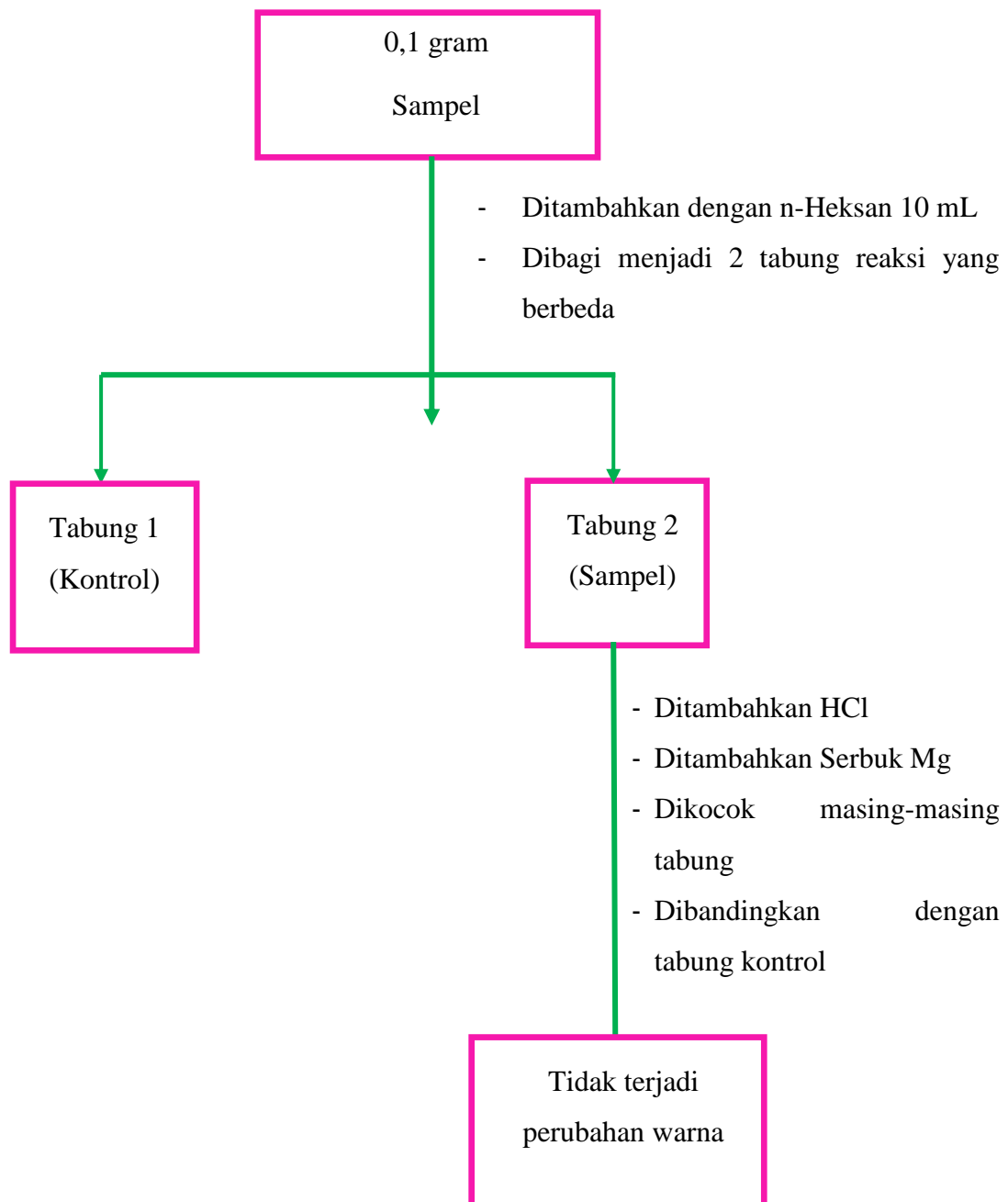


3.4.Uji Saponin

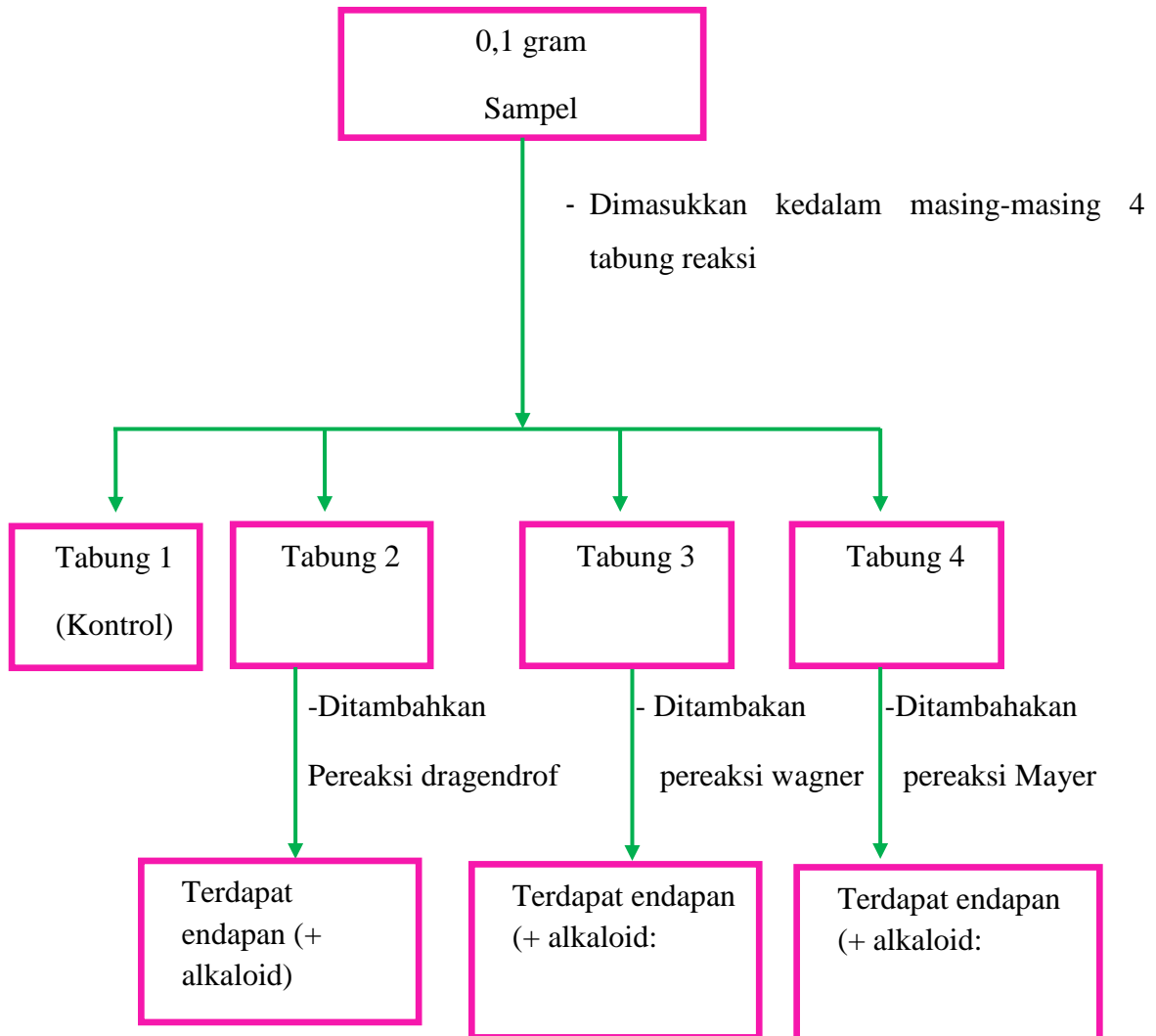


4. Uji fitokimia isolat murni

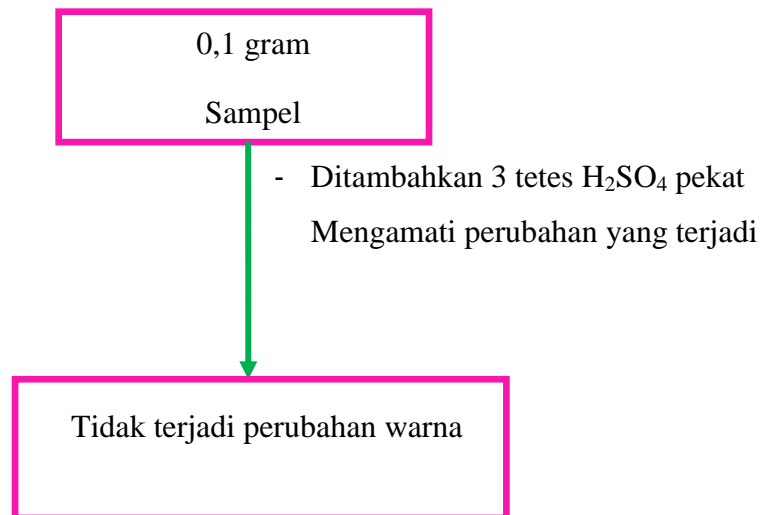
1). Uji Flavonoid



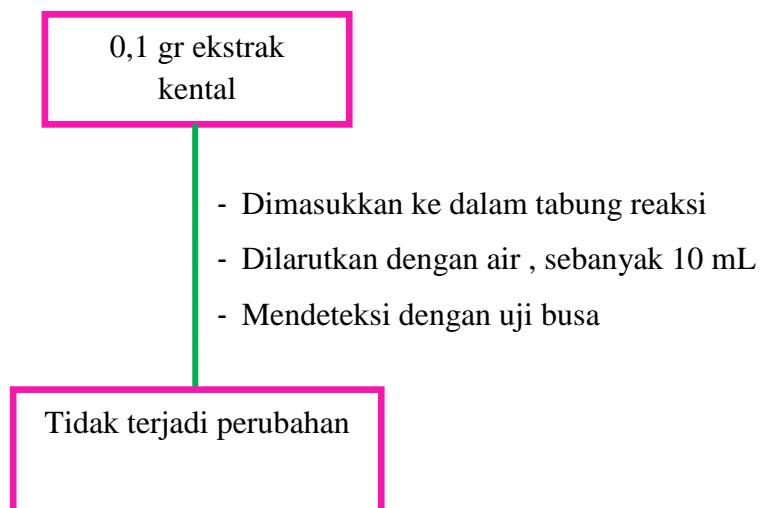
2). Alkaloid



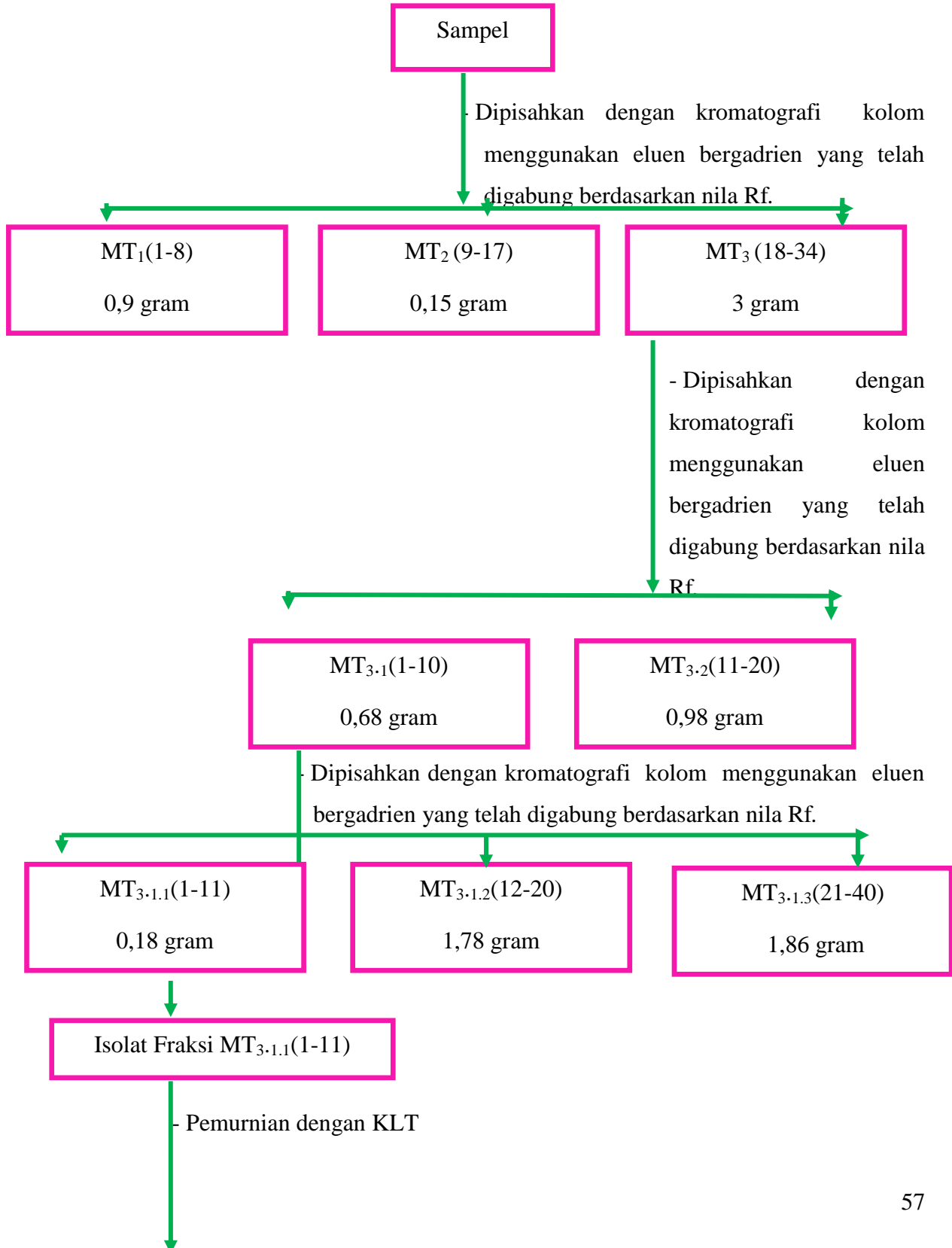
3).Uji terpenoid/Steroid



4).Uji Saponin



5. Pemisahan dan Pemurnian



- Diuji fitokimia

- Diidentifikasi dengan spektrofotometri inframerah dan UV-Vis

Senyawa Metabolit sekunder

Sampel

Diuji hayati untuk melihat efektifitas fraksi isolat sebagai pestisida nabati

MT_{3.1.1}

MT_{3.1.2}

MT_{3.1.3}

0,1%

0,05%

0,01%

0,1%

0,05%

0,01%

0,1%

0,05%

0,01%

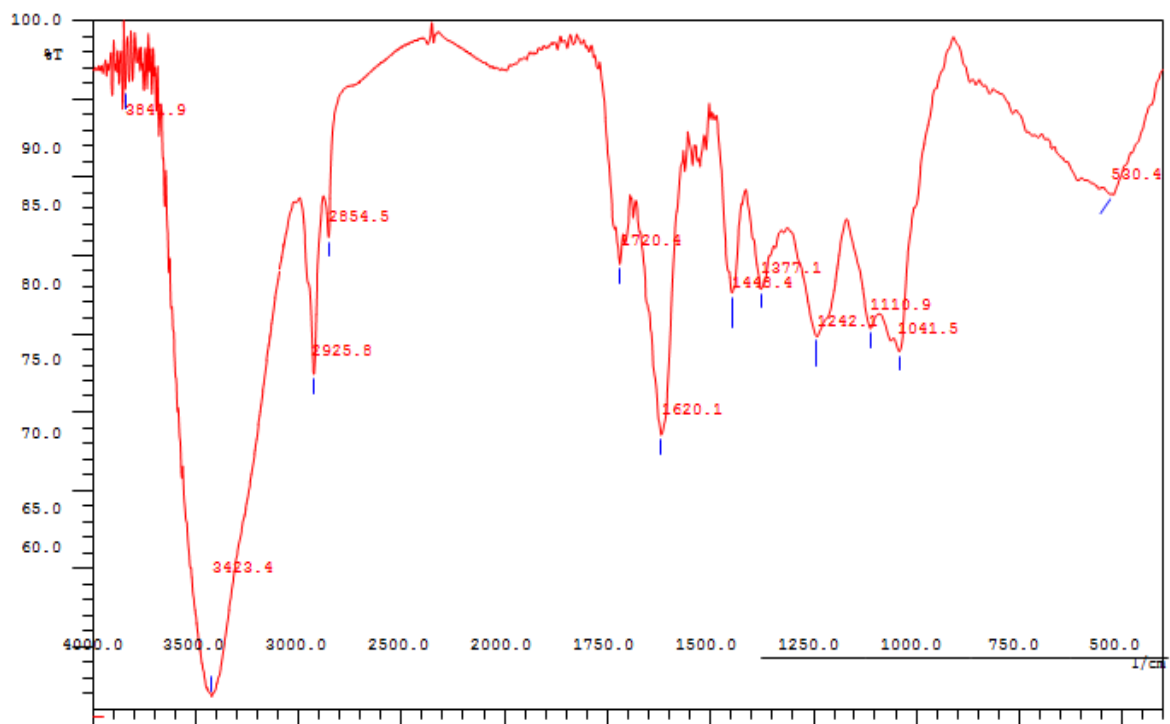
Hasil Pengamatan

Ket :

Ditambah dengan Variasi kontrol :

1. Kontrol tanpa daun
2. Kontrol + Daun
3. Kontrol + Daun + Metanol

LAMPIRAN 4 : SPEKTROFOTOMETRI INFRAMERAH



LAMPIRAN 5 : SPEKTROFOTOMETRI UV-Vis

