LAPORAN AKHIR

PENELITIAN HIBAH DOKTOR

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA ANTIFEEDANT DARI DAUN JARAK KEPYAR (*Ricinus communis* L) TERHADAP KUMBANG *Epilachna varivestis* Mulsant

DR. OPIR RUMAPE, M.Si
NIDN:0003095804

UNIVERSITAS NEGERI GORONTALO

SEPTEMBER 2013

LEMBAR PENGESAHAN

Judul Penelitian	:	ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA ANTIFIDAN DARI DAUN JARAK (*Ricinus communis* Linnaeus) TERHADAP KUMBANG *Epilachna varivestis* Mulsant
Judul Disertasi	:	ISOLASI SENYAWA ANTIFIDAN DARI DAUN DAN BIJI JARAK (*Ricinus communis* Linnaeus) TERHADAP KUMBANG *Epilachna varivestis* Mulsant, (COLEOPTERA:COCCINELLIDAE)
Kode/Nama Rumpun Ilmu	:	MIPA
Peneliti		
a. Nama Lengkap	:	Dr. Opir Rumape, M.Si
b. NIDN	:	0003095804
c. Jabatan Fungsional	:	Lektor Kepala
d. Program Studi/Minat	:	Entomologi/Toksikologi Lingkungan
e. Nomor HP	:	08124422711
f. Alamat Surat (e-mail)	:	Orumape@yahoo.com
g. NIM	:	0823306007
h. Semester	:	Sudah selesai Ujian Terbuka (25-8-2013)
i. PT Penyelenggara Pr. Doktor	:	Universitas Sam Ratulangi Manado
j. Nama Promotor/NIDN	:	1. Prof. Dr. Ir. J. Warouw (000) 2. Prof. Dr. Ir L.C Mandey, MS(0004106106) 3. Prof. Dr. Ir. M. Tulung, MS(0029055603)
l. Biaya Penelitian	:	Rp.37.500.000(Tiga Puluh Tujuh Juta Lima Ratus Ribu Rupiah)

Mengetahui,
Dekan FMIPA

Prof. Dr. Evi Hulukati, M.Pd
Nip. 196005301986032001

Gorontalo, 16 September 2013
Ketua Peneliti

Dr. Opir Rumape, M.Si
Nip. 195809031987031001

Menyetujui
Ketua Lembaga Penelitian UNG

Dr. Fitryane Lihawa, M.Si
Nip. 196912091993032001

Opir Rumape, 2013. **Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Antifeedant Dari Daun Jarak Kepyar (*Ricinus communis* Linnaeus) Terhadap Kumbang *Epilachna Varivestis* Mulsant.**

RINGKASAN

Serangan hama merupakan masalah yang paling sering dihadapi oleh para petani dalam membudidayakan tanaman. Masalah ini terjadi sejak pesemaian, pada saat panen, dan dipenyimpanan. Famili Coccinellidae (Ordo Coleoptera), kebanyakan spesiesnya bersifat predator, merupakan serangga yang sangat mendominasi di berbagai ekosistem sedangkan spesies yang bersifat herbivora, diantaranya *E. Varivestis*,sangat merusak tanaman inang terutama kacang-kacangan misalnya kedelai. Berbagai strategi pengendalian telah dilakukan namun penggunaan pestisida sintetis tetap menjadi pilihan utama karena alasan praktis dan cepat hasilnya tanpa mempertimbangkan efeknya terhadap kesehatan dan lingkungan yaitu sukar terdegradasi.Untuk mengurangi dampaknya terhadap lingkungan perlu mencari alternatif pengganti yang aman. Indonesia memiliki berbagai tanaman yang menghasilkan senyawa-senyawa aktif sebagai insektisidal, repelen dan antifidan yang sifatnya mudah terurai dan tidak meninggalkan residu. Tanaman jarak kepyar (*R. communis*) ialah salah satu tanaman yang mengandung senyawa metabolit sekunder yang memiliki bioaktivitas yang diketahui dapat bersifat sebagai antifidan. Penelitian ini bertujuan untuk menemukan senyawa antifidan terhadap serangga *E. varivestis*dari daun dan biji jarak kepyar (*Ricinnus communis*).

Metode yang digunakan yaitu eksperimen laboratorium yang dilakukan dalam beberapa tahap. Ekstraksi dilakukan dengan teknik maserasi dan fraksinasi; dilakukan uji fitokimia dan uji hayati fraksi-fraksi aktif pada *Epilachna varivestis*; isolasi dan pemurnian dengan kromatografi kolom dan kromatografi lapis tipis yang dilakukan beberapa kali dan hasil isolasi dilakukan uji KLT dua dimensi setelah diperoleh noda tunggal, hasilnya diuji hayati antifidan isolat murni dan ditentukan strukturnya melalui IR dan NMR (RMI-^{1}H dan RMI-^{13}C).

Hasil ekstraksi menunjukkan bahwa, dari 2 kg bubuk daun jarak kepyar diperoleh ekstrak kasar daun sebanyak 164,67 gram. Ekstrak kasar daun sebanyak 35 gr dipartisi dan difraksinasi dengan metanol, etil asetat dan n-hexan diperoleh fraksi metanol sebanyak 7,37 gram, fraksi etil asetat sebanyak 6,66 gram, dan 7,32 gram fraksi n-hexan.

Uji hayati fraksi-fraksi daun jarak kepyar memberikan hasil, aktivitas antifidan tertinggi terhadap *E. varivestis*, ialah fraksi methanol pada variasi konsentrasi 10%, yaitu memberikan nilai penghambatan makan (*FR*) sebesar 67 % diikuti fraksi n-heksan pada variasi konsentrasi 10% dengan nilai penghambatan makan (*FR*) sebesar 66%.dan terakhir fraksi etil asetat 62% pada variasi konsentrasi 10%.. Hasil uji hayati menunjukkan bahwa senyawa antifidan yang larut pada fraksi metanol memberikan aktivitas antifidan tertinggi maka fraksi ini yang dilanjutkan ke proses isolasi dan pemurnian.

Hasil kromatografi kolom dan kromatografi lapis tipis fraksi aktif daun diperoleh senyawa murni yang ditunjukkan dengan uji akhir KLT dua dimensi dengan pola noda tunggal dan uji hayati dari isolat murni terhadap *E. varivestis*, menunjukkan nilai penghambatan makan (*FR*) sebesar 71%. Hasil identifikasi isolate daun *R.communis*,

menunjukkan triterpenoid aromatik mempunyai karakteristik gugus fungsi O-H, C-H, C=O, C=C, C-O siklik dan =C-H. Uji RMI ^{1}H dan RMI ^{13}C isolate daun mengandung senyawa triterpenoid.

Berdasarkan hasil penelitian dan identifikasi ditemukan senyawa metabolit sekunder yang aktif sebagai antifidan terhadap serangga *E. varivestis* yang ramah lingkungan. Disarankan kiranya senyawa antifidan ini dapat dimanfaatkan sebagai agens pengendalian hama pemakan tumbuhan dan perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk pengujian spektroskopi massa dan NMR dua dimensi untuk memastikan struktur isolat hasil penelitian ini.

Opir Rumape. 2013. **Isolation and Identification Compounds Antifeedant from leave Jarak Kepyar *(Ricinus communis* Linnaeus*)* on the Beetle *Epilachna varivestis* Mulsant.**

SUMMARY

Pestsis the most frequent problem faced by farmers in the crop cultivation. This problem occurs since the nursery, at the time of harvest, and storage. Family Coccinellidae (Ordo Coleoptera), most species are predatory,is theinsect that very dominant in many ecosystems, while species that are herbivores, including *E. Varivesti*, severely damage the host plants, especially legumes such as soybeans. Various control strategies have been performed, but the use of synthetic pesticides remains a top choice for practical reasons and fast result without considering the effect on health andenvironment that is difficult to be degraded. To reduce the impact on the environment needs to find a safe alternative. Indonesia has rich variety of plants that produce compounds active as insecticidal, repellent and antifidan that are readily biodegradable and leaves no residue. Kepyar (*R. communis*) is one of plants that contain secondary metabolites that are known to have bioactivity such as antifidan. This study aims to discover an antifidan compound against insect *E. Varivestis* from leaf of kepyar (*Ricinnus communis*).

The method used is laboratory experiments carried out in several stages. Extraction was done by maceration and fractionation technique; phytochemical and bioassay active fractionsin *E.varivestis* is tested; isolation and purification by column chromatography and thin layer were implemented several times and the results of two-dimensional isolation test after a single stain was obtained, the results were tested biological antifidan pure isolates and determined its structure by IR and NRM (RMI-^{1}H dan RMI-^{13}C).

Extraction results showed that, of each 2 kg of leaf powder kepyar are obtained crude extract as much as 164.67 grams of leaf. Crude extract of the leaf as much as 35 g crude extract of were partitioned and fractionated with methanol, ethyl acetate and n-hexan fraction obtained as much as 7.37 g of methanol fraction,6.66 g of ethyl acetate fraction, and 7.32 g of n - hexan fraction. The results of leaf sample biotest shows that antifeedant activity is high to *E. varivestis* that is methanol fraction in variety of consentration 10%, with slowly feedrate (FR) 67% by n-hexan fraction in variety consentration 10% with FR 66% and the last ethyl acetate fraction 62% invariety consentration 10%. The results of biotest shows that methanol fraction gives the highest antifeedant activity, so that this fraction is continued to isolation and purification proses. This steps used method chromatography colomn and thin layer chromatography. The results shows that active fraction of leaves is found pure compound that show by thin layer chromatography test two dimension with single mark and biotest from pure isolat to *E. varivestis*, shows FR 71% in leaves isolate.

Identification results infrared spectrum shows that Identification results show through isolate infrared spectrum of leaves of *R. Communis* it is probably aromatic triterpenoid compound that has characteristic of set function OH-, C-H, C=O C= C, C – O cyclic and =C-H there is a transition n → π. On RMI-^{1}H and RMI-^{13}C of while from leaves isolat found triterpenoide.

Base on this reseach and identification it is found compound of active secondary metabolites as antifeedant to *E. varivetis* that safe for environment. It is suggested that

this antifeedant can be used as herbivor pest antifeedant and also to run the next research to test mass spectroscopic and NMR for two dimension to make sure the structure of isolate of this research.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yesus Kristus, atas berkat kasih karunia-Nya, sehingga penelitian dan penyusunan laporan disertasi ini dapat diselesaikan. Disertasi ini disusun dalam rangka memenuhi salah satu persyaratan untuk mencapai gelar Doktor pada Program Studi Entomologi Program Pascasarjana Universitas Sam Ratulangi Manado.

Melalui kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada semua pihak atas bantuan yang telah diberikan kepada penulis. Ucapan terimah kasih penulis haturkan kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Jootje Warouw, selaku ketua komisi pembimbing, Prof. Dr. Ir. Lucia C. Mandey, MS dan Prof. Dr. Ir. M. Tulung, MS selaku anggota komisi pembimbing, yang dengan penuh perhatian telah memberikan dorongan, bimbingan, saran yang amat berharga kepada penulis, sejak awal memasuki program doktor, sampai penulisan Disertasi. Nasehat dan bimbingan yang diberikan kepada penulis, telah memberikan bekal dan suri teladan kepada penulis. Kesabaran dan ketelatenan dalam memberikan bimbingan merupakan contoh yang patut diteladani.
2. Prof. Dr. Ir. Sartje Rondonuwu-L, MSc dan Prof. Dr.Ir. Remy E.P Mangindaan, MSc selaku penguji yang telah memberikan bimbingan, saran, masukan, arahan yang sangat bermanfaat bagi penulis.
3. Prof. Dr. Ir. Mohammad Nuh, Menteri Pendidikan dan Kebudayaan Republik Indonesia, Drs. Rusli Habibi, Gubernur Provinsi Gorontalo, Drs. Arfan Arsyad, M.Pd Kepala Dikpora Provinsi Gorontalo, yang telah memberikan bantuan finansial, sehingga meringankan beban penulis dalam menyelesaikan Disertasi ini.
4. Prof. Dr. Donald A. Rumokoy, SH,MH, Rektor Universitas Sam Ratulangi Manado, dan Pembantu-Pembantu Rektor yang sudah memberikan kesempatan bagi penulis untuk melanjutkan studi.
5. Prof. Dr. Ir. S. Berhimpon, MS.M.App.Sc, Direktur Program Pascasarjana Unsrat Manado, Asisten-Asisten Direktur Program Pascasarjana, yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk melanjutkan studi.
6. Dr. Samsu Qamar Badu, MPd, Rektor Universitas Negeri Gorontalo, Prof. Dr. Evie Hulukati, MPd, Dekan Fakultas MIPA UNG, Drs. Mardjan Paputungan, M.Si Ketua

Jurusan Kimia UNG, Dra. Nurhayati Bialangi, M.Si Kepala Laboratorium Kimia UNG serta seluruh Staf Dosen Kimia dan tenaga Laboran dan Administrasi, atas fasilitas penelitian, bantuan administrasi, dan dukungan moril kepada penulis.

Penghargaan dan terima kasih setulus-tulusnya kepada orang tua Maria Turangan (ibu) dan Asenat Tumue (ibu Mertua) yang telah membimbing penulis, sehingga dapat membaktikan diri di bidang pendidikan. Kakak Jokobina Rumape, dan adik-adikku dan keluarga, kakak-kakak ipar Wihelmina Gumolung, Spd, Drs. Yoyakim Gumolung dan adik-adik ipar dengan keluarga yang sudah memberikan motivasi dan semangat kepada penulis, papi dan mami Keluarga Drs. Benny Sansambera, Sipora Damanis) yang banyak memberi bantuan, semangat terutama selalu mendukung dalam doa.

Ucapan terima kasih dan hormat secara khusus penulis sampaikan kepada istri tercinta Juliana W.E Gumolung, SPd, anak-anak tercinta: dr. Meity A. Rumape, Oktaviani C. Rumape, Fransisco Andro Rumape atas pengertian dan motivasinya serta dukungan doa kepada penulis selama ini.

Akhirnya semoga Tuhan yang penuh rahmat dan kasih, membalas budi dan kebaikan semua pihak yang telah rela memberikan bantuan demi penyelesaian Disertasi dan terutama penyelesaian studi.

Manado, Agustus 2013

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman

LEMBAR PENGESAHSAN ii
RINGKASAN … iii
SUMMARY v
KATA PENGANTAR vii
DAFTAR ISI ix
DAFTAR TABEL xi
DAFTAR GAMBAR xii
DAFTAR LAMPIRAN xiii
BAB 1. PENDAHULUAN 1
A. Latar Belakang Penelitian 1
B. Rumusan Masalah 4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA 5
A. Tanaman Jarak (*Ricinus communis*.Linn) 5
1. Morfologi Tanaman Jarak 6
2. Kandungan Kimia Tanaman Jarak Kepyar (*R. communis*) 9
3. Manfaat Tanaman JarakKepyar (*R. communis*)..... 10
B. Hasil-Hasil Penelitian Berkaitan Dengan Penelitian
Yang Dilakukan 11
C. Serangga *Epilachna varivestis* Mulsant 14
BAB 3. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN…..…….…17
A. Tujuan Penelitian……..…...17
B. Manfaat penelitian……17
BAB 4. METODE PENELITIAN
A. Ekstraksi dan Fraksinasi…….....18
B. Uji Fitokimia Golongan Metabolit Sekunder Aktif…….....22
C. Isolasi dan Pemurnian Senyawa Antifidan Dari Fraksi Aktif…….27
1. Tempat dan Waktu Penelitian 27
2. Alat dan Bahan Yang Digunakan..... 27
3. Ekstraksi dan Fraksinasi Daun Jarak Kepyar 28

4. Uji Hayati Fraksi-Fraksi Aktif Daun Jarak Kepyar 28
D. Aplikasi Senyawa Antifidan Isolat Daun Jarak Kepyar
Kepyar Terhadap Epilachna……...28
1. Tempat dan Waktu 29
2. Alat dan Waktu 29
3. Metode Penelitian 29
4. Perbanyakan dan Pemeliharaan Serangga Uji……..29
5. Pengujian Pada Serangga……..29
E. Identifikasi dan Penentuan Struktur Isolat Daun Jarak Kepyar…….30
1. Alat dan Bahan…….....31
2. Metode……..…31
BAB 5. HASIL DAN PEMBAHASAN……..…32
A. Hasil Penelitian…….....32
1. Hasil Ekstraksi dan Fraksinasi 32
2. Hasil Uji Fitokimia 35
3. Hasil Pemisahan dan Pembahasan 38
4. Hasil Pengujian Isolat Murni 45
5. Hasil Identifikasi dan Penentuan Struktur 48
B. Pembahasan…….…..…….54
BAB 6. KESIMPULAN DAN SARAN 61
A. Kesimpulan..... 61
B. Saran..... 62
DAFTAR PUSTAKA..... 63
LAMPIRAN-LAMPIRAN 72
Personalia Tenaga Peneliti Beserta Kualifikasinya……73
Publikasi…….……..76

DAFTAR TABEL

Nomor	Teks	Halaman
1.	Hasil Fraksinasi Daun Jarak (*Ricinus communis* L)	32
2.	Hasil Uji Fitokimia Golongan Alkaloid	35
3.	Hasil Uji Fitokimia Golongan Flavonoid	35
4.	Hasil Uji Fitokimia Steroid, Terpenoid dan Saponin	36
5.	Nilai Rf Isolat Dua Variasi Eluen	44
6.	Nilai Rf Isolat Aktif Antifidan Pada Kromatogram Dua Dimensi	45
7.	Data Spektrofotometri IR (gelombang, bentuk pita, intensitas, dan penempatan gugus terkait) dari isolate	49
8.	Perbandingan data spektroskopi inframerah isolat dengan onocerandiendion (Kosela dalam Tri Mayanti, 2006)	50
9.	Tabulasi spektrum RMI-^{1}H isolat dari daun jarak	52
10.	Tabulasi spektrum RMI-^{13}C isolat dari daun jarak	52

DAFTAR GAMBAR

Nomor Teks Halaman

1. Tanaman Jarak Kepyar (*Ricinus communis* L) 8
2. Biji Tanaman Jarak Kepyar (*Ricinus communis* L)..... 9
3. Kumbang *E. varivestis* Pradewasa dan Dewasa..... 15
4. Skema Kerja Ekstraksi dan Fraksinasi 20
5. Skema Kerja Uji Flafonoid (Budzianowski *et al,* 1995)…….25
6. Skema Kerja Uji Alkaloid (Martono,1983) Yang Dimodifikasi……...25
7. Skema Uji Steroid, (Bahti, *et al,* 1983), Triterpenoid (Rostelli, 1998)……26
8. Hasil Uji Hayati Fraksi Metanol, Fraksi Etil asetat dan n-Heksan….....33
9. Hasil KLT Fraksi Metanol pada Eluen MeOH-CHCCl3 (5,5:5)……39
10. Hasil KLT Fraksi Metanol pada Eluenn-heksan-etil acetat…….....39
11. Kristal hitam Hasil Kolom…….....41
12. Hasil Kromatografi Lapis Tipis Dua Dimensi……42
13. Skema Kerja Pemisahan dan Pemurnian Fraksi Aktif dari Ekstrak Daun Jarak Kepyar 43
14. Profil KLT Isolat Aktif Antifidan Menggunakan Adsorben Silika Gel GF254 44
15. Profil Uji KLT Dua dimensi Eluen n-Hexan- Etil Asetat (5 :5) 45
16. Hasil Uji Hayati Fraksi Aktif Hasil Kolom I Daun Jarak . Kepyar (*Ricinus communis* L)..... 46
17. Hasil Uji Antifidan Isolat Murni (Daun Jarak Kepyar (*Ricinus communis* L) 47
18. Spektrum inframerah dari isolat daun jarak menggunakan pelat KBr 48
19. Spektrum UV-Vis Isolat dengan panjang gelombang pada pita I = 214,5 nm dan absorbansi = 0,571 51
20. Inti aromatik (A) dan inti triterpen (B) pada isolate dari daun jarak..... 53
21. Struktur senyawa pada isolat dari daun jarak, 2,2,6a,6b,9,9,12a-heptametil-10-fenoksi-1,2,3,4,4a,5,6,6a,6b,7,8,8a,9,10,11,12,12a,12b, 13,14b-ikosahidropisen-4a-asam karbosilat..... 54

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Teks	Halaman
1.	Aktivitas Ekstraksi dan Fraksinat Daun Jarak Kepyar	72
2.	Aktivitas Uji Fitokimia	75
3.	Isolasi dan Pemurnian Fraksi Daun Jarak Kepyar	76
4.	Aktivitas Uji Antifidan dan Efek Mortalitas	77
5.	Lahan Penelitian	80
6.	Data Analisis Antifidan Fraksi-fraksi Daun.....	81
7.	Spektrum NMR ^{1}H Isolat Aktif Daun Jarak Kepyar	87
8.	Spektrum NMR ^{13}C Isolat daun Jarak Kepyar	88
9.	Artikel……..…….	89
10.	Produk ……..……	90

BAB 1.

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Masalah penting yang sering dihadapi oleh para petani atau praktisi pertanian dan agribisnis dalam membudidayakan tanaman, baik tanaman pangan, perkebunan maupun hortikultura adalah serangan hama. Serangan hama merupakan faktor pembatas dan bahkan penentu dalam upaya membudidayakan tanaman. Serangan hama terjadi sejak awal masih dalam pesemaian atau pembibitan sampai pada saat panen bahkan dalam penyimpananpun hama tidak terhindarkan sehingga hama ini dapat menurunkan produksi tanaman baik kuantitas maupun kualitas, bahkan tidak jarang hama tanaman pertanian dapat menggagalkan panen sehingga mengakibatkan kerugian yang besar.

Kumbang (*Epilachna varivestis*) merupakan salah satu spesies dari famili Coccinellidea (Ordo Coleoptera). Ordo ini merupakan serangga yang sangat mendominasi kehidupan di berbagai ekosistem dan banyak bersifat predator hanya beberapa spesies yang bersifat herbivora diantaranya *E. varivestis* yang sangat merusak tanaman terutama tanaman kacang-kacangan yang menjadi inang utama seperti kacang kedelai, kacang lima, kacang tanah. Karena itu perlu mendapat perhatian dalam hal pengendaliannya. Serangga *E. varivestis* ialah satu diantara sekian banyak anggota famili Coccinellidae yang tidak bersifat predator tapi sangat merusak daun tanaman baik larva maupun serangga dewasa. Serangga *E. varivestis* betina bertelur dapat mencapai 600 butir dan telur hanya memerlukan waktu 4-5 hari bila suhu memungkinkan akan menetas dan serangga ini dalam waktu satu tahun dapat mencapai 3-4 generasi. Tanaman kedelai dan kacang tanah merupakan andalan para petani dalam meningkatkan taraf hidup mereka sehingga sangat diperlukan dalam rangka pemenuhan kebutuhan pangan namun di pihak lain merupakan inang utama serangga *E. varivestis* harus mendapat perlindungan dari serangan hama dimaksud. Berdasarkan pandangan di atas maka perlindungan tanaman merupakan salah satu komponen terpenting dalam budidaya tanaman untuk mendapatkan hasil yang optimal.

Menekan aktivitas perusakan hama serangga pada tanaman dan menghindari penurunan prosentase hasil pertanian dan perkebunan, dewasa ini berbagai strategi pengendalian hama telah banyak dikenal mulai dari penggunaan varietas tahan hama,

penggunaan musuh-musuh alami sampai pada penggunaan senyawa kimia atau insektisida sintetis. Tapi sampai sekarang ini pengendalian hama tanaman yang masih umum dilakukan adalah pengendalian secara kimia yaitu penggunaan pestisida sintetis.

Dilema yang dihadapi oleh para petani dalam membudidayakan tanaman pangan, sayur-sayuran dan buah-buahan, apabila penanganan hama pertanian dilakukan tanpa penggunaan insektisida sintetis maka sulit diperoleh produk yang diharapkan. Di lain pihak dengan penggunaan insektisida sintetis yang kurang bijaksana justru menimbulkan masalah baru bagi lingkungan.

Pestisida sintetis adalah bahan yang berasal dari racun kimia yang tidak hanya mengendalikan hama, patogen dan gulma, tetapi juga berbahaya bagi organisme lain yang bermanfaat termasuk manusia yang dapat menerima akibat tercemarnya udara, air dan tanah atau dampak kontaminasi bahan pangan, sayur-sayuran dan buah-buahan yang dikonsumsi dan bagi hama serangga akan memberi efek samping yang akan timbul seperti terjadi resistensi, letusan hama kedua, terbunuhnya jasad-jasad bukan sasaran, dan ancaman pencemaran lingkungan (Sastrosiswoyo dan Setiawati, 1993).

Penggunaan insektisida sintetis memang dapat membantu menekan kerusakan akibat serangan hama, namun kekuatiran yang muncul kemudian yakni akibat residu insektisida yang sukar terdegradasi akan berakibat buruk terhadap konsumen, mengingat sayuran dan buah-buahan adalah bahan yang dikonsumsi langsung oleh masyarakat.

Dalam tubuh, insektisida memberikan pengaruh terhadap sistem saraf yang lokasinya berbeda-beda tergantung dari jenis senyawanya, misalnya DDT memberikan pengaruh terhadap sistem saraf periferal, sedangkan BHC dan aldrin menyerang bagian saraf pusat. Organofosfat dan karbamat ialah dua senyawa insektisida yang menghambat aktivitas enzim asetilkolin esterase dalam menghidrolisis asetil kolin sehingga menyebabkan sistem saraf berada dalam keadaan yang tidak stabil. Serangga yang terkena DDT tidak mampu mengendalikan kontraksi otot-ototnya. DDT dapat menyebabkan meningkatnya penyerapan kalium pada jaringan saraf. DDT juga diduga dapat menghambat ATPase yang bertanggung jawab terhadap pengangkutan ion di dalam saraf dan meningkatkan aktivitas enzim dari mikrosoma.

Melihat dampak dan beberapa fakta yang diutarakan di atas maka perlu diupayakan dan dicari bahan alternatif pengganti insektisida sintetis yang dapat menghambat aktivitas

makan serangga perusak tanaman, namun aman bagi serangga bermanfaat dan tidak menimbulkan masalah baru bagi lingkungan teristimewa bagi kesehatan manusia.

Tumbuhan telah diketahui secara luas memproduksi berjenis-jenis metabolit sekunder seperti flavonoid, terpenoid, alkaloid, saponin dan lain-lain yang dapat berperan sebagai *atraktan*, *repeelent* maupun sebagai *antifeedant* yang berguna sebagai sarana pertahanan diri (Bernays and Chaman 1994; Prijono, 2008) yang dapat merugikan organisme yang menyerang tanaman tersebut. Ini menunjukkan bahwa metabolit sekunder tumbuhan memiliki potensi untuk digunakan sebagai agens perlindungan tanaman.

Beberapa hasil penelitian tentang senyawa metabolit sekunder yang berfungsi sebagai antifidan telah dipublikasikan antara lain: Isolasi anti makan dari biji *Kopsia pruniformis* terhadap *Epilachna sparsa*, yang dilakukan oleh Anom (2002); Tulung dkk (2008) melakukan ekstrak biji *Melia azedarach* sebagai insektisida terhadap larva *Spodoptera exigua* pada tanaman bawang daun; Isolasi dan identifikasi senyawa anti makan larva *Epilachna sparsa* dari akar Milletia sericeae dilakukan oleh (Lombok, 2001); dan senyawa bioaktif dari ekstrak bunga cengkeh terhadap mortalitas *Spodoptera litura* dilakukan oleh (Rumthe ,2007). Semua penelitian ini memberikan hasil yang positif sebagai insektisida botanik. Budiyono, (2001) mengatakan bahwa, lebih dari 2400 jenis tanaman yang masuk dalam 235 famili telah diketahui mengandung pestisida.

Tanaman jarak Kepyar (*R. communis*) merupakan tanaman yang dikembangkan dalam skala besar di beberapa provinsi di Indonesia seperti Jawa Tengah, Jawa Timur, NTT, dan NTB, karena banyak manfaat di antaranya mengandung resinin yang berfungsi sebagai insektisida nabati. Tanaman ini menghasilkan minyak castol, dan mengandung senyawa penting sebagai pertahanan tanaman terhadap beberapa serangga yang merusak tanaman tersebut.

Alkaloid, flavonoid dan terpenoid merupakan metabolit sekunder dari tumbuhan-tumbuhan, dilaporkan memiliki bioaktivitas antara lain sebagai anti mikroba, anti virus, anti jamur, obat infeksi pada luka, mengurangi pembekuan darah di dalam tubuh, anti kanker dan anti umor. Biji dan daun jarak mengandung 30-35% minyak sebagai bahan baku pengganti minyak diesel, bungkil biji setelah malalui proses detoksifikasi dapat menjadi pakan ternak dan kulit biji melalui proses pirolisis dapat dikonversi menjadi bio-

oil dan bahan bakar cair pengganti minyak tanah. Disamping sebagai tanaman penghijauan disepanjang jalan dapat juga sebagai pelindung karena daunnya tidak disukai hewan ternak sehingga dapat melindungi tanaman utama. Ini menunjukkan bahwa tanaman jarak dapat bersifat sebagai antifidan.

Berdasarkan latar belakang permasalahan dan beberapa pendapat di atas, penulis berasumsi bahwa dari tanaman jarak kepyar dapat diisolasi senyawa kimia antifidan yang dapat digunakan dalam pengendalian hama berbagai tanaman. Mengetahui apakah terdapat senyawa kimia antifidan maka akan dilakukan proses ekstraksi dan isolasi pada daun dan biji tanaman jarak kepyar *(R. communis)* dan isolatnya akan digunakan sebagai bahan alternatif pengganti
insektisida sintetis untuk menghambat aktivitas makan serangga yang aman bagi lingkuangan.

B. Rumusan Masalah

Penelitian ini dilakukan untuk menjawab permasalahan-permasalahan sebagai berikut:

1. Apakah terdapat senyawa aktif antifidan pada daun jarak kepyar *(R. communis)* terhadap kumbang *Epilachna varivestis* ?
2. Apakah senyawa aktif antifidan hasil fraksinasi dapat diisolasi dan dimurnikan dengan kromatografi kolom dan kromatografi lapis tipis ?
3. Apakah senyawa antifidan isolat aktif daun jarak kepyar (*R. communis*) dapat mempengaruhi aktivitas makan *E. varivestis* ?
4. Bagaimana mengidentifikasi dan menentukan struktur senyawa antifidan hasil isolasi daun jarak kepyar (*R. communis*)

BAB 2.
TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Jarak Kepyar (*R. communis*)

Tanaman jarak kepyar (*R. communis*) berasal dari Ethiopia. Budidaya jarak pertama kali dipelopori oleh bangsa Portugis dan Spanyol. Oleh bangsa Portugis dan Spanyol jarak dikenal dengan nama "Agno Casto" dan "Agno Castor" oleh bangsa Inggris. Dalam bahasa latin jarak disebut *Ricinus* yang artinya serangga, karena bentuk bijinya berbintik-bintik menyerupai serangga (Cahyo, 2008).

Tanaman jarak ini banyak tumbuh dipagar-pagar halaman, di pinggir tegalan atau tumbuh liar. Setiap daerah di Indonesia mempunyai istilah sendiri-sendiri tentang tanaman jarak, misalnya gloah (Gayo), lulang (Karo), jarag (Lampung), Lapandru (Nias), jarak (Jawa), kaleke (Madura), tatanga (Bima), Kalangan (Sulawesi Utara), allele (Gorontalo), tangang-tangang jara (Makasar), Pelung kaliki (Bugis), dan paku perunai (Timor) (Cahyo, 2008). Tanaman jarak termasuk tanaman yang membutuhkan cahaya. Daerah penyebarannya terletak antara 400 LU dan 400 LS, meskipun ada pula beberapa varietas hasil seleksi di Rusia dapat tumbuh dan berproduksi sampai 500 LU (Cahyo, 2008).

Para ahli memberikan taksonomi tanaman jarak kepyar (*R. communis*) seperti diberikan oleh Plantamor (2008), bahwa tumbuhan jarak kepyar memiliki kedudukan dalam taksonomi tumbuhan sebagai berikut:

Kingdom : *Plantae*
Sub kingdom : *Tracheobionta*
Super Divisi : *Spermatophita*
Divisi : *Magnoliophyta*
Kelas : *Magnoliopsida*
Sub Kelas : *Rosidae*
Ordo : *Euphorbiales*
Famili : *Euphorbiaceae*
Genus : *Ricinus*
Spesies : *Ricinus communis*

Tumbuhan ini batangnya berkayu dan berlubang, beruas-ruas memiliki warna coklat kemerahan dan hijau keputih-putihan. Daun tunggal, bulat, bergerigi, panjang 10-75 cm, lebar 10-65 cm, pertulangan menjari dan panjang tangkai 35-50 cm. Memiliki bunga majemuk, bentuk tandan, di ujung cabang, benang sari banyak tangkai putik sangat pendek. Buah kotak, lonjong berlekuk tiga, berduri, masih mudah berwarna hijau setelah tua berwarna hitam kecoklatan. Biji keras, lonjong, coklat berbintik merah dan berakar tunggang.

Tanaman jarak kepyar atau *R. Communis* termasuk satu famili dengan jarak pagar atau *Jatropha curcas* yaitu tergolong famili *Euphorbiaceae*. Khusus Spesies *R. communis* terdiri dari beberapa varietas yaitu: 1) varietas berumur genjah (pendek): TRC 15A dan TRC 37A, 2) varietas berumur tengahan: CWD 236, CWD 244, dan CWD 259, 3) Varietas berumur dalam: IS I dan IS II.

Selain tiga varietas di atas, terdapat juga varietas baru yaitu dengan nama varietas Asembagus (Asb.81) merupakan hasil seleksi dari populasi asal desa Muneng, Kecamatan Muneng, Kab. Probolinggo.

1. Morfologi Tanaman Jarak

Tumbuhan ini, tumbuh liar di hutan, semak-semak, tanah kosong dataran rendah sampai 800 meter di atas permukaan laut, atau di sepanjang pantai. Sekarang banyak dibudidayakan sebagai salah satu komoditas perkebunan. Dapat tumbuh di daerah yang kurang subur, asalkan pH tanah sekitar 6-7, dan drainasenya cukup baik karena akar tumbuhan jarak cepat busuk dalam air yang tergenang atau dalam tanah yang banyak mengandung air (Sinaga, 2009).

a. Akar tanaman. Tanaman jarak memiliki akar tunggang yang dalam dan akar samping yang melebar dengan akar rambut yang banyak. Hal ini menandakan bahwa tanaman jarak tahan terhadap angin dan kekeringan.

b**.** Batang. _Batang jarak warnanya bervariasi dari hijau muda sampai hijau tua, dan dari merah muda sampai merah kecoklatan. Batang tanaman beruas-ruas, setiap ruas dibatasi oleh buku-buku dan setiap buku terdapat titik tumbuh batang atau daun. Panjang ruas batang bervariasi ada yang pendek (beberapa cm) dan yang panjang (sekitar 20 cm). Permukaan batang mengandung lapisan lilin. Tinggi tanaman antara

1-4 meter, dengan diameter 3-5 cm. Tanaman jarak dapat tumbuh terus sepanjang faktor-faktor pertumbuhan terutama air masih tersedia.

c. Daun. Bentuk daun menjari 5 sampai 11, dengan lekukan dangkal sampai dalam, dengan filotaksis 2-5. Warna daun bervariasi ada yang berwarna hijau muda sampai hijau tua, dan ada pula yang berwarna kemerahan serta mengkilap. Pada genotip tertentu tulang daun tampak menonjol di bawah permukaan daun. Tepi daun pada umumnya bergerigi tetapi ada pula yang rata. Tangkai daun panjang dan kuat, dengan panjang 17-40 cm.

d. Bunga. Bunga jarak berbentuk dalam karangan/tandan bunga. Tandan bunga terdapat dalam bagian ujung batang dan ujung cabang utama maupun samping. Komposisi tanaman jarak sangat bervariasi, tanaman ini termasuk berumah satu dengan bunga jantan dan bunga betina terdapat dalam satu tanaman. Bunga betina terdiri dari 30-50% dan terletak di bagian atas tandan bunga, sedangkan bunga jantannya terdiri dari 50-70% dan terletak di bagian bawah tandan bunga.

Di dalam keadaan sangat ekstrim dalam satu tandan bunga bisa terdapat 99% bunga betina dan paling sedikit bisa mencapai kurang dari 5%, dengan bunga betina dan bunga jantan secara terpisah dan hanya beberapa yang hermaprodit (bunga lengkap).

Bunga jarak tidak memiliki daun mahkota, tetapi mempunyai 3-5 kelopak bunga. Bunga jantan serbuk sari masak (setiap menyerbuki) umumnya sekitar 2-3 jam setelah matahari terbit sampai tengah hari. Kepala sari berwarna kekuningan dan setiap bunga jantan mempunyai serbuk sari sampai seratus butir. Serbuk sari cepat berhamburan pada suhu antara 26-29°C dengan kelembaban sekitar 60%. Bunga betina mempunyai 3 bakal biji dengan kepala putik terdiri dari 3 cabang. Tanaman jarak dapat menyerbuk sendiri dan dapat pula menyerbuk silang sampai 36%.

e. Buah. Setelah pembuahan, bakal buah akan membesar dan buah bentuknya bulat seperti kapsul. Buah jarak muda berwarna hijau muda sampai hijau tua, berambut/berduri (lihat Gambar 1) dan ada pula yang tidak berduri (gundul) serta bila sudah matang berwarna keabu-abuan mirip warna tanah.

Gambar 1. Tanaman Jarak Kepyar (*Ricinus communis* L)

Setiap kapsul atau buah terdiri dari 3 bagian dan setiap bagian terdiri dari sebutir biji, sehingga setiap buah jarak berisi 3 butir biji. Pada permukaan kulit buah yang masih muda terdapat lapisan lilin yang berwarna keputihan, ada pula yang tanpa lapisan lilin. Buah jarak umumnya mudah pecah bila sudah masak atau sudah tua, tetapi ada pula yang sulit pecah, sehingga sulit dalam proses pembijian menurut Cahyo, (2008).

f. Biji. Biji Jarak menunjukkan bintik-bintik yang menyerupai serangga, ada yang berwarna putih, kecoklatan dari coklat muda sampai coklat tua, dan ada pula yang berwarna merah, bahkan ada yang berwarna kehitaman. Biji terdiri dari kulit biji agak keras dan di dalamnya terdapat daging biji (kernel). Bentuk biji lonjong bulat (oval) dan bervariasi, dengan panjang beberapa mm sampai sekitar 2 cm, (lihat Gambar 2) berat setiap 100 biji antara 10-100 gram dan biji jarak dapat dikelompokkan menjadi 3 kelompok berdasarkan besarnya biji. Biji kecil antara 10-34 gram/100 biji, biji sedang antara 35-54 gram/100 biji, dan biji besar antara 55-100 gram/100 biji (widodo, *at al*. 2011).

Gambar 2. Biji Tanaman Jarak Kepyar (*R. communis*)

2. Kandungan Kimia Tanaman Jarak Kepyar (*R. communis*)

Menurut Sinaga (2005) bahwa tanaman jarak memiliki kandungan senyawa kimia atau metabolit sekunder di seluruh bagian tubuhnya mulai dari akar hingga daun. Akar tanaman tersebut mengandung metiltrans-2-dekena-4,6,8-trinoat dan 1-tridekena-3,5,7,9,11-pentin-beta-sitosterol. Daun tanaman jarak juga mengandung senyawa antara lain kaempferol, kaempferol-3-rutinosida, nikotiflorin, kuersetin, isokuersetin dan rutin. Selain itu, daun jarak juga mengandung astragalin, reiniutrin dan vitamin C. Batang tanaman jarak mengandung saponin, flavonoid, tannin dan senyawa polifenol. Biji tanaman jarak, mengandung 40 – 50 % minyak jarak (*castor oil*) yang mengandung bermacam-macam trigliserida, asam palmitat, asam risinoleat, asam isorisinoleat, asam oleat, asam linoleat, asam linolenat, asam stearat, dan asam dihidroksistearat. Selain itu, biji tanaman jarak juga mengandung risinin, beberapa macam toksalbumin yang dinamakan risin (risin asam, dan risin basa) dan beberapa macam enzim diantaranya lipase. (Subiyakto, 2005; Caprioli *et al*., 1987; Ishibashi *et al*., 1993; Juan *et al*., 2000; Maestro *et al*., 2001).

Biji jarak mengandung banyak senyawa-senyawa kimia baik itu berasal dari golongan asam, basa maupun garam. Jaringan biji mengandung alkaloida risinin, dan beberapa macam toksalbumin yang dinamakan risin (risin D, risin asam, dan risin basa), dan beberapa macam enzim diantaranya lipase. Beberapa peneliti melaporkan biji jarak juga mengandung kursin (senyawa yang banyak terdapat dalam biji jarak pagar (*Jatropa cur*cas) dan abrin (banyak terdapat dalam biji saga *Abrus precatorius*).

Daun mengandung berbagai senyawa kimia antara lain kaempferol, kaempferol-3-rutinosida, nikotiflorin, kuersetin, isokuersetin, dan rutin. Disamping itu juga mengandung astragalin, reiniutrin, risinin, dan vitamin C.

3. Manfaat Tanaman Jarak Kepyar (*R. Communis*)

Biji dan minyak jarak digunakan untuk mengatasi kesulitan buang air besar (konstipasi), dan kesulitan melahirkan. Selain itu minyaknya sering digunakan sebagai penyubur rambut. Hasil penelitian pada hewan percobaan membuktikan efek anti radang, pencahar, dan efek antineoplastik dari minyak jarak. Secara tradisional minyak jarak dipakai untuk mengobati kanker mulut rahim dan kanker kulit, TBC
kelenjar, bisul, koreng, kudis dan infeksi jamur.

Daun jarak digunakan untuk mengobati rematik, hernia, batuk sesak, koreng, eksim, gatal-gatal (pruritus), bengkak, luka dan melepuh. Kadang-kadang juga digunakan untuk memperlancar pengeluaran ASI. Alkaloid, dan terpenoid merupakan metabolit sekunder dari tumbuhan-tumbuhan, dilaporkan memiliki bioaktivitas antara lain sebagai anti mikroba, anti virus, anti jamur, obat infeksi pada luka, mengurangi pembekuan darah di dalam tubuh, anti kanker dan anti tumor (Robinson, 1991). Selain itu, alkaloid mempunyai prospek yang baik saat ini sebagai anti leukemia (Humburger & Cordell, 1987), memperkuat pembuluh darah dan sebagai insektisida alami (Harbourne, 1987). Biji dan daun jarak mengandung 30-35% minyak sebagai bahan baku pengganti minyak diesel, bungkil biji setelah malalui proses detoksifikasi dapat menjadi pakan ternak dan kulit biji melalui proses pirolisis dapat dikonversi menjadi bio-oil dan bahan bakar cair pengganti minyak tanah. Disamping sebagai tanaman penghijauan disepanjang jalan dapat juga sebagai pelindung karena daunnya tidak disukai hewan ternak sehingga dapat melindungi tanaman utama (Bernays & Chaman 1994; Prijono, 2008). Ini menunjukkan bahwa tanaman jarak dapat bersifat sebagai antifeedant.

Akar dipergunakan untuk mengobati rematik sendi, tetanus, luka memar, epilepsi, bronchitis, dan TBC kelenjar.

B. Hasil-Hasil Penelitian Yang Berkaitan dengan Penelitian yang Dilakukan

Sule dan Sani, (2008), Isolation of Ricinine from Methanol extracts tree different seed varieties of *Ricinus communis* Linn (Euphorbiaceae). Penelitian ini dilakukan ekstraksi terhadap tiga varietas *Ricinus communis* (varietas kano, yang berukuran kecil dan berwarna coklat, kabba yang berukuran sedang dengan warna cokalt tua, dan Kazaure yang berukuran besar dengan warna putih). Proses erkstraksi dengan metanol dihasilkan minyak jarak (kano 240,27 gr; kabba 215,48 gr dan kazaure sebanyak 225,19 gr. Ketiga kristal yang diperoleh tidak larut dalam eter dan kloroform, sedikit larut dalam etil asetat tetapi larut dalam metanol panas. Melalui profil kromatografi lapis tipis dari ekstrak metanol ditemukan senyawa golongan alkaloid dan steroid. Hasil uji IR menunjukkan gugus fungsi nitril $C \equiv N$ (2224 cm^{-1}) dan menunjukkan gugus fungsi pada cincin 2-pyridone. Puncak menonjol lainnya ialah 2852,76 cm^{-1} (N- CH_3 aromatik metil amino) ; 2958,50 (O – CH_3 aromatik) 3408,78 cm^{-1} (NH, sekunder amida dan 1636,64

cm^{-1} (C=O). Uji kromatografi gas/spektroskopi massa dan IR menunjukkan adanya *ricinine* (1,2-*dihidro-4-metoksi-2 oxo-3-pyridinecarbonitrile*).

Sharma dan Gupta, (2009) Biological activity of some plant extracts against pieris brassicae (Linn) mengekstrak beberapa jenis tumbuhan termasuk *Ricinus communis*, dengan menggunakan pelarut etanol dan dilakukan uji hayati terhadap serangga, hasil penelitian menunjukkan bahwa pada tanaman *Ricinus communis* memberikan penghambatan makan sebesar 58,5 % .

Leny, (2006) Isolasi dan Uji Bioaktivitas Kandungan Kimia Utama Puding Merah dengan Metode Uji Brine Shrimp. Penelitian ini dilakukan dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol. Pemisahan dan pemurnian lebih lanjut terhadap ekstrak etanol dilakukan dengan cara kromatografi kolom dan diperoleh kristal sebanyak 37 mg, dan dari kromatografi lapis tipis memberikan noda tunggal dengan berbagai eluen. Karakterisasi struktur dilakukan dengan spektroskopi IR dan 1H-NMR. Spektrum IR senyawa hasil isolasi memperlihatkan pita serapan pada angka gelombang 3431, 3121, 3057, 1618, 1462, 1340, 1060, 970 dan 800 cm^{-1}. Spektrum ^{1}H-NMR memperlihatkan pergeseran kimia pada 1,5, 6,3 dan 7,6 ppm. Berdasarkan Uji fitokimia dan analisis spektrum IR dan ^{1}H-NMR maka dapat disimpulkan bahwa senyawa hasil isolasi merupakan senyawa fenolik yaitu suatu jenis flavonoid. Uji bioassay senyawa hasil isolasi menunjukkan bioaktivitas terhadap larva *Artemia salina* yang memberikan harga LC_{50} sebesar 124,08 µg/ml.

Ramos-Lopez *et al* (2010), Activity of *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) against *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Nuctuidae). Penelitian ini dilakukan ekstraksi pada daun dan biji *Ricinus communis* untuk mendapatkan resinine dan diaplikasikan ke serangga *Spodoptera frugiferda* dengan fraksi metanol untuk melihat perkembangan larva, kepompong dan berat pupa pada tujuh konsentrasi metanol (16 ppm, 112 ppm, 160 ppm, 160 ppm, 560 ppm, 1600ppm, 9600 ppm dan 16.000 ppm) sedangkan pada ekstrak daun 160 ppm, 560 ppm, 1600 ppm, 4000 ppm, 8000, 16.000 ppm dan 24.000 ppm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa makin tinggi konsentrasi maka makin tinggi penghambatan kelangsung hidup larva dan kepompong serta berat pupa mengalami penurunan. Biji dapat menghambat kelangsungan hidup lebih lama dari pada ekstrak daun..

Dadang dan Ohsawa (2000) Feeding inhibition of *Plutella xylotella* (L) (Lepidoptera: Yponomeutidae) Larvae treated With Seed Extract of Swietenia mohogany Jacq (Meliaceae). Biji *Swietenia magoni* diekstrak dengan metanol dengan menggunakan sokslet selama 48 jam. Ekstrak difraksinasi. Hasil fraksinasi diseparasi dengan menggunakan kromatografi kolom (50 x 5 cm) den gan fase pasif silika gel (Wakogel C-300) dan fase aktif metanol dan kloroform dengan peningkatan konsentrasi metanol.

Evaluasi aktivitas penghambatan makan ekstrak biji S. Mohogani dilakukan dengan dua metode pilihan dan tanpa pilihan. Sedangkan evaluasi hasil pemisahan ekstrak hanya menggunakan metode tanpa pilihan. Hasil menunjukkan bahwa pada konsentrasi 5%, ekatrak biji *Swietenia mahagoni* memberikan penghambatan 100% terhadap larva *Plutella xylotella*. Fraksi aktif diisolasi dengan kromatografi kolom dan kromatografi lapis tipis menghasilkan satu fraksi aktif yang dapat menghambat aktivitas makan serangga hingga 98%.

Identifikasi sementara kelompok senyawa yang menyebabkan penghambatan aktivitas makan larva ialah senyawa dari kelompok triterpenoid.

Daniel dan Masmur (2010) Synthesis Ethylene-Bis-N-Risinoleil-Amide Compound from Amidation of Methyl Ricinoleate with ethylenediamine. Penelitian ini bertujuan untuk memisahkan metil ricinoleat dari metil ester asam lemak campuran dari minyak jarak dan selanjutnya metil ricinoleat tersebut dapat diamidasi dengan etilendiamine membentuk senyawa etilena-Bis-N-Ricinoleil-amida yang dapat digunakan sebagai surfaktan.

Dari 500 gr biji jarak halus diperoleh minyak jarak 248 gr. Selanjutnya minyak jarak diesterifikasi dengan metanol menggunakan katalis KOH dengan pengadukan untuk memperoleh metil ester asam lemak minyak jarak campuran. Metil risinoleat yang merupakan komposisi utama dari campuran metil ester asam lemak minyak jarak dapat dipisahkan dari metil asam lemak lainnya, dengan menggunakan kromatografi kolom menggunakan silika gel 40 H dengan eluen petrolium eter: dietileter dengan rendemen hasil reaksi sebesar 73%. Pemantauan dilakukan analisis dengan KLT dengan campuran pelarut silika gel 60 sebagai absorben.

Kesimpulan yang diperolehbahwa senyawa etilena-Bis-N Risinoleil-amida dapat dihasilkan melalui reaksi amidasi metil risinoleat.

Saenong dan Mas'ud (2009) Keragaan hasil teknologi pengelolaan hama kumbang bubuk pada tanaman jagung dan sorgum. Tulisan ini membahas tentang hasil-hasil penelitian/kajian teknologi pengelolaan hama kumbang bubuk pada tanaman jagung dan sorgum. Komponen teknologi yang berbasis pada penggunaan sumber/bahan nabati sebagai pestisida alami seperti penggunaan tanaman Lantana camara, Ageratum conysoides, Andropogan nardus, dan Capdicum annum yang efektivitasnya disandingkan dengan pestisida pembanding yang efektif menekan hama target seperti Decis 2,5 EC dan Dursban dengan konsentrasi bahan aktif 0,1 %. Aspek lain yang dikaji adalah efek repellensi (penolakan) dari serangga target oleh penggunaan beberapa tanaman uji seperti Zingiken Zerumbet, Z. Americans, Acarus casamus, Abrus precorpius, Caesolpinia sappana.

Cinthia *et al* (2012) Pengaruh ekstrak *Ricinus communis* terhadap berat badan dan mortalitas dari Scyphophorus Acupunctatus (Coleoptera:Curculionidae). Aplikasi terhadap jaringan Agape Weber lequilana var. Azul dan Agavaceae ekstrak daun dan biji. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak tidak memiliki aktivitas toksik tetapi memiliki efek penurunan berat badan serangga.

Young Jang dan Kim Jae Ho, (2008) Isolasi dan sifat biokimia Ricin dari *Ricinus communis* Lektin beracun, ricin, hadir dalam biji *R. communis* . Isolasi melibatkan pertukaran ion kromatografi DEAE-cellulose, afinitas kromatografi kolom 4B Sepharose tingkat multiplikasi K_{562} sel menurun dan tingkat kematian menurun. dosis 60 mg risin menyebabkan kematian 50% setelah 4 hari aplikasi terhadap hewan uji.

C. Serangga *Epilachna varivestis*

1. Tinjauan dan Morfologi *E. varivestis*

Epilachna adalah keluarga atau famili *Coccinellidae* atau biasanya dengan sebutan kumbang kepik, adalah tergolong ordo Coleoptera. Keluarga ini sangat penting secara ekonomis, karena meliputi beberapa serangga yang sangat menguntungkan karena bertindak sebagai predator.

Dua anggota dari famili *Coccinelidae* merupakan hama pertanian yang sangat serius, *E. varivestis* atau kumbang kacang meksiko dan *E. borealis* atau kumbang gambas (Borror, 1992). Serangga-serangga ini memiliki metamorfosis yang sempurna

dimulai dari telur, larva, pupa dan imago. Secara singkat serangga *E. varivestis* dapat dideskripsikan sebagai berikut:

Klasifikasi kumbang:

Kingdom : *Animalia*
Phylum : *Arthropoda*
Klass : *Insecta*
Orde : *Coleoptera*
Family : *Coccinelidae*
Sub Family : *Epilachninae*
Genus : *Epilachna*
Spesies : *Epilachna varivestis*
Nama binominal *Epilachna varivestis* Mulsant, 1950

a b c d

Ket.: a. Telur, b. Larva, c. Pupa, d. Dewasa

Gambar 3. Kumbang *E. varivestis* pradewasa dan dewasa(Whitney Cranshaw)

2. Telur

Telur *E. varivestis* memiliki panjang sekitar 1,3 mm dan lebar 0,6 mm berwarna pucat kuning oranye atau jingga, berbentuk bulat telur dengan bagian dasar telur melebar. Telur biasanya ditemukan berkelompok, dan setiap kelompok berjumlah 40-75 butir berada pada bagian bawah daun.

3. Larva

Bentuk tubuh larva memanjang dengan tungkai yang panjang. Larva memiliki kepala dan mandibel yang berkembang baik. Warna larva yang baru menetas ialah kuning terang dengan panjang 1,6 mm. Tubuh ditutupi dengan deretan duri-duri yang ujungnya bercabang kokoh, tersusun dalam 6 baris memanjang di punggung. Duri pada

awalnya berwarna kuning, tetapi kemudian menjadi lebih gelap di ujung dan lebih mencolok. Larva instar awal ukuran 1,5 mm, sedangkan larva instrar IV berukuran 9 mm. Larva, memiliki tubuh lembut, dan larva dewasa adalah 6,0-9,5 mm panjang dan kuning kehijauan. Larva berganti kulit sebanyak empat kali selama perkembanganya. Beberapa jam setelah pergantian kulit ujung duri menjadi lebih gelap, memberikan warna kuning kehijauan. Larva memiliki kecenderungan untuk agregat dalam jumlah yang cukup untuk pembentukan pupa.

4. Pupa

Larva ini ketika dewasa menempel pada ujung *posterior* tubuh ke bagian bawah daun, batang atau polong tanaman kacang dan sering ke bagian tanaman di dekatnya.

5. Dewasa

E. varivestis dewasa berbentuk oval, dan sekitar 6 sampai 7 mm panjangnya. Serangga dewasa yang baru muncul ialah berwarna jerami berwarna krem. Tak lama kemudian setelah munculnya, delapan bintik hitam variabel muncul pada masing-masing memenuhi sayap, tersusun dalam tiga baris membujur. Serangga jantan dewasa tubuhnya lebih kecil daripada betina.

6. Siklus Hidup

Kumbang dewasa dari hibernasi di mana serangg-serangga ini telah menghabiskan musim dingin di bawah koleksi kuas atau daun, begitu tiba cuaca hangat, pada pertengahan bulan mei serangga dewasa cenderung untuk mencari kacang snap dan lima, tetapi dengan berakhirnya juni mereka mulai ovipositing dalam kedelai. Setelah makan pada tanaman kacang selama satu hingga dua minggu, serangga betina mulai bertelur, masing-masing serangga menghasilkan 500 sampai 600 dari tiap serangga betina dalam kelompok 40-75 pada bagian bawah dedaunan. Serangga betina menetas dalam waktu seminggu selama cuaca hangat tetapi mungkin memerlukan setidaknya dua minggu dalam kondisi tidak menguntungkan. Larva makan sangat rakus selama dua sampai lima minggu tergantung pada suhu. Ketika pertama kali menetas mereka semua makan bersama-sama, jika daun menjadi kering, serangga pertama menetas dapat memakan telur yang belum menetas yang tersisa. Ketika serangga tumbuh tua mereka masih mempertahankan kebiasaan suka berkelompok tetapi cenderung membagi dan tersebar menjadi kelompok-kelompok kecil. Ketika pupating,

larva mengikatkan ujung perut ke bagian tanaman dan mulai menggoyang keluar dari kulit larva. Tahap pupa berlangsung selama lima sampai sepuluh hari, tetapi mungkin bertambah lebih lama di cuaca dingin (file://Localhost/H:mexican-bean-beetle-06061006htm; Borror, 1992).

7. Inang *E. varivestis*

Yang menjadi inang utama serang *Epilachna varivestis* ialah tanaman kacang-kacangan, terutama kedelai, kacang panjang, kacang tanah dan pagar kangkung.

BAB 3.

TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

A. Tujuan Penelitian

Berdasarkan permasalahan yang dikemukakan di atas, maka tujuan penelitian ini ialah :

1. Mengetahui kemampuan senyawa antifidant dari fraksi-fraksi ekstrak daun jarak kepyar (*Ricinus communis*) terhadap serangga E. varivestis
2. Melakukan isolasi dan pemurnian terhadap fraksi aktif hasil fraksinasi ekstrak daun jarak kepyar (*R. communis*) melalui kromatografi kolom dan kromatografi lapis tipis.
3. Melakukan uji senyawa antifidan dari isolat aktif untuk melihat seberapa besar pengaruhnya terhadap aktivitas makan *E. varivestis*
4. Mengidentifikasi dan menentukan struktur senyawa antifidan hasil isolasi dan pemurnian dari daun jarak kepyar.

B. Manfaat Penelitian

Melalui hasil penelitian ini kiranya dapat:

1. Mengungkapkan manfaat daun jarak kepyar (*R. communis*) dalam kaitannya dengan program pengendalian hama pertanian.
2. Mengetahui kemungkinan penggunaan senyawa antifidan hasil penelitian sebagai prototype sintesis senyawa pengendali hama.
3. Keberhasilan dari penelitian ini diharapkan memberikan kontribusi pada pengembangan ilmu kimia bahan alam dan pertanian terutama dalam hal metode isolasi dan transformasi senyawa aktif dari bahan alam.

BAB 4

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode eksperimen laboratorium yang dilakukan dalam beberapa tahap:

A. Ekstraksi dan Fraksinasi

Ekstraksi adalah metode umum digunakan untuk mengambil produk dari bahan alam seperti dari jaringan tumbuhan, hewan, dan mikroorganisme. Ekstraksi dapat dianggap sebagai langkah awal dalam rangkaian kegiatan pengujian aktivitas biologi tumbuh-tumbuhan yang dianggap atau diduga mempunyai pengaruh biologis pada suatu organisma.

Bahan tumbuhan diperlakukan sedemikian rupa dengan mengadopsi metode dan menggunakan pelarut tertentu untuk mendapatkan senyawa-senyawa kimia aktif yang terdapat di dalam bahan tersebut secara maksimal. Metode ekstraksi yang tepat tergantung pada tekstur, kandungan air dan tipe senyawa yang diekstraksi. Ekstraksi meliputi ekstraksi secara dingin maupun ekstraksi secara panas. Proses ekstraksi maserasi merupakan cara dingin dan metode umum digunakan dalam mengeksplorasi senyawa dari tumbuhan yang belum diketahui sifatnya.

1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium kimia Universitas Negeri Gorontalo dimulai pada bulan Nopember 2012 sampai dengan Juni 2013.

2. Alat dan Bahan Yang Digunakan

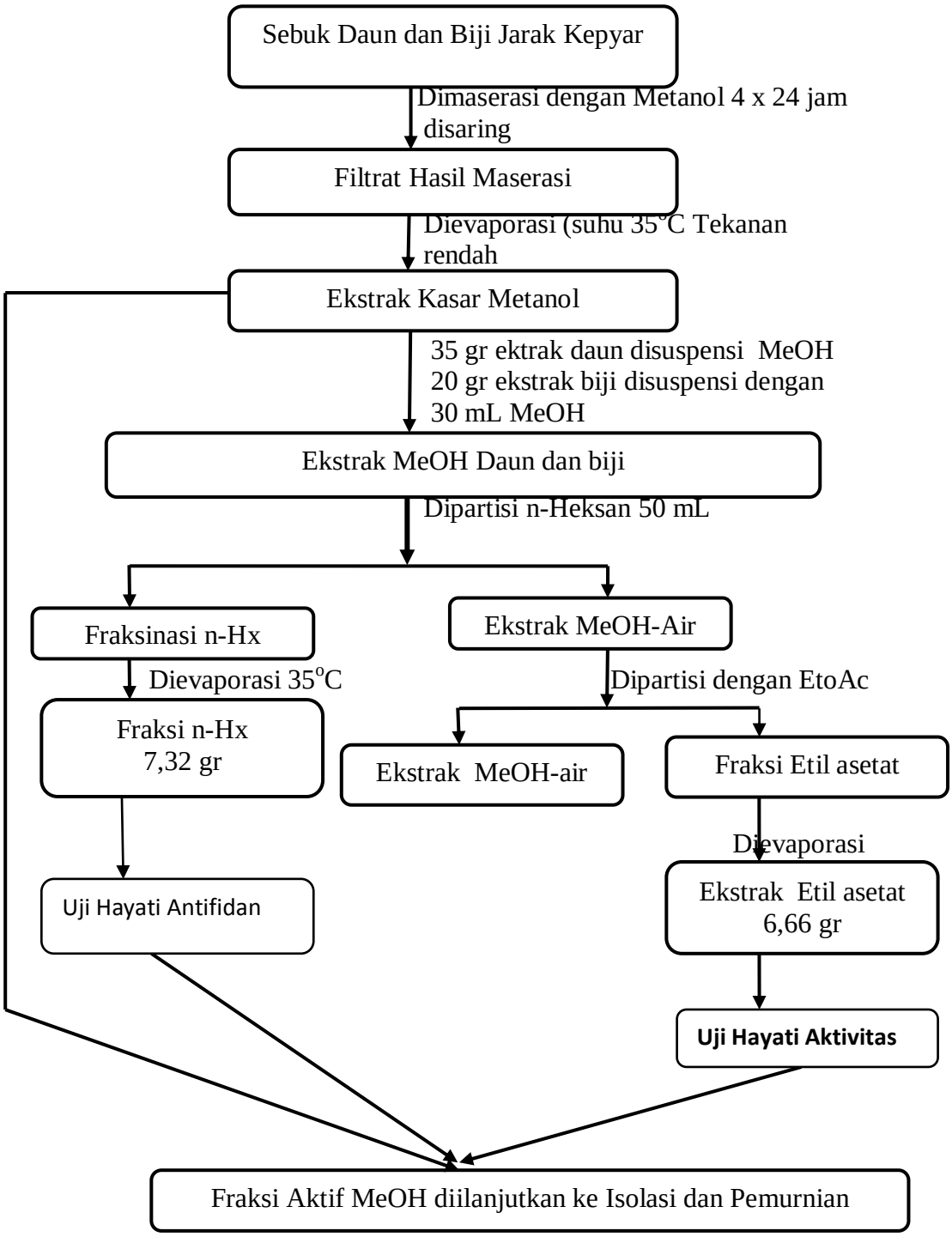
Alat yang digunakan dalam penelitian tahap ini ialah seperangkat alat ekstraksi, stoples, gunting, saringan, corong pisah, blender, rotary evaporator yang dilengkapi pompa vakum, gelas ukur. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman jarak kepyar (*R. communis*), yaitu daun yang berumur 6-10 bulan (informasi pemilik lahan). Sampel diambil di halaman rumah warga Jl. Jeruk Kelurahan Huangobotu Kec. Kota Selatan Kota Gorontalo.

3**.** Ekstraksi dan Fraksinasi Daun Jarak Kepyar

Daun dicuci bersih dan dikeringkan selama satu minggu dengan cara diangin-anginkan di udara terbuka yang terlindung dari sinar matahari langsung kemudian

dipotong kecil-kecil ukuran 0,5 - 1 cm, dan dibiarkan beberapa hari kemudian dihaluskan dengan menggunakan blender.

Serbuk daun jarak kepyar masing-masing sebanyak 2 kg (dibagi dalam dua wadah setiap wadah stoples 1 kg),dan dimaserasi dengan pelarut metanol 1,5 L pada suhu kamar selama 4 x 24 jam, lalu digabungkan dan disaring. Filtrat metanol dievaporasi pada suhu 30-40°C menggunakan alat rotari evaporator sehingga diperoleh ekstrak kasar daun sebanyak 164,67 gram. Ekstrak kasar daun sebanyak 35 gram selanjutnya dilarutkan dalam campuran metanol-air 1: 2, (30 mL metanol + 60mL air) kemudian dipartisi secara berturut-turut dengan 50 mL n-Hexan (3 x) dan 50 mL etyl acetat (3 x) sehingga dari partisi diperoleh masing-masing fraksi tersebut. Hasil partisi dari fraksi-fraksi tersebut dievaporasi pada suhu 30-40°C sampai diperoleh fraksinat Metanol, n-Hexan, dan etil acetat. Masing-masing fraksi (metanol, n-Hexan, etil acetat) diuji hayati. Terhadap fraksi yang positif aktif antifidan pada uji hayati, dilanjutkan dengan pemisahan dan pemurnian. Prosedur ekstraksi dan fraksinasi secara skematis dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Skema Kerja Ekstraksi dan Fraksinasi

4. Uji Hayati Fraksi-Fraksi Aktif Daun Jarak Kepyar

1). Perbanyakan dan Pemeliharaan Serangga Uji

Serangga yang digunakan dalam penelitian ini ialah jenis kumbang, termasuk dalam ordo *Coleoptera*: famili *Coccinellidae* dari spesies *Epilachna varivestis* yang diambil dari lapangan untuk kemudian dipelihara sampai cukup untuk di uji di Laboratorium. Kelompok larva yang masih kecil dari ulat *Eplachna varivestis* sering dijumpai pada permukaan daun kedelai, terung, daun kacang tanah atau pada daun pagar kangkung, bahkan ditemukan juga pada jenis sayur-sayuran lain. Memperbanyak larva *Epilqchna. varivestis*, cara yang paling mudah ialah mencari kelompok telur di lapangan. Serangga betina bertelur mencapai ratusan butir. Satu kelompok telur dapat berjumlah 40-75 butir. Secara sederhana prosedur perbanyakan dan pemeliharaan ialah sebagai berikut:

2). Perbanyakan dan pemeliharaan.

a) Diambil kelompok telur *E. varivestis* secara hati-hati dengan cara menggunting daun tempat kelompok telur ditemukan.
b) Kemudian ditempatkan dalam sangkar yang sudah diberi daun kedelai segar sebagai pakan apabila sewaktu-waktu kelompok telur tersebut menetas.
c) Ditutup dengan kain kasa.
d) Setelah dihasilkan larva dipisahkan dan bila ingin memperbanyak diberi pakan sampai menjadi dewasa dan akan menghasilkan telur.
e) Ambillah kelompok larva ulat *E. varivestis* dari tempat pemeliharaan secara berhati–hati dengan menempatkan larva tersebut dalam suatu wadah.
f) Tempatkan dalam sangkar dan diberi daun kedelai sebagai pakan.
g) Tutup dengan kain kasa
h) Larva akan bertambah besar
i) Beri pakan daun segar secara teratur setiap hari sampai ulat mencapai ukuran yang diinginkan untuk keperluan serangga uji.

3). Pengujian Pada Serangga

Serangga yang digunakan untuk uji aktivitas fraksi-fraksi, terlebih dahulu dipuasakan ± 8 jam. Tiga lembar daun kedelai digunting dalam bentuk bulat, ditimbang dan dicelupkan dalam sediaan dengan konsentrasi yang telah ditentukan (10%, 5%, 2,5%, 1%, 0,01%, ditambah kontrol) selama ±5 detik, kemudian dikeringanginkan.

Sebagai kontrol tiga lembar daun digunting seperti daun perlakuan dan digunakan akuades yang mengandung metanol Setelah kering daun perlakuan dan kontrol masing–masing dimasukkan ke dalam piring plastik kecil atau cawan petri (diameter 9 cm) yang beralaskan kertas saring, kemudian dimasukkan 10 ekor larva *E. varivestis*.

Prosedur Kerja :

Metode pengujian yang digunakan ialah metode residu pada daun dengan cara pencelupan. Perlakuan terdiri atas tiga fraksi metanol, etil asetat dan n-heksan dengan konsentrasi yang divariasikan. Masing–masing fraksi (ekstrak metanol, n–Heksan, dan Etil asetat) dibuat larutan uji dengan konsentrasi 0,01%, 1%, 2,5%, 5%, dan 10% b/v. Larutan uji tersebut diaplikasikan ke larva *Epilachna varivestis* yang telah dipuasakan kurang lebih 8 jam sebelum pengujian.

Aktivitas antifidan dievaluasi dengan menghitung persen penghambatan makan dengan menghitungnya dengan formula (Aalford and Bentley,1986)

$$\mathrm{FR} = \left\{1 - \frac{\text{berat daun yang di makan pada perlakuan}}{\text{berat daun yang di makan pada kontrol}}\right\} \times 100\% \qquad (2)$$

B. Uji Fitokimia Golongan Metabolit Sekunder Fraksi Aktif

Pengujian insektisida nabati di laboratorium merupakan langkah penting yang harus dilakukan dalam pencarian insektrisida nabati sebagai sarana untuk memantau bioaktivitas bahan uji sejak ekstrak kasar hingga diperoleh isolat murni. Pengujian aktivitas perlu dirancang dengan baik agar dapat memberikan data yang akurat dan memberikan informasi yang sebanyak-banyaknya tentang bioaktivitas bahan uji. Senyawa insektisida nabati yang bukan racun saraf sering memiliki bukan hanya satu macam aktivitas hayati, tetapi dapat memiliki beberapa pengaruh seperti penghambatan aktivitas makan, penghambatan perkembangan, penghambatan peneluran termasuk kematian. Karena itu, beberapa pengujian perlu dilakukan untuk mengungkapkan berbagai kemungkinan pengaruh tersebut. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui secara kualitatif golongan metabolit sekunder melalui uji fitokimia untuk melihat metabolit sekunder jenis atau golongan apa saja yang memiliki penghambatan aktivitas makan (antifeedant) terhadap serangga *E. varivestis*.

Fitokimia biasanya digunakan untuk merujuk pada senyawa yang ditemukan pada tumbuhan (metabolit sekunder) yang tidak dibutuhkan untuk fungsi normal tubuh bagi tumbuhan tapi memiliki efek yang menguntungkan bagi keamanan dan kesehatan tumbuhan itu sendiri karena memiliki peran aktif bagi pencegahan penyakit atau penolakan terhadap mikroorganisme pengganggu. Indonesia sangat kaya akan tumbuhan yang memiliki bioaktivitas. Metode yang dapat dipergunakan untuk mencari dan menemukan senyawa bioaktif adalah pendekatan skrining fitokimia (*Phytopharmacologic screening approaches*) (Linskens, 1963 dalam Abraham 2007).

1. Metode Penelitian

Tahap atau bagian penelitian ini dilakukan dengan metode uji fitokimia terhadap beberapa fraksi untuk mengetahui golongan metabolit sekunder dengan menggunakan prosedur yang spesifik untuk uji masing-masing golongan metabolit sekunder.

2. Alat Dan Bahan

a. Alat yang digunakan

1). Pemanas
2). Tabung reaksi
3). Penjepit tabung reaksi
5). Lumpang
6) Corong pisah
7) Corong
8) Gelas kimia
9) Neraca
10) Gelas ukur

b. Bahan Yang Digunakan

1) n-Hexan (p.a)
2) Etil asetat (p.a)
3) Metanol (p.a)
4) Etanol (p.a)
5) . Eter (p.a)
6) Kloroform (p.a)
7) Amoniak (p.a)
8) $HgCl_2$, KI, $(BiNO_3)_3$
9) H_2SO_4, HCl, Gelatin

3. Prosedur Kerja:

Hasil maserasi dan evaporasi ekstrak daun jarak kepyar diuji fitokimia untuk mengetahui golongan, dan aktivitas senyawa metabolit sekunder yang dikandung oleh daun jarak kepyar (*R. communis*).

a. Uji Flavonoid

Ekstrak metanol daun jarak sebanyak 0,1 gram diekstraksi dengan 10 mL n-heksan sehingga memperoleh ekstrak yang tidak berwarna. Kemudian diekstraksi lagi dengan 10 mL etanol 80 % dibagi ke dalam 2 tabung reaksi. Tabung pertama digunakan sebagai kontrol dan tabung kedua ditambahkan HCl 0,5 M kemudian ditambah serbuk 0,5 gram Mg dan dipanaskan selama 1 jam pada penangas air. Jika terjadi perubahan warna dari tabung kontrol, maka positif flavonoid.

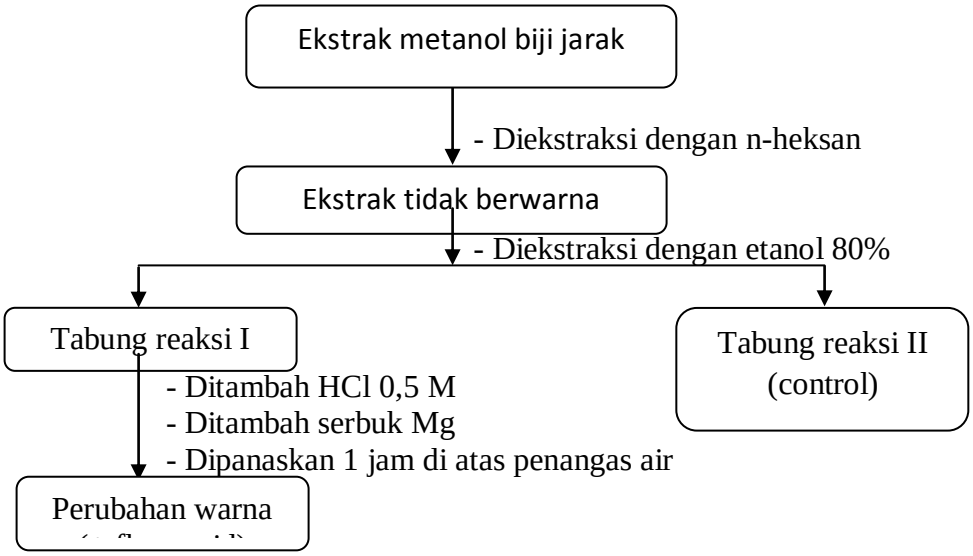
b. Uji Alkaloid

Serbuk daun jarak sebanyak 0,1 gram dimasukkan ke dalam tabung reaksi, dan ditambahkan 10 mL kloroform amonikal dan hasilnya dibagi dalam dua tabung reaksi. Tabung pertama diuji dengan pereaksi hanger, tabung kedua ditambahkan 0,5 mL H_2SO_4 2 N. Lapisan asam dipisahkan, dibagi dalam 4 tabung reaksi dan masing–masing tabung dilakukan pengujian dengan menggunakan pereaksi Meyer, Dragendorf, Wagner dan asam tanat. Jika terbentuk endapan, maka sampel adalah positif (+) alkaloid.

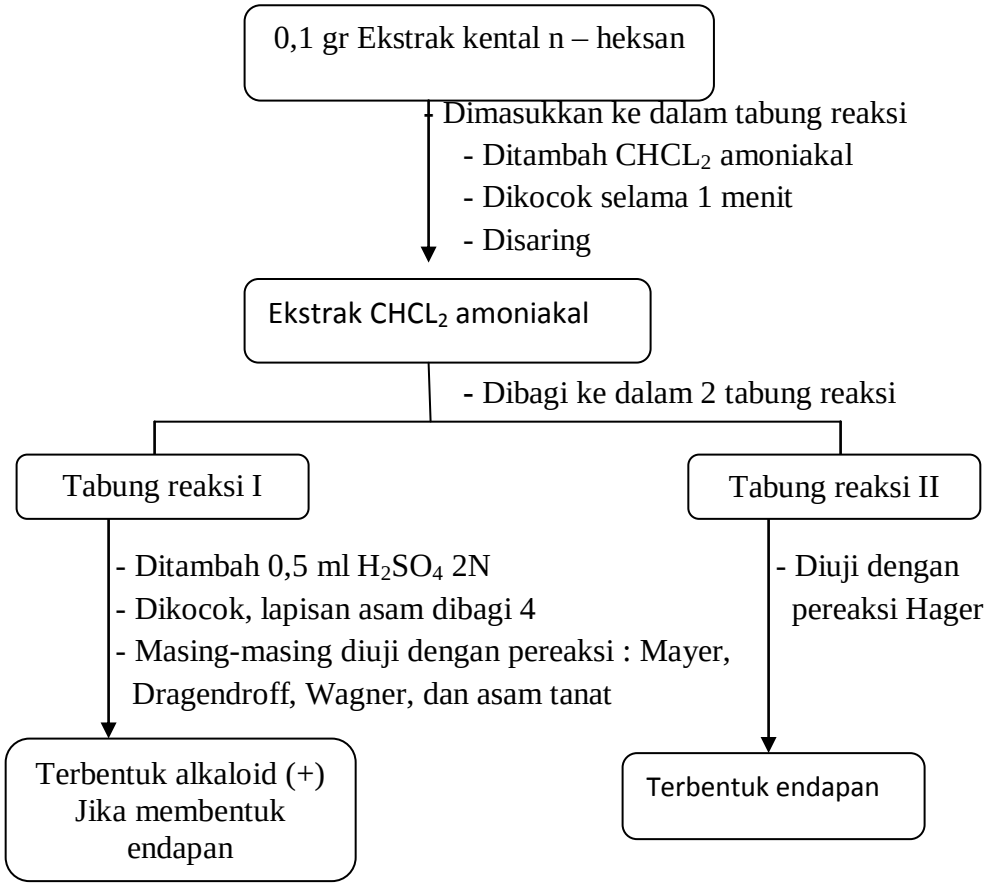
c. Uji Steroid, Terpenoid, dan Saponin.

Serbuk daun jarak 2 gram dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan etanol panas 20 mL. Ekstrak etanol yang diperoleh dipindahkan dalam cawan penguap, dan diuapkan dalam penangas air sampai kering. Kerak yang diperoleh ditambah 10 mL dietileter. Bagian yang larut diteteskan pada plat tetes, ditambah dua tetes asetat anhidrat dan ditambah 1 tetes H_2SO_4.

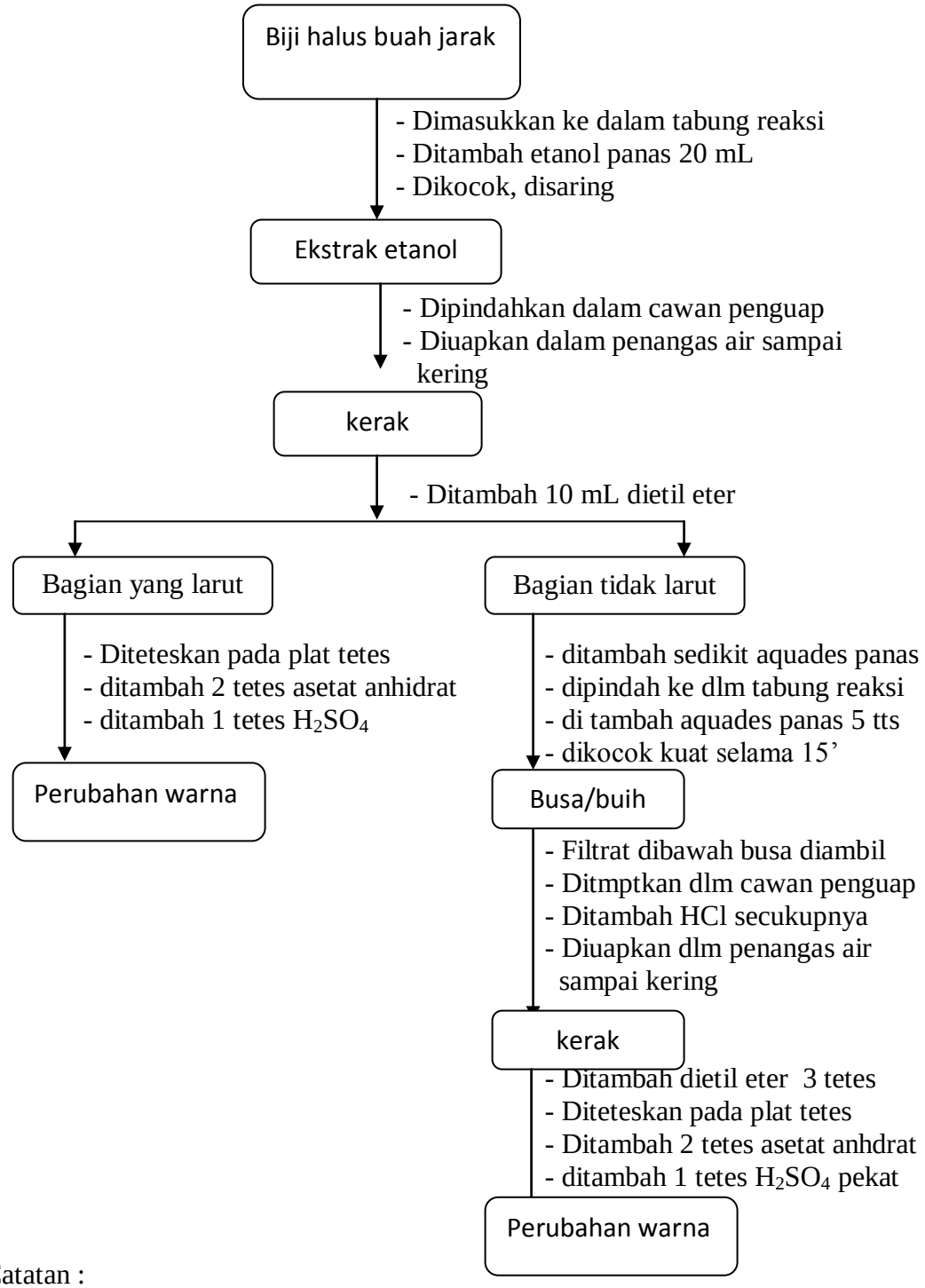
Sisa yang tidak larut dalam dietil eter ditambah sedikit 2 mL akuades panas, dipindahkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan lagi 2 mL akuades panas secukupnya (5 tetes) kemudian dikocok kuat selama 15 menit. Filtrat di bawah busa diambil dan ditempatkan dalam cawan penguap, ditambah HCl 0,5 M secukupnya (2 tetes) dan diuapkan dalam penangas air sampai kering. Kerak yang terbentuk ditambah 2 tetes dietil eter dan diteteskan pada plat tetes, ditambah 2 tetes asam asetat anhidrida dan 1 tetes H_2SO_4 pekat. Jika terbentuk warna hijau kebiruan menunjukkan adanya steroid, warna merah kecoklatan menunjukkan adanya terpenoid, dan jika terbentuk busa/buih menunjukkan adanya saponin.



Gambar 5.Skema Kerja uji Flavonoid (Budzianowski *at al,* 1995 Dimodifikasi)



Gambar 6. Skema Kerja Uji Alkaloid (Martono, 1983) yang Dimodifikasi.



Catatan :
Steroid (+) = warna hijau kebiruan
Terpenoid (+) = warna merah kecoklatan
Saponin (+) = terbentuk busa/buih

Gambar 7. Skema uji steroid, (Bahti, *et al*, 1983) Triterpen (Rostelli, 1998) dan saponin (Makkar, 1985) Yang Dimodifikasi.

C. Isolasi dan Pemurnian Senyawa Antifidan dari Fraksi Aktif Daun *ricinus communis* l

Mengidentifikasi senyawa aktif terutama senyawa-senyawa yang belum dikenal, kemurnian senyawa yang akan diidentifikasi merupakan hal yang sangat penting. Kehadiran senyawa-senyawa lain, pada konsentrasi tertentu akan mengacaukan data-data analisis yang diperoleh karena dapat terjadi tumpang tindih antara data senyawa yang akan kita identifikasi dengan data senyawa ikutan tersebut. Hal ini juga sangat penting apabila kita ingin mengetahui gugus fungsi, jumlah dan posisi atom karbon dan hidrogen. Karena itu perlu memurnikan fraksi-fraksi aktif.

Isolasi dan pemurnian dalam penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode pemisahan kromatografi lapis tipis dan kromatografi kolom. Tidak ada cara standar dalam mengadopsi metode-metode pemisahan ekstrak namun lebih banyak berdasarkan pada prinsip kerja yaitu efisiensi dan efektivitas. Jika senyawa atau kelompok senyawa telah diketahui maka pemisahan dapat langsung dilakukan dengan metode yang biasa digunakan untuk tujuan tersebut.

Pemisahan dapat dilakukan dengan memperhatikan kepolaran pelarut yang digunakan, berdasarkan keasaman dan kebasaan senyawa atau dapat langsung menggunakan kromatografi kolom (*colomn chromatography*) atau kromatografi lapis tipis (*thin layer chromatography*). Kromatografi kolom dan kromatografi lapis tipis lebih banyak diadopsi untuk pemisahan dan pemurnian dalam jumlah yang lebih besar. Perlu diketahui bahwa kromatografi lapis tipis sangat berguna untuk mendeteksi fraksi-fraksi yang dihasilkan oleh kromatografi kolom.

1. Alat dan Bahan Yang Digunakan

Kolom ukuran 50 x 5 cm, statif dan klem, erlemeyer ukuran 100 mL, 250 mL, 500mL, Gelas kimia 250 mL, 500 mL, rotary evaporator, batang pengaduk, Plat KLT, Silica Gel (Wakogel C-300), eluen n-heksan, etil asetat, kloroform,

2. Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam isolasi dan pemurnian ialah teknik kromatografi kolom dan kromatografi lapis tipis.

Hasil fraksinasi pada tahap sebelumnya, yaitu fraksi yang menunjukkan aktivitas tertinggi (fraksi metanol) dilanjutkan pada pemurnian dan isolasi. Proses fraksinasi yang dilakukan, diperoleh fraksi metanol yang menunjukkan aktivitas antifidan yang tertinggi sehingga fraksi ini dilanjutkan dengan pemisahan dan pemurnian lebih lanjut.

Fraksi metanol diseparasi dengan menggunakan kromatografi kolom (50 x 5 cm) dengan fase pasif silica gel (Wakogel C-300) dan fase aktif (eluen) n-heksan-etil asetat (9 : 1) sebagai pengelusi dengan peningkatan konsentrasi etil asetat. Fraksi aktif lebih jauh diseparasi kembali dengan kromatografi kolom (50 x 5 cm) dengan silica gel (Wako C–300) sebagai fase pasif dan dielusi dengan n-heksan - etil asetat (9:1) sebagai fase aktif dengan peningkatan konsentrasi etil asetat (memperhatikan berat atau banyaknya ekstrak yang didapatkan).

Uji kemurnian dilakukan dengan kromatografi lapis tipis menggunakan beberapa macam eluen. Jika isolat tetap menampakkan bercak tunggal pada kromatografi lapis tipis, maka dilakukan lagi uji kemurnian dengan menggunakan KLT dua dimensi. Apabila tampak hanya satu bercak atau bercak tunggal, maka fraksi tersebut dinyatakan murni dan dapat dilanjutkan ke identifiksi dan penentuan gugus fungsi.

D. **Aplikasi Senyawa Antifidan Isolat Daun Jarak Kepyar Terhadap *Epilachna varivestis* Mulsant**

Pengujian hasil isolasi sangat penting dilakukan untuk memastikan bioaktivitas senyawa antifidan hasil isolasi dari jaringan daun dan biji tumbuhan jarak kepyar (*R. communis*) sehingga dapat diketahui kemurnian dan aktivitas biologi dari senyawa tersebut. Pengujian hasil isolasi selain untuk keperluan mengetahui aktivitas biologi, juga sangat penting dilakukan sebagai dasar untuk analisis selanjutnya terutama dalam kaitannya dengan identifikasi dan penentuan struktur senyawa antifidan yang diperoleh dari hasil penelitian.

Terdapat beberapa cara pengujian penghambatan (antifidan) baik fraksi-fraksi aktif maupun isolat murni yaitu dapat dilakukan dengan metode pilihan (*choice test*) dan tanpa

pilihan (*no-choice test*). Pengujian pada penelitian ini hanya menggunakan pengujian biasa dengan pencelupan pakan serangga sebelum diberikan pada serangga uji yang sudah dipuasakan kurang lebih 8 jam.

Pengujian aktivitas antifidan isolat daun dan biji jarak kepyar tetap berpedoman pada pengujian atau aplikasi aktivitas antifidan fraksi-fraksi yang sudah dilakukan sebelumnya.

1. Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilakukan di laboratorium kimia Universitas Negeri Gorontalo pada bulan Mei 2013

2. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan ialah: Sangkar serangga, cawan petri, kuas ukuran kecil, gunting, timbangan sartorius. Bahan yaitu serangga, daun kedelai, isolat hasil pemisahan dan pemurnian.

3. Metode Penelitian

Metode yang dilakukan ialah metode celup dan tanpa pilihan.

4. Perbanyakan dan Pemeliharaan Serangga Uji

Serangga yang digunakan dalam penelitian ini adalah jenis kumbang, dari spesies *E. varivestis* yang diambil dari lapangan untuk kemudian dipelihara sampai cukup untuk dilakukan uji di Laboratorium. Perbanyakan dan pemeliharaan serangga uji dilakukan seperti prosedur pengujian hayati ekstrak daun dan biji terhadap *E. varivestis.*

5. Pengujian Pada Serangga

Prosedur Kerja:

Metode pengujian yang digunakan adalah metode residu pada daun dengan cara pencelupan pakan ke dalam larutan sediaan. Pengujian menggunakan isolat hasil pemisahan dan pemurnian kolom dan KLT dengan memvariasikan konsentrasi pada masing-masing perlakuan.

Serangga yang akan digunakan untuk uji aktivitas isolat, terlebih dahulu dipuasakan kurang lebih 8 jam. Isolat aktif daun (Fr. D1.1=4,05gr) yang berasal dari hasil proses isolasi pemurnian ekstrak daun dibuat larutan dengan konsentrasi (10%, 5%, 2,5%, 1%, 0,01%,) Tiga lembar daun kedelai digunting dalam bentuk bulat, ditimbang dan dicelupkan dalam larutan sediaan yang konsentrasinya divariasikan selama ± 5 - 10

detik, kemudian dikeringanginkan. Sebagai kontrol tiga lembar daun yang digunting seperti daun perlakuan dan digunakan akuades yang mengandung metanol 1 %. Setelah kering daun perlakuan dan kontrol masing–masing dimasukkan ke dalam piring plastik kecil atau cawan petri (diameter 9 cm) yang beralaskan kertas saring, kemudian dimasukkan 10 ekor larva *E. varivestis*. Setelah 24 jam, daun kedelai perlakuan dan kontrol diganti dengan daun segar tanpa perlakuan. Pengamatan dilakukan pada 24 jam. Data hasil uji dan pengamatan dicatat.

Metode pengujian yang digunakan adalah metode residu pada daun dengan cara pencelupan pakan ke dalam larutan sediaan. Pengujian menggunakan isolat hasil pemisahan dan pemurnian kolom dan KLT dengan memvariasikan konsentrasi pada masing-masing perlakuan.

E. Identifikasi dan Penentuan Struktur Isolat Daun Jarak Kepyar (*Ricinus communis* l)

Berbagai cara kerja yang dilakukan untuk mendapatkan senyawa-senyawa kimia tumbuhan, salah satu bagian penting ialah ketepatan dalam penentuan struktur kimia. Apabila struktur kimia telah ditentukan, penelitian lanjutan dapat dilakukan untuk kepentingan sintesis atau untuk penelitian yang menganalisis hubungan antara senyawa kimia dengan tempat kerja (*action site*) senyawa tersebut.

Mengidentifikasi struktur kimia diperlukan data-data spektroskopi seperti infra merah (IR), spektroskopi ultra violet (UV), spektroskopi massa dan spektroskopi resonansi magnet inti (*Nuclear magnetic resonance* (NMR). Spektroskopi infra merah dapat digunakan untuk mengukur penyerapan radiasi sinar infra merah atau tingkat vibrasi atau getaran dalam molekul dari senyawa kimia tertentu. Spektrum infra merah senyawa aktif tumbuhan dapat diukur dengan menggunakan spektrofotometer infra merah di dalam pelarut kloroform, karbon disulfide atau karbon tetra klorida atau dibuat suspense dengan bantuan parafin. Fungsi utama dari spektrometri infamerah (IR) adalah untuk menentukan atau mengenal gugus fungsi beserta lingkungannya. Senyawa-senyawa organik akan menyerap radiasi infra merah. Energi yang terserap tersebut tidak cukup untuk mengeksitasi elektron tetapi dapat menyebabkan senyawa organik mengalami rotasi dan vibrasi. Berdasarkan perbedaan penyerapan energi ini akan

dihasilkan perbedaan intensitas yang diekspresikan dalam bentuk pita-pita dalam sebuah spektrum.

Spektrofotometer ultra violet mempunyai prinsip kerja yang sama dengan spektrofotometer infra merah. Uji UV-Vis sangat berguna terutama untuk mengetahui sistem ikatan π pada suatu molekul. Dua jenis spektrometer di atas seringkali belum cukup untuk menetapkan struktur suatu senyawa. Karena itu digunakan pula spektroskopi resonansi magnetik inti (RMI) yang berguna untuk mengetahui jumlah, sifat dan lingkungan atom hidrogen dan karbon dalam suatu molekul.

1. Alat dan Bahan

Penentuan struktur kimia yang digunakan dalam penelitian ini ialah spektrofotometer inframerah (IR), spektrofotometer UV-Vis dan NMR. Inframerah yaitu suatu metode yang berfungsi untuk menentukan adanya gugus fungsi dalam suatu molekul organik, UV-Vis mempelajari ikatan, sedangkan NMR menentukan struktur molekul melalui beberapa parameter seperti RMI-1H untuk menentukan kedudukan dan jenis atom H (proton) dan RMI-13C untuk menentukan keberadaan dan tetangga atom karbon. Uji lain yang dapat menunjang penentuan struktur kimia organik adalah spektrometer massa untuk menentukan massa molekul dan Resonansi magnet inti (*Nuclear magnetic resonance*) dua dimensi.

2. Metode

Metode yang digunakan ialah Spektroskopi IR, UV-Vis, dan NMR. Di antara metode identifikasi dan penentuan struktur kimia yang digunakan dapat dilakukan dengan metode standar yang sudah dikenal untuk menentukan senyawa kimia dan termasuk derivat-derivatnya lain: (Silverstein, 1991),

BAB 5.

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Hasil Ekstraksi dan Fraksinasi Daun Jarak Kepyar

a. Setelah dilakukan maserasi terhadap 2 kg sampel daun yang telah dihaluskan diperoleh ekstrak kasar sebanyak 164,67 gr. Kemudian dilanjutkan dengan proses fraksinasi didapatkan hasil seperti pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Fraksinasi Daun Jarak Kepyar (*R. communis*)

No	Fraksi	Berat (g)
1	Metanol	7,37
2	Etyl Acetat	6.66
3	n-Hexan	7.32

Berdasarkan Tabel 1 di atas nampak bahwa fraksi metanol lebih banyak melarutkan senyawa yang dikandung oleh daun jarak kepyar (*R. communis*) diikuti fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat. Hasil ini menunjukkan bahwa konsentrasi bahan kimia yang ada dalam fraksi-fraksi ini masih sangat bervariasi artinya belum mengarah ke sifat kepolaran pelarut hal ini terlihat dari hasil yang tidak jauh berbeda satu sama lainnya.

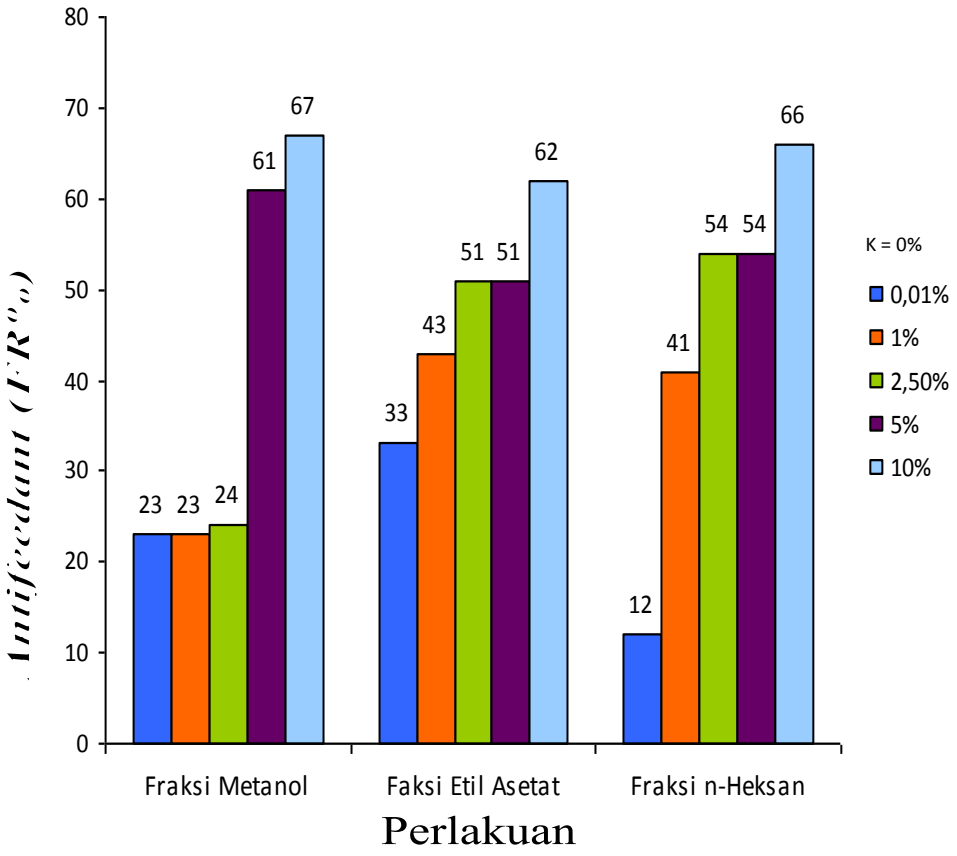
b. Hasil Uji Hayati Fraksi-fraksi Daun *R. communis*

Hasil pengujian hayati disajikan pada Gambar 6. Hasil ini menunjukkan bahwa fraksi metanol lebih banyak melarutkan senyawa yang dapat menghambat makan *E. varivestis* dibandingkan dua fraksi yang lain yaitu fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat yang masing masing memberi nilai penghambatan yang tidak jauh berbeda 66% dan 62%.

Pengujian aktivitas antifidan sampel biji jarak kepyar, diperoleh data bahwa fraksi metanol yang menunjukkan aktivitas penghambatan makan tertinggi yaitu sebesar 65% , diikuti fraksi etil asetat dengan nilai penghambatan 59% dan fraksi n-heksan dengan nilai penghambatan sebesar 58%. Hasil uji ini menunjukkan bahwa fraksi metanol ternyata melarutkan senyawa yang memiliki sifat antifidan. Hasil ini memberi petunjuk atau dugaan bahwa senyawa antifidan yang dikandung oleh biji jarak kepyar bersifat polar. Bila diperhatikan hasil uji ini bahwa pada konsentrasi 10% dan 5% untuk masing-masing fraksi yang menunjukkan penghambatan makan yang cukup signifikan, sedangkan

konsentrasi yang lebih rendah 2,5%, 1% dan 0,01% menunjukkan penghambatan yang sangat rendah.

Pengaruh penghambatan makan untuk masing-masing fraksi dengan variasi konsentrasi yang berbeda-berbeda untuk sampel daun dapat dilihat pada histogram yang ditunjukkan pada Gambar 6.



Gambar 8: Hasil Uji Hayati Fraksi Metanol, Fraksinat Etil asetat dan Fraksinat n-Heksan Daun Jarak Kepyar (R. *communis*)

Gambar 8, menunjukkan bahwa fraksi metanol memberikan nilai penghambatan tertinggi diikuti fraksi n-heksan dan terrendah fraksi etil asetat Hasil pengujian menentukan bahwa fraksi metanol akan diteruskan ke proses isolasi dan pemurnian untuk mendapatkan isolat murni daun jarak kepyar.

Serangga uji (*E. varivestis*) menghadapi dua hal untuk memulai aktivitas makannya yaitu pertama adanya rangsangan-rangsangan untuk inisiasi aktivitas makan

(*feeding stimulant*) dalam tanaman inang yang memberikan isyarat untuk pengenalan jenis makanan dan menjaga aktivitas makan, dan yang kedua, pendeteksian kehadiran senyawa-senyawa asing *(foreign compound*) yang dapat bersifat sebagai penghambat makan (antifidan) sehingga dapat memperpendek aktivitas makan atau bahkan menghentikan aktivitas makan sama sekali. Hal ini terlihat petama-tama serangga uji (*E. varivestis*) belum langsung makan tapi terus bergerak di sekitar daun pakan, kemudian makan sedikit lalu terhenti bergerak lagi ke tempat lain di sekitar pakan.

Serangga dapat mengenali senyawa-senyawa asing (antifidan) dalam makanannya walaupun dalam konsentrasi rendah dan akan merespon atas kehadiran senyawa tersebut dalam makanannya (Bell *et al*, 1990).

Biji memberikan rasa yang sangat pahit dan ini merupakan salah satu faktor yang bertanggung jawab untuk aktivitas penghambatan makan larva *E. varivestis*. Robinson (1991) mengatakan bahwa banyak golongan senyawa terpenoid yang berasa pahit dan rasa pahit ini dikaitkan dengan gugus keton atau lakton.

Pendapat di atas dan sesuai hasil penelitian ini pada tahap uji fitokimia dan hasil identifikasi spektrum NMR menunjukkan bahwa senyawa triterpenoid dan alkaloid yang ditemukan pada daun dan biji jarak kepyar (*R. communis*) bersifat sebagai antifidan terhadap serangga *E. varivestis*.

Pengaruh berbagai konsentrasi ekstrak pada setiap perlakuan menunjukkan angka penghambatan makan berbeda-beda pada setiap konsentrasinya. Perbedaan konsentrasi ini merupakan salah satu faktor penyebab karena pada setiap konsentrasi ekstrak memiliki kandungan senyawa yang berbeda pula, sehingga daya penghambatan makan pada serangga berbeda pula, tergantung banyak sedikitnya konsentrasi ekstrak. Menurut Prijono (1999), semakin pekat konsentrasi larutan berarti semakin banyak kandungan bahan aktif yang dapat mengganggu proses metabolisme dari serangga uji.

2. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Daun *R. communis* .

1) Uji Alkaloid

Tabel 2. .Hasil Uji Fitokimia Golongan Alkaloid Daun Jarak ***(R.communis)***

		Pereaksi			
No	Fraksi	Hager	Wager	Dragendorff	Meyer
1.	Metanol	-	-	+	-
2.	Etil asetat	-	+	+	-
3.	N-Hexan	+	-	+	-

Cat. :Tanda positif (+) menandakan terbentuk endapan dan tanda (-) menandakan tidak terbentuk endapan.

Tabel 2 di atas menunjukkan bahwa uji fitokimia fraksi metanol dengan penambahan pereaksi Hanger, Wagner dan pereaksi Meyer negatif alkaloid, karena pada pereaksi-pereaksi ini tidak terjadi reaksi terhadap golongan alkaloid sehingga pada larutan tidak menunjukkan terbentuknya endapan putih yang merupakan sifat atau ciri khas golongan alkaloid. Penambahan pereaksi Meyer (larutan keruh), Wegner dan Hager (larutan berwarna kuning), Demikian juga fraksi etil asetat dan n-heksan dengan ketiga pereaksi (Hanger, Wanger, dan Meyer) negatif alkaloid. Penambahan pereaksi Dragendorff tiga fraksi yang diuji semuanya menunjukkan adanya positif mengandung alkaloid dengan terbentuknya endapan. Hasil yang diperoleh dalam penelitian ini sama dengan hasil penelitian yang diperoleh Anderson, (1996).

2) Uji Flavonoid

Tabel 3.Hasil Uji Fitokimia Golongan Flavonoid Daun Jarak Kepyar *(R.communis)*

		Flavonoid		
No	Fraksi	+ HCl + Pita Mg	+ H_2SO_4	+ NaOH
1.	Metanol	tidak terjadi Perubahan warna	tidak terjadi Perubahan warna	Tidak terjadi perubahan warna
2.	Etil asetat	tidak terjadi Perubahan warna	tidak terjadi Perubahan warna	Tidak terjadi Perubahan warna
3.	N-Hexan	tidak terjadi Perubahan warna	tidak terjadi Perubahan warna	Tidak terjadi Perubahan warna

Pada uji fitokimia golongan flavonoid dengan penambahan 0,5 mL asam klorida dan pemberian bubuk magnesium kemudian dengan penambahan asam sulfat pekat, dari ketiga fraksi yaitu fraksi metanol, etil asetat dan fraksi n-heksan tidak terjadi perubahan warna yang menunjukkan bahwa pada daun jarak kepyar tidak terkandungan flavonoid. Tidak terjadi perubahan warna pada larutan asal (sampel) berarti tidak terjadi reaksi antara golongan senyawa flavonoid dengan penambahan pereaksi HCl, bubuk magnesium dan asam sulfat pekat.

3) Uji Steroid, Terpenoid, dan Saponin

Pada uji golongan steroid, triterpenoid dan saponin, dari tiga fraksi (metanol, etil asetat dan n-heksan) penambahan pereaksi yang spesifik untuk masing-masing, fraksi menunjukkan terjadi perubahan warna merah bata ini mengindikasikan adanya kandungan triterpenoid. Hasil penelitian ini sama dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Dewi, (2010). Terbentuknya warna merah berasal dari senyawa koordinasi antara N pada terpenoid dengan ion kompleks dari kalium tetra iodo bismutat (II) yang mengendap berwarna merah kecoklatan.

Tabel 4. Hasil Uji Fitokimia Senyawa Golongan Steroid, Terpenoid, dan Saponin Daun Jarak Kepyar *(R.communis)*

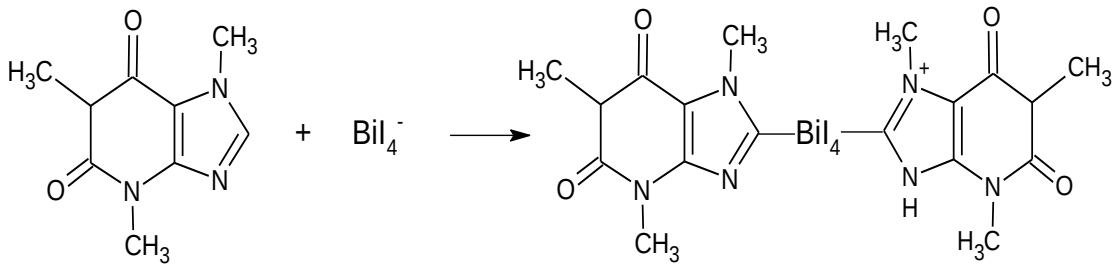
		Pereaksi	
No	Fraksi	Bagian Yang Larut	Bagian yang Tidak Larut
1.	Metanol	Berwarna merah bata (Positif Terpenoid)	a. Menghasilkan busa (Positif Saponin) b. Berwarna merah bata (Positif Terpenoid)
2.	Etil asetat	Berwarna merah bata (Positif Terpenoid)	a. Menghasilkan busa (Positif Saponin) b. Berwarna merah bata (Positif Terpenoid)
3.	N-Hexan	Berwarna merah bata (Positif Terpenoid)	a. Menghasilkan busa (Positif Saponin) b. Berwarna merah bata (Positif Terpenoid)

Reaksi umum pada terpenoid

a. Pereaksi Dragendorff (Kalium tetraiodo bismutat (II))

$$4\,KI + Bi(NO_3)_3 + HNO_3 \rightarrow KBiI_4 + 3\,KNO_3$$

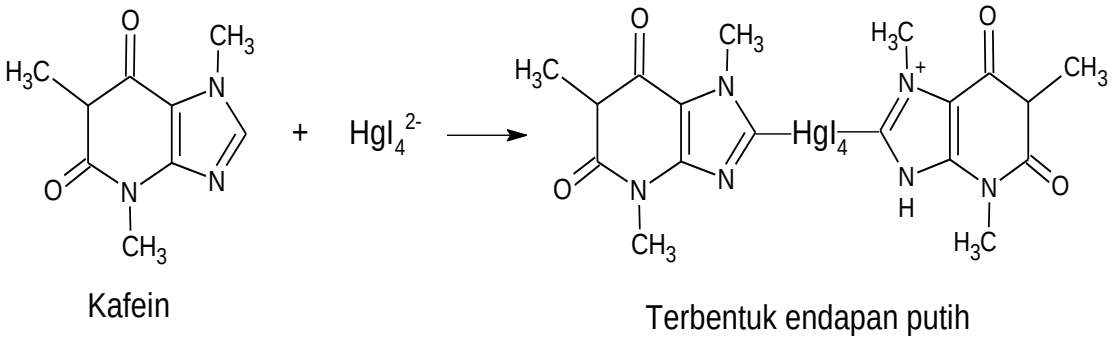
$$KBiI_4 \rightleftharpoons K^+ + BiI_4^-$$



b. Pereaksi Mayer (Kalium tetraioda merkorat)

$$4KI + HgCl_4 \rightarrow K_2HgI_4 + 2KCl$$

$$K_2HgI_4 \leftrightarrow 2\,K^+ + HgI_4^{2-}$$



Hasil uji fitokimia pada penelitian ini, untuk sampel daun jarak kepyar (*R. communis*) dapat dijelaskan bahwa pada sampel didapatkan senyawa metabolit sekunder dari golongan terpenoid yang ditunjukkan dengan terbentuknya endapan merah kecoklatan yang merupakan hasil reaksi antara senyawa terpenoid dengan ion kalium tetraiodo bismutat (II) yang berasal dari pereaksi Dragendorff yang ditambahkan.

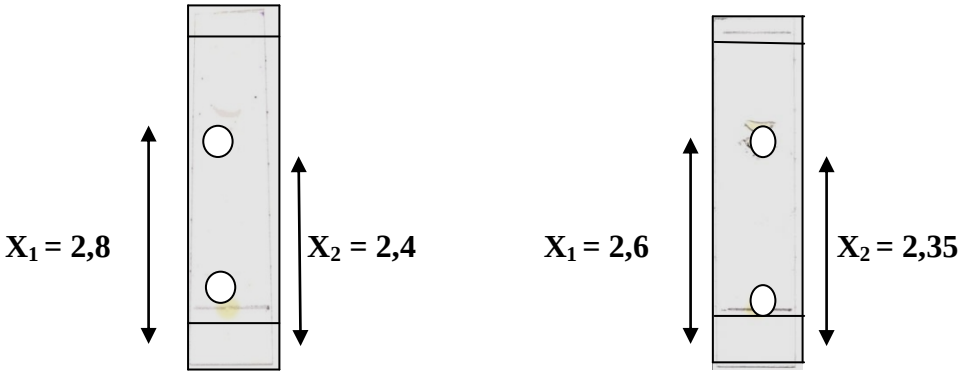
Pereaksi Meyer bertujuan untuk mendeteksi alkaloid di mana pereaksi ini berikatan dengan alkaloid melalui ikatan koordinasi antara atom nitrogen (N) pada alkaloid dan atom merkuri (Hg) pada pereaksi Meyer sehingga menghasilkan senyawa kompleks

merkuri non polar mengendap berwarna putih. Hal ini juga menunjukkan sifat khas alkaloid yang tidak memiliki warna (putih).

Hasil yang ditemukan dalam penelitian ini terdapat kesamaan dengan hasil yang dilaporkan oleh beberapa kelompok penelititi, El-Tawil, (1983) bahwa, pada daun *R. communis* positif mengandung alkaloid. Al-Yahya *et al*., (1986) melaporkan juga bahwa pada tanaman *R. communis* terkandung alkaloid dan triterpenoid. Pada bagian lain juga Gun *et al*., (2000); Kabele-Toge *et al*., (1996); Lotti *et al.,* (1977) dan Torres *et al.,* (2005) mengemukakan bahwa golongan alkaloid ditemukan pada biji jarak kepyar. Abu Mustafa *et al*., (1997) dari uji fitokimia menunjukkan bahwa pada ekstrak daun *R. communis* mengandung metabolit sekunder golongan terpenoid. Demikian juga Arsecuratne *et al*., (1985) mengisolasi daun *R. communis* menemukan senyawa Ricinine alkaloid dan n-dimetilricinine. Menurut Michell dan Sutcliffe (1984), alkaloid dapat menghambat respon gula glikosida sianogenik yaitu gula yang terbentuk dari ikatan antara gula dengan senyawa toksik yang tersimpan pada tumbuhan sehingga senyawa toksik tersebut hilang toksisitasnya seperti halnya HCN pada singkong (*Manihot esculenta*).

3. **Hasil Pemisahan dan Pemurnian**

Pemisahan dan pemurnian komponen-komponen kimia pada ekstrak metanol dilakukan dengan teknik kromatografi kolom. Sebelum dilakukan pemisahan dengan kromatografi kolom, terlebih dahulu dilakukan pemilihan eluen yang mampu memisahkan senyawa yang terdapat dalam ekstrak metanol dengan menggunakan kromatografi lapis tipis. Beberapa campuran eluen dengan polaritas yang berbeda telah dicoba dengan kromatografi lapis tipis untuk memisahkan komponen-komponen kimia pada ekstrak metanol. Eluen yang digunakan antara lain metanol-kloroform (5:5,5), metanol-kloroform (5,5:5), n-heksan-etil asetat (2:1), dan n-heksan-etil asetat (8:2). Jarak pelarut 4 cm. Penentuan pelarut yang dilakukan di atas, ternyata mendapatkan perbandingan pelarut yang menunjukkan pola pemisahan terbaik dengan pembentukan enam bercak/noda pada plat kromatografi lapis tipis dari senyawa yang terkandung pada sampel ialah perbandingan n-heksan- etil asetat (8 : 2). Pelarut dengan perbandingan ini yang dipilih dalam proses kolom.



(a). Eluen: MeOH-$CHCl_3$ (5:5,5) (b). Eluan: MeOH-$CHCl_3$ (5,5:5)

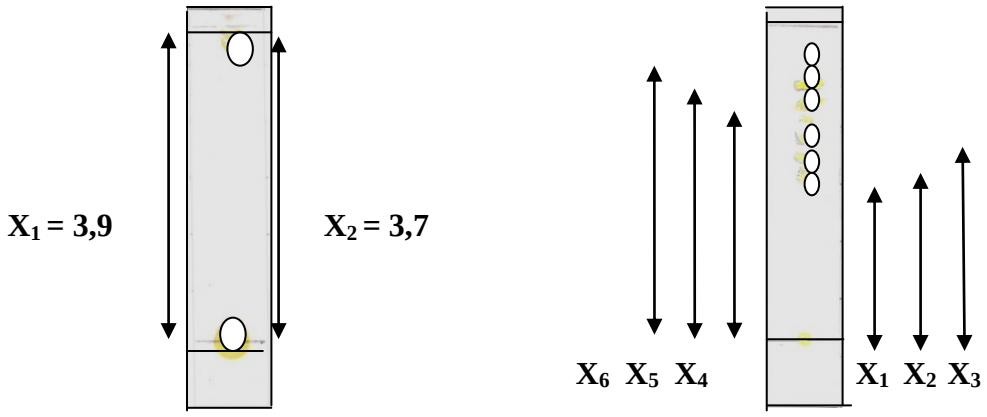
Gambar 9. Hasil KLT Fraksi Metanol pada eluen MeOH-$CHCl_3$

Gambar 9.a, nilai R_f untuk masing masing X_1 dan X_2 ialah sebagai berikut.

$R_f = \frac{X1}{Xp} = \frac{2{,}8\ cm}{4\ cm} = 0{,}7$ Rf = $\frac{X2}{Xp} = \frac{2{,}4\ cm}{4\ cm} = 0{,}6$

Pada Gambar 10.b, nilai R_f untuk masing-masing nilai X_1 dan X_2 ialah :

$R_f = \frac{X1}{Xp} = \frac{2{,}6\ cm}{4\ cm} = 0{,}65$ Rf = $\frac{X2}{Xp} = \frac{2{,}35\ cm}{4\ cm} = 0{,}5875$



(a).Eluen : n-heksan-etil asetat (2:1) (b) Eluen : n-heksan-Etil asetat (8:2)

Gambar 10. Hasil KLT Fraksi Metanol Pada Eluen *n*-heksan-etil asetat

Gambar 10.a, nilai R_f untuk masing masing X_1 dan X_2 yaitu sebagai berikut.

$$R_f = \frac{X1}{Xp} = \frac{3{,}9\ cm}{4\ cm} = 0{,}975$$

$$R_f = \frac{X2}{Xp} = \frac{3{,}7\ cm}{4\ cm} = 0{,}925$$

Gambar 11.b, masing-masing nilai X_1, X_2, X_3, X_4, X_5, dan X_6 ialah :

X_1 = 2 cm X_4 = 2,7 cm

X_2 = 2,3 cm X_5 = 2,96 cm

X_3 = 2,5 cm X_6 = 3,152 cm

Nilai R_f untuk masing-masing nilai X_1, X_2, X_3, X_4, X_5, dan X_6 yaitu :

$$R_f = \frac{X1}{Xp} = \frac{2\ cm}{4\ cm} = 0{,}5$$

$$R_f = \frac{X2}{Xp} = \frac{2{,}3\ cm}{4\ cm} = 0{,}575$$

$$R_f = \frac{X3}{Xp} = \frac{2{,}5\ cm}{4\ cm} = 0{,}625$$

$$R_f = \frac{X4}{Xp} = \frac{2{,}7\ cm}{4\ cm} = 0{,}675$$

$$R_f = \frac{X5}{Xp} = \frac{2{,}96\ cm}{4\ cm} = 0{,}74$$

$$R_f = \frac{X6}{Xp} = \frac{3{,}152\ cm}{4\ cm} = 0{,}788$$

Terdapat beberapa bercak pada plat KLT yang menandakan masih terdapat beberapa senyawa pada ekstrak kental metanol.

Penotolan cuplikan pada plat KLT dilakukan dengan menggunakan pipet mikro dan diusahakan diameter totolan sekecil mungkin karena jika diameter totolan besar itu akan mengakibatkan terjadinya penyebaran noda-noda dan timbulnya noda berekor. Mengamati jumlah noda/spot terbanyak dan jarak pemisahan antar noda cukup terpisah maka dapat digunakan sebagai dasar pemilihan campuran eluen terbaik yang akan

diterapkan dalam pemisahan campuran senyawa menggunakan kromatografi kolom. Eluen n-heksan : etil asetat (8:2) memberikan pola pemisahan terbaik dengan pembentukan enam bercak/noda senyawa yang nampak pada KLT yang terkandung pada ekstrak kental metanol. Eluen ini yang kemudian akan dijadikan sebagai eluen pada kromatografi kolom.

Sebanyak 9 gram ekstrak metanol daun dicampurkan dengan silica gel secukupnya dan dimasukkan ke dalam kolom kromatografi yang di dalamya telah dimasukkan terlebih duhulu 20 gram silica gel 60. Dimasukkan pelarut sebagai fase gerak secara perlahan-lahan yang dimulai dari pelarut nonpolar sampai pelarut yang polar. Pelarut yang digunakan secara berturut-turut yakni pelarut n-heksan, pelarut n-heksan-etil asetat, pelarut etil asetat, pelarut etil asetat-metanol dan pelarut metanol. Kecepatan alir fase gerak yang digunakan ialah kira-kira 1 mL/1menit. Pergantian pelarut maupun perbandingan pelarut diganti berdasarkan perubahan warna yang terdapat pada botol vial. Eluat ditampung disetiap 5 mL. Botol vial yang digunakan untuk menampung pelarut pada kolom kromatogrfi sebanyak 340 botol. Kemudian setiap botol vial dipisahkan berdasarkan warna larutan yang terdapat dalam botol vial.

Botol vial yang telah dipisahkan berdasarkan warna tersebut kemudian di kromatografi lapis tipis. Pelarut yang digunakan untuk pelaksanaan KLT yaitu pelarut n-heksan-etil asetat dengan perbandingan pelarut 8 : 2.,

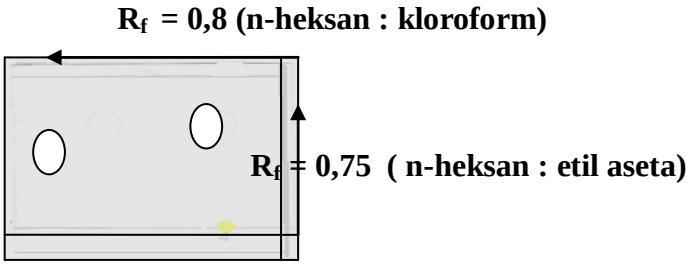
Berdasarkan hasil KLT yang telah dilakukan, terdapat tiga fraksi, (Fraksi D1, Fraksi D2 dan Fraksi D3) dan fraksi D1 dalam bentuk kristal, dari hasil uji hayati fraksi-fraksi ini, fraksi D1 menunjukkan aktivitas yang lebih tinggi dibandingkan dua fraksi lainnya (Fraksi D2 dan Fraksi D3).

Melanjutkan pemurnian dan identifikasi senyawa, yang terpilih karena merupakan senyawa aktif yaitu fraksi yang membentuk kristal hitam (Fraksi .D1) dengan nilai penghambatan 68%.

Gambar 11. Kristal Hitam Hasil kolom

Fraksi D1 kemudian di larutkan dalam metanol dan ditambah dengan silica gel dan dikeringkan. Hasil tersebut kemudian di kromatografi kolom menggunakan kolom kromatografi kecil yang di dalamnya telah dimasukkan silica gel lebih dulu. Kemudian memasukkan pelarut n-heksan, n-heksan–etil asetat, dan etil asetat secara berturut-turut tergantung dari warna yang turun. Larutan berwarna yang turun kemudian ditampung dengan botol vial. Botol vial yang digunakan sebanyak 25 buah. Fraksi pada botol vial tersebut kemudian di KLT. Pelaksanaan KLT, botol-botol vial yang memiliki kristal putih yaitu botol vial ke- 7, 9, 11, 13, 15,16, 17, 18, dan 19. Ternyata pada botol vial **ke-15** terbentuk 2 noda dan pada nomor lainnya hanya terbentuk 1 noda dan terdapat pada garis yang sama sehingga digabungkan menjadi satu fraksi (yaitu fraksi D1.1 dan D1.2 kedua fraksi ini diuji hayati dan Fraksi D1.1 menunjukkan nilai penghambatan 71%).

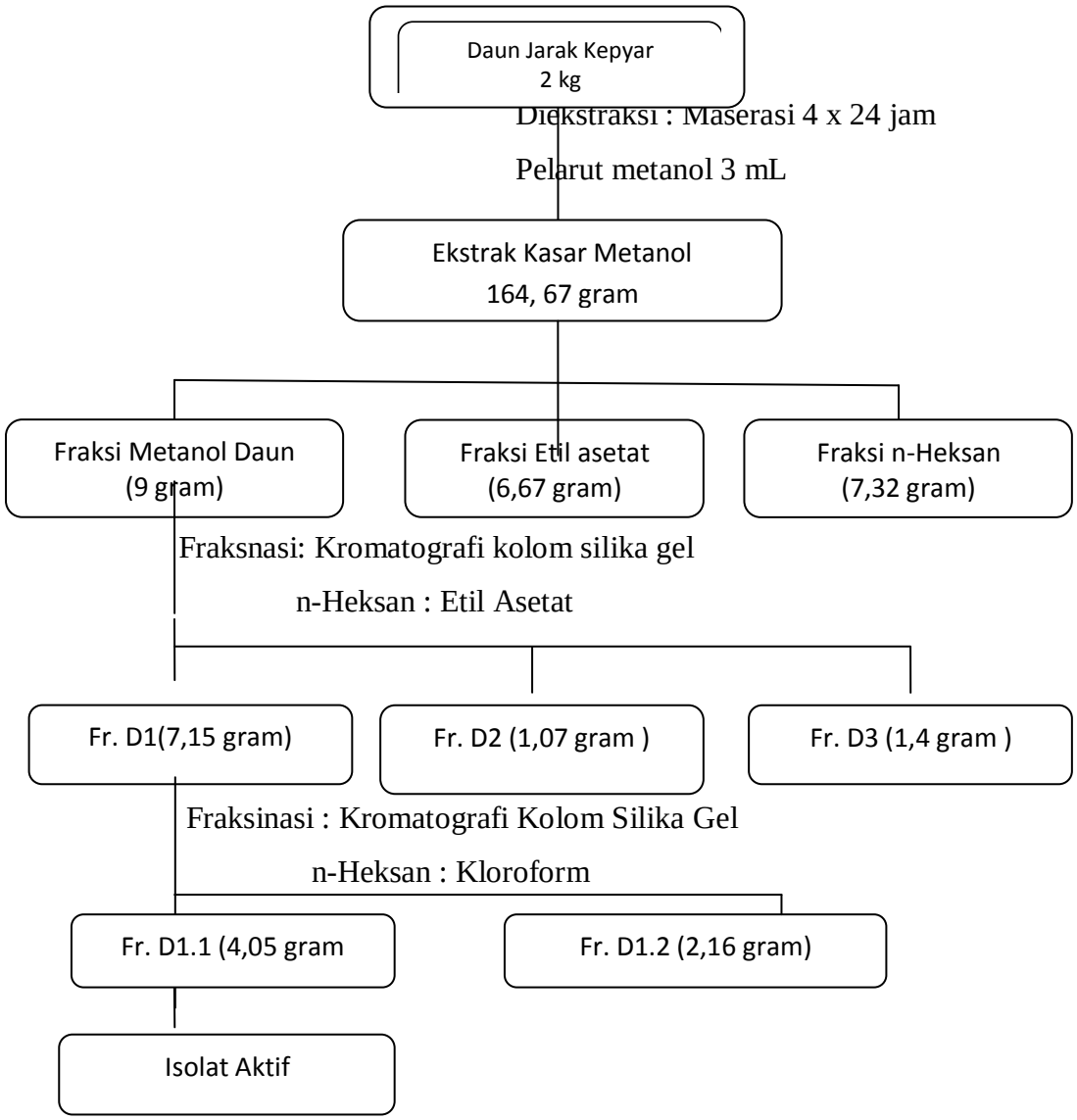
Melakukan KLT dua dimensi terhadap fraksi yang telah digabung dengan menggunakan pelarut n-heksan–etil asetat dengan perbandingan 7:3 pada pelarut pertama dan pelarut kedua merupakan pelarut n-heksan–kloroform perbandingan 5.11.



Gambar 12. Hasil Kromatografi Lapis Tipis Dua Dimensi. Pelarut Pertama : *n*- Heksan-etil Asetat. Pelarut kedua : *n*-Heksan-Kloroform.

Hasil uji kemurnian menunjukkan bahwa Fraksi $D_{1.1}$ hanya mengandung satu senyawa, yang ditunjukkan dengan timbulnya satu noda yang dilakukan uji kromatografi lapis tipis dengan berbagai campuran eluen yang digunakan dan dari hasil uji hayati memberikan nilai penghambatan makan (FR) mencapai 71%. Hal ini dapat dikatakan bahwa fraksi D_1 murni secara KLT. Lebih jelasnya proses pemisahan dan pemurnian fraksi aktif dapat dilihat pada Gambar 13.

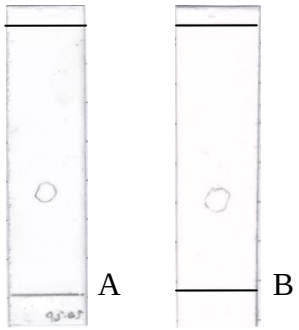
Berdasarkan hasil pemisahan dan pemurnian yang sudah dilakukan terhadap fraksi aktif daun jarak kepyar (*Ricinus communis*) maka diperoleh isolat aktif daun jarak kepyar (*R. communis*) yang dapat dimanfaatkan dalam rangka pengujian selanjutnya yaitu identifikasi dan penentuan strukturnya.



Gambar 13. Skema Pemisahan dan Pemurnian Fraksi Aktif dari Ekstrak Daun Jarak Kepyar

Uji Kemurnian

Untuk menguji kemurnian isolat, dilakukan kembali analisis dengan kromatografi lapis tipis dengan pengembang (eluen) kloroform : metanol (9,5:0,5) dan kloroform : etil asetat (7:3) Hasil analisis kromatografi lapis tipis dapat dilihat pada Gambar 15 berikut ini



Gambar 14. :Profil KLT Isolat aktif Antifidan Menggunakan Adsorben Silica Gel GF_{254}

Keterangan : A = Eluen kloroform: metanol (9,5:0,5)

B = Eluen kloroform : etil asetat (7:3)

Berdasarkan Gambar 16 di atas, isolat yang diperoleh (berbentuk kristal jarum)

menghasilkan bercak noda tunggal. Hal ini menandakan bahwa isolat mengandung 1 senyawa yang secara KLT murni. Nilai R*f* isolat pada kromatogram lapis tipis ditunjukan pada Tabel 5 berikut ini:

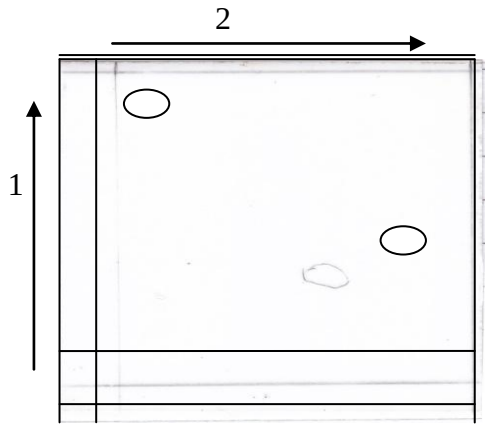
Tabel 5. Nilai R*f* Isolat Pada Dua Variasi Eluen

No	Fasa gerak (Eluen)	Nilai R*f* dari bercak
1	kloroform : metanol (9,5:0,5)	0,4
2	kloroform : etil asetat(7:3)	0,375

Selanjutnya analisis kemurnian isolat dilakukan dengan kromatografi lapis tipis dua dimensi dengan adsorben silica gel GF_{254} dengan menggunakan eluen kloroform: metanol (9,75:0,25) dan n-heksan : metanol (5:5) menghasilkan bercak atau

noda tunggal berwarna ungu. Warna ungu menunjukkan golongan terpenoid. Dari hasil uji ini mengindikasikan bahwa isolat yang diperoleh merupakan isolat murni.

Hasil uji kemurnian terhadap isolat yang dilakukan dengan teknik kromatografi lapis tipis dua dimensi disajikan pada Gambar 16 berikut ini :



Gambar 15. Profil Kromatografi Lapis Tipis Dua Dimensi Isolat Aktif Antifidan dengan Menggunakan Adsorben Silica Gel GF_{254}

Keterangan :

1. Eluen n-heksan : metanol (5:5)
2. Eluen kloroform methanol (9,75:0,25)

Nilai R*f* isolat pada kromatogram lapis tipis dua dimensi ditunjukkan pada Tabel 6 berikut ini :

Tabel 6. Nilai R*f* Isolat Aktif Antifidan Pada KLT Dua Dimensi

No	Fasa Gerak (Eluen)	Nilai R*f* dari bercak
1	Eluen n-heksan : methanol (5:5)	0,34
2	Eluen kloroform metanol (9,75:0,25)	0,59

4. Hasil Pengujian Isolat Murni dan Pembahasan

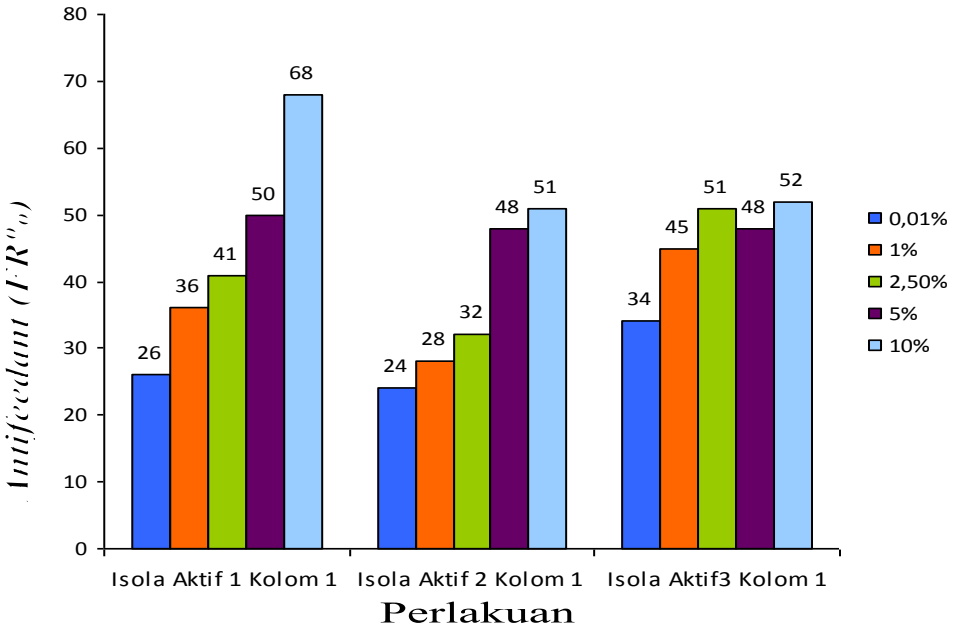
Hasil pengujian senyawa antifidan dari isolat murni yang diperoleh dari hasil pemurnian fraksi aktif daun jarak kepyar (*R. communis*) setelah beberapa kali dilakukan pemisahan dan pemurnian dengan kromatografi kolom dan kromatografi lapis tipis, hasil pengujian terhadap larva *Epilachna varivestis* menunjukkan bahwa aktivitas antifidan memberikan nilai penghambatan makan mencapai sebesar 71% .

Bila dibandingkan hasil aplikasi masih dalam tahapan fraksi aktif dimana fraksinat metanol yang menunjukkan aktivitas penghambatan tertinggi dengan memberikan nilai penghambatan aktivitas makan terhadap serangga *Epilachna. varivestis*

hanya sebesar 67%, setelah dilakukan pemisahan dan pemurnian melalui kromatografi kolom pertama (I) hasil uji hayati, memberikan nilai penghambatan makan sebesar 68% dan dilakukan lagi pemisahan lanjutan untuk kolom kedua (II), dan memberikan isolat murni aktif dengan nilai penghambatan makan mencapai 71% ini berarti bahwa nilai penghambatan makan meningkat dengan semakin murninya isolat yang diperoleh.

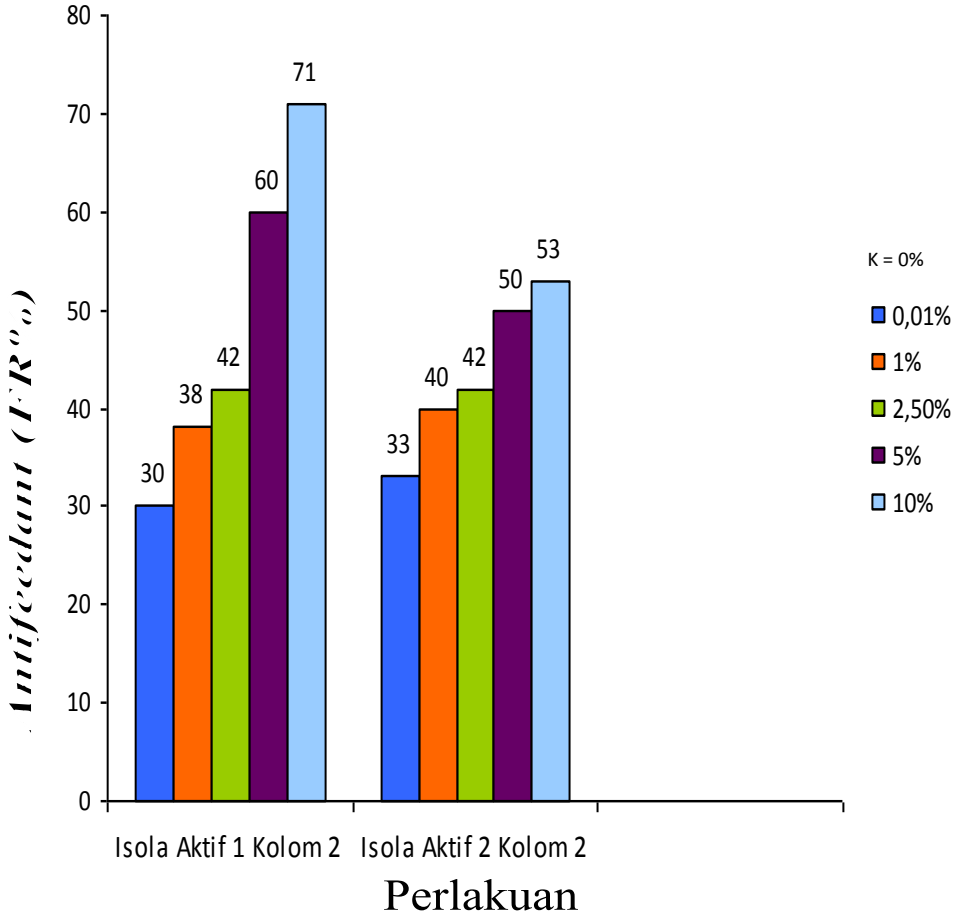
Hasil pengujian hayati fraksi-fraksi aktif pada masing- masing tahapan kolom yang dilakukan seperti uji antifidan hasil kolom pertama dan hasil uji antifidan pelaksanaan kolom kedua maupun pengujian antifidan isolat murni aktif sampel daun jarak kepyar (*R. communis*) dapat dilihat pada Gambar 17, Gambar 18, Gambar 19, dan Gambar 20.

Gambar 17. memperterlihatkan bahwa fraksi aktif D1.1 yang menunjukkan penghambatan aktivitas makan (antifidan) tertinggi yaitu 68% dan fraksi aktif D1.2 memberikan penghambatan makan 51% dan pada fraksi aktif D1.3 memberikan penghambatan makan 52% sehingga fraksi aktif D1.1 dilakukan lagi pemisahan dan pemurnian karena hasil uji kromatografi lapis tipis masih menunjukkan dua noda.



Gambar 16. Hasil Uji Antifidan Fraksi Aktif Hasil Kolom I Daun Jarak Kepyar (*R. communis*)

Setelah dilakukan proses kolom kedua menunjukkan dua fraksi (Fraksi D2.1 dan Fraksi D2.2 dan satu fraksi (Fraksi D2.2) menunjukkan kristal kemudian dilakukan uji KLT menunjukkan noda tunggal. Untuk memastikan kemurniannya dilakukan lagi uji dua dimensi dan memberikan noda tunggal. Hasil pengujian antifidan isolat murni sampel daun ditunjukkan pada Gambar 18, dan data pada Lampiran 6 Tabel 9 dan Tabel 11.



Gambar 17. Hasil Uji Hayati Isolat Murni Daun Jarak Kepyar (*R. communis*)

Hasil pemisahan dan pemurnian melalui kolom kedua diperoleh dua fraksi yaitu fraksi aktif D2.1 dan fraksi aktif D2.2 dan kedua fraksi ini diuji hayati dan fraksi aktif D2.1 menunjukkan nilai penghambatan makan lebih tinggi yaitu 71%. Hasil KLT dua dimensi menunjukkan noda tunggal.

Hasil pengujian senyawa antifidan isolat aktif daun jarak kepyar (*Ricinus communis* L) menunjukkan bahwa isolat aktif yang diaplikasikan kepada serangga *Epilachna*

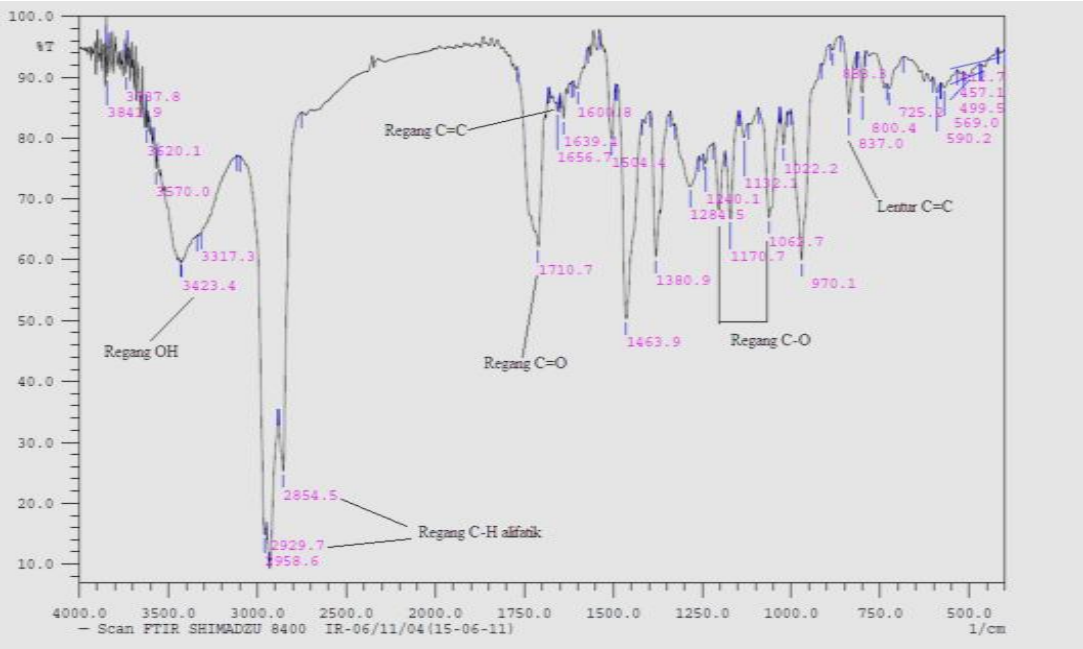
varivestis Mulsant memberikan nilai penghambatan makan berdasarkan konsentrasi yang divariasikan dimana konsentrasi 10% memberikan nilai penghambatan makan 71%, untuk konsentrasi 5% nilai penghambatan makan 60%; konsentrasi 2,5% memberikan penghambatan makan sebesar 42%, pada konsentrasi 1% memberikan nilai pernghambatan 38 dan terakhir untuk konsentrasi 0,01% memberi penghambatan sebesar 30. Data ini menunjukkan bahwa makin kecil konsentrasi isolat yang diberikan mempengaruhi nilai penghambatan makan semakin menurun.

Berdasarkan hasil pengujian di atas dapat disimpulkan bahwa makin tinggi konsentrasi makin tinggi pula nilai penghambatan makan. Konsentrasi 5% - 10% memberikan penghambatan makan yang cukup tinggi mencapai 60-71% untuk isolat daun dan konsentrasi 1-2,5% penghambatan makan mencapai 35-45% sedangkan konsentrasi di bawah 1% sangat kecil penghambatannya.

5. Hasil Identifikasi Dan Penentuan Struktur Senyawa Aktif Antifidan

1. <u>Spektroskopi Infrared (IR)</u>

Spektrum serapan hasil analisis spektrofotometer inframerah dari isolat menggunakan pelat KBr dipaparkan pada Gambar 18. di bawah ini.



Gambar 19. Spektrum inframerah dari isolat daun jarak menggunakan pelat KBr

Spektroskopi inframerah berfungsi untuk mengetahui keberadaan gugus fungsi pada suatu senyawa. Serapan pada bilangan gelombang tertentu berasal dari adanya interaksi antara atom-atom yang terikat baik berupa *bending* ataupun *stretching*.

Data spektrum inframerah isolat menunjukkan adanya serapan pada daerah bilangan gelombang 3423,4 cm^{-1} yang diduga merupakan serapan dari gugus O–H. Serapan tajam pada daerah bilangan gelombang 2929,7 cm^{-1} dan 2854,5 cm^{-1} yang diduga ialah serapan dari gugus C–H *stretching* alifatik, yang diperkuat oleh adanya serapan pada daerah bilangan gelombang 1463,9 cm^{-1}. Adanya gugus fungsi karbonil (C=O) diindikasikan dengan munculnya serapan pada daerah bilangan gelombang 1710,7 cm^{-1} . Adanya gugus fungsi C=C ditandai dengan munculnya serapan pada daerah bilangan gelombang 1656,7 cm^{-1}. Spektrum juga menunjukkan adanya regang C-O yang ditunjukkan oleh adanya serapan pada bilangan gelombang 1240,1 cm^{-1} dan 1132,1 cm^{-1}. Serta adanya lentur C=C yang diindikasikan dengan adanya serapan pada bilangan gelombang 837,0 cm^{-1}. Lebih jelasnya dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel. 7. Data Spektrum Inframerah Isolat Hasil Isolasi

Bilangan Gelombang (υ, cm^{-1})		Bentuk pita	Intensitas	Kemungkinan gugus fungsi
Isolat	Wikipedia.			
3423,4	-	Lebar	Sedang	Regang O-H Hidroksil
2929,7	2850-2960	Tajam	Kuat	Uluran C-H Aromatik
2958,6		Tajam	Kuat	
2854,5	2850-2960	Tajam	Kuat	Uluran C-H aromatic
1710,7	1690-1760	Tajam	Sedang	Uluran C=O karbonil
1656,7	1640-1680	Lebar	Lemah	Regang C=C alkena
1504,4	1500-1600	Tajam	Lemah	Uluran C=C aromatic
1463,9	1350-1470	Tajam	Kuat	Uluran C-H (pd CH_2)
1380,9	1350-1470	Tajam	Kuat	Uluran C-H (pada CH_3)

1240,1	1080-1300	Tajam	Sedang	Regang C-O
1132,1		Lebar	Lemah	
883,3	-	Tajam	Sedang	Lentur C=C
725,2	-	Lebar	Lemah	Lentur CH_2

Berdasarkan uji fitokimia, isolat diidentifikasikan sebagai senyawa triterpenoid. Hasil pengukuran spektroskopi inframerah, isolat ini diduga merupakan senyawa triterpenoid dari golongan onoceran. Isolat ini memiliki karakter yang identik dengan senyawa golongan onoceran yang telah ditemukan pada kulit buah kokosan yaitu onocerandiendion. Keberadaan gugus fungsi dari isolat diduga banyak memiliki kemiripan dengan spektrum inframerah dari onocerandiendion seperti yang ditunjukkan pada Tabel 8.

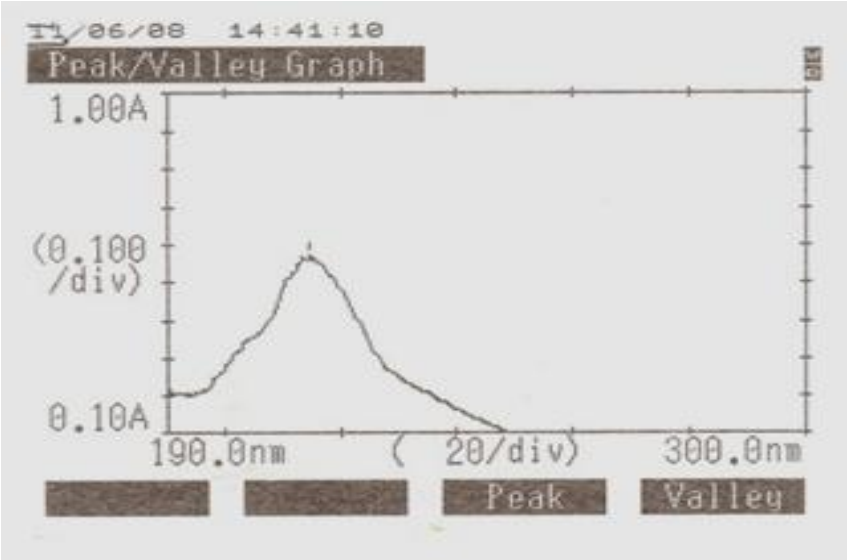
Tabel 8. Perbandingan data Spektroskopi Inframerah Isolat dengan Onocerandiendion (Tri Mayanti, 2006)

	Parameter	Fraksi (F_1)	Onocerandien Dion
Bilangan gelombang (υ, cm^{-1})	Regang C-H	3050	3100
	Regang C=O	1710,7	1714
	Lentur C-H (CH_2)	1463,9	1456
	Lentur C-H (Gem dimetil)	1380,9–1369,8	1386 – 1366
	Lentur C-H dalam bidang	1022,2	1034
	Lentur C-H luar bidang	970,1	980
	Lentur C=C	837,0	844
	Lentur CH_2	725,2	722

Berdasarkan data pada Tabel 8. di atas, maka isolat diduga merupakan senyawa golongan onoceran yang mirip dengan onocerandiendion namun telah mengalami oksidasi pada ikatan rangkap C=C ataupun reduksi gugus karbonilnya C=O. Hal ini menyebabkan adanya gugus –OH hidroksil pada struktur isolat yang diperkuat dengan adanya regang –OH pada panjang gelombang 3423,4 cm^{-1}.

2. Spektrofotometri UV-Vis

Hasil analisis isolat menggunakan spektrofotometer UV-Vis memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang 214,5 nm yang merupakan pita I. Serapan pada panjang gelombang 214,5 nm diduga akibat adanya transisi n-π^* oleh suatu kromofor C=O. Dugaan ini didukung oleh adanya puncak yang muncul dengan intensitas tajam pada bilangan gelombang 1710,7 cm^{-1} pada spektra IR. Data spektrum UV-Vis dapat dilihat pada Gambar 20. di bawah ini.



Gambar 20. Spektrum UV-Vis Isolat dengan panjang gelombang pada pita I = 214,5 nm dan absorbansi = 0,571

3. Penentuan Struktur Isolat Daun Jarak Kepyar Dengan Spektroskopi NM**R**

Penentuan struktur senyawa hasil isolasi dari daun jarak dilakukan dengan analisis spektrum resonansi magnet inti proton dan karbon-13 (RMI-^{1}H dan ^{13}C, Jeol 500 dan 100 MHz). Spektrum RMI-^{1}H dan ^{13}C isolat dari daun jarak masing-masing dipresentasikan pada Tabel 9. dan Tabel 10. (Gambar 27 dan Gambar 28. Spektrum RMI-1H dan RMI-^{13}C (Lampiran 7). Data analisis spektrum pada Tabel 9 dan Tabel 10 menunjukkan bahwa isolat memiliki kelompok proton dan karbon aromatik dan alifatik

polisiklik, serta adanya gugus karbonil ester. Tabel 9 menunjukkan adanya sinyal proton etilenik pada pergeseran kimia (δ) 5,13 ppm dan didukung juga oleh adanya karbon etilenik pada (δ) 121,9 ppm (Tabel 9). Adanya sinyal dari tujuh metil angular pada Tabel 9 menunjukkan bahwa senyawa isolat dari daun jarak mengandung inti alifatik polisiklik dalam hal ini ialah inti triterpen.

Tabel 9. Tabulasi Spektrum RMI-^{1}H Isolat dari Daun Jarak.

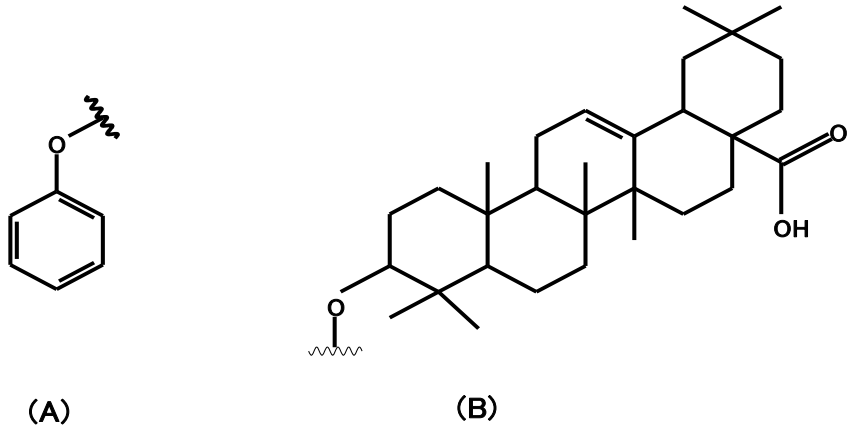
(δ)(ppm)	Multiplisitas *J* Hz	Dugaan
7,70	Dd	H (aromatik)
7,52	Dd	H (aromatik)
7,11	s (lebar)	H (N-metil)
5,13	M	H (etilenik)
4,21	M	H (C-teroksigenasi)
3,53	M	H (C-teroksigenasi)
0,67-2,80	M	H (alisiklik)

Tabel 10. Tabulasi Spektrum RMI-^{13}C Isolat dari Daun Jarak.

(δ)(ppm)	DEPT	Dugaan
185,8	C	C (karbonil)
140,9	C	C (aromatic
139,4	CH	C (aromatik)
138,5	CH	C (aromatik)
129,4	CH	C (aromatik)
121,9	CH	C (aromatik)
71,9	CH	C (teroksigenasi)

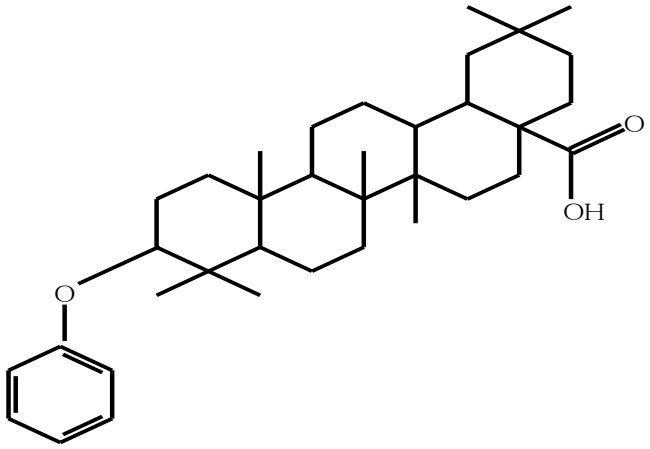
57,0	CH	C (alisiklik)
56,9	CH_2	C (alisiklik)
56,1	CH_2	C (alisiklik)
51,4	CH_2	C (alisiklik)
50,3	CH_2	C (alisiklik)
45,9	CH_2	C (alisiklik)
42,5	CH_2	C (alisiklik)
42,4	CH_2	C (alisiklik)
40,7	CH	C (alisiklik)
39,9	CH_2	C (alisiklik)
39,8	CH_2	C (alisiklik)
37,4	CH_2	C (alisiklik)
36,7	CH_2	C (alisiklik)
29,9	CH_3	C (alisiklik)
29,3	CH_3	C (alisiklik)
24,5	CH_3	C (alisiklik)
21,3	CH_3	C (alisiklik)
19,5	CH_3	C (alisiklik)
12,2	CH_3	C (alisiklik)
12,0	CH_3	C (alisiklik)

Berdasarkan tabulasi pada Tabel 9 dan Tabel 10 dapat diperkirakan bahwa senyawa isolat dari daun jarak memiliki inti aromatik dan inti triterpenoid yang memiliki gugus karbonil ester seperti yang ditunjukkan pada Gambar 21 .



Gambar 21. Inti aromatik (A) dan inti triterpen (B) pada isolate dari daun jarak Kepyar (*R. communis*)

Adanya gugus karbonil ester ditunjukkan oleh sinyal karbon karbonil pada pergeseran kimia δ 185,8 ppm (Tabel 10). Berdasarkan uraian di atas dapat diusulkan struktur senyawa pada isolat dari daun jarak adalah seperti pada Gambar 22.



Gambar 22. Struktur senyawa pada isolat dari daun jarak, 2,2,6a,6b,9,9,12a-heptametil-10-fenoksi-1,2,3,4,4a,5,6,6a,6b,7,8,8a,9,10,11,12,12a,12b, 13,14b-ikosahidropisen-4a-asam karbosilat.

B. PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keberadaan senyawa antifidan pada daun dan biji jarak kepyar (*Ricinus communis*) dan kemampuannya menghambat aktivitas makan serangga *Epilachna varivest.* Berdasarkan hasil yang diperoleh maka dapat dijelaskan sebagai berikut:

1. <u>Ekstraksi dan Fraksinasi Daun Jarak Kepyar</u>

Di dalam pelaksanaan penelitian di dahului dengan proses ekstraksi terhadap sampel daun dan biji jarak kepyar (*R. communis*) untuk mendapatkan ekstrak kasar. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi (perendaman) dengan menggunakan pelarut metanol sebanyak 3 liter. Ekstraksi yang dilakukan terhadap masing-masing 2 kg sampel daun dan biji diperoleh ekstrak kasar (164,67 gram ekstrak kasar daun).

Ekstraksi sampel biji memberikan hasil ekstrak kasar yang lebih banyak bila dibandingkan dengan hasil dari ekstrak daun, ini berarti bahwa ekstrak biji lebih memiliki kandungan kimia yang lebih bervariasi. Hal ini sangat beralasan karena biji merupakan komponen penting dalam kehidupan dan perkembangan tumbuhan sebagai tempat menyimpan berbagai bahan persediaan seperti metabolit primer untuk metabolisme dan perkembangan tumbuhan maupun metabolit sekunder sebagai bahan perlindungan tanaman.

Teknik maserasi dipilih pada ekstraksi karena maserasi adalah cara dingin sehingga aman dan tidak merusak senyawa target bila yang digunakan ialah cara panas karena dapat menyebabkan terurainya senyawa kimia tumbuhan yang sifatnya mudah terurai akibat pemanasan. Penggunaan pelarut metanol untuk lebih menarik berbagai komponen yang terkandung pada sel-sel dan vakuola daun maupun biji jarak karena pelarut metanol merupakan pelarut organik yang bersifat polar sehingga dapat melarutkan berbagai senyawa kimia yang bersifat polar maupun yang semi polar, dan pelarut ini merupakan pelarut yang umum digunakan dalam menganalisis bahan tumbuhan.

Proses partisi dan fraksinasi sebagai rangkaian proses ekstraksi dilakukan untuk mendapatkan fraksi aktif melalui uji hayati pada serangga *E. varivestis* dari fraksi-fraksi daun dan biji yang berbeda kepolarannya untuk mengetahui fraksi yang dapat melarutkan senyawa aktif sebagai antifidan yang dapat dilanjutkan ke proses isolasi dan pemurnian. Partisi dan fraksinasi yang dilakukan menghasilkan tiga fraksi (fraksi metanol, fraksi etil asetat dan fraksi n-heksan) yang kemudian diuji hayati pada serangga *E. varivestis.*

2. <u>Uji Hayati Ekstrak Daun Jarak Kepyar</u>

Pengujian hayati tiga fraksi dari ekstrak daun jarak kepyar pada kumbang *E. varivestis* didapatkan hasil bahwa senyawa antifidan yang larut pada fraksi metanol yang memberikan penghambatan makan tertinggi ialah fraksi metanol (67 %), dan dua fraksi lainnya (fraksi etil asetat dan n-heksan memberikan nilai penghambatan yang tidak jauh berbeda (66% dan 62%). Hasil uji hayati fraksi-fraksi biji jarak kepyar untuk tiga fraksi (metanol, etil asetat dan n-heksan) diperoleh hasil bahwa senyawa antifidan yang larut pada fraksi metanol juga yang memberikan nilai penghambatan makan tertinggi (65% metanol, 59 % etil asetat dan 58% n-heksan).

Hasil uji ini menunjukkan bahwa fraksi metanol melarutkan senyawa yang memiliki bioaktivitas sebagai antifidan, hal ini terlihat pada dua jaringan tanaman baik daun maupun biji bahwa fraksi metanol memberikan nilai penghambatan makan lebih tinggi, walaupun dilihat dari prosentasenya tidak jauh berbeda, karena diduga masih sam-sama dipengaruhi oleh senyawa lain yang menjadi kandungan baik daun maupun biji jarak kepyar.

Di pihak lain dugaan bahwa senyawa antifidan yang dikandung daun dan biji jarak kepyar merupakan senyawa polar karena umumnya senyawa yang bersifat polar bereaksi dengan senyawa polar. Hal ini ditunjukkan oleh lebih tingginya penghambatan makan pada fraksi metanol.

Bila dikaitkan dengan variasi konsentrasi pada masing-masing fraksi yang diperlakukan ternyata perbedaan konsentrasi memberikan pengaruh terhadap aktivitas penghambatan\ makan serangga. Hasil yang diperoleh dari pengujian menunjukkan bahwa nilai penghambatan makan di masing-masing fraksi pada konsentrasi 10% dan 5% menunjukkan nilai penghambatan yang sangat signifikan; kemudian pada konsentrasi 2,5% dan 1% penghambatannya mengalami penurunan cukup jauh sedangkan pada konsentrasi 0,01% sangat rendah penghambatan makan yang ditimbulkan.

Apabila dibandingkan dengan hasil penelitian yang diperoleh Sharma *et al*, (2009), dalam penelitian terhadap ekstrak beberapa tumbuhan termasuk pada tanaman jarak (*R. communis*) pada variasi konsentrasi yang sama namun berbeda pelarut (etanol), hasil penelitian ini masih lebih tinggi (67%) sedangkan hasil yang mereka dapatkan hanya sebesar 58,5%.

Mekanisme kerja senyawa antifidan sampai saat ini belum diketahui secara jelas, namun demikian terdapat fakta dalam penelitian ini sehubungan dengan interaksi senyawa-senyawa antifidan ditemukan bahwa hasil pengamatan menunjukkan terjadi interaksi senyawa terpenoid yang terkandung pada daun dan biji jarak kepyar ternyata memberikan interaksi atau terjadi aktivitas penghambatan makan bagi serangga uji (*E. varivestis*).

Fakta lain dilaporkan oleh Gershenzon dan Croteau (1984) bahwa terjadi interaksi beberapa senyawa seperti terpenoid dengan reseptor sensor serangga. Penghambatan makan dari azadirarakhtin yang merupakan senyawa golongan terpenoid (20 atom C dan

triterpenoid 30 atom C) telah diketahui berhubungan dengan syaraf gustatori larva Lepidoptera, (Simmond dan Blaney, 1984). Hal ini dapat terjadi pada serangga karena perilaku makan serangga dituntun oleh sensor informasi, dalam mempelajari tanggap rangsangan sehingga dapat membantu dalam mengidentifikasi senyawa kimia yang dihasilkan oleh tumbuhan yang dapat digunakan sebagai antifidan (Schoonhoven, 1986).

3. Isolasi dan Pemurnian Fraksinat aktif Daun Jarak Kepyar

Isolasi dan pemurnian dilakukan dengan teknik kromatografi kolom dan kromatografi lapis tipis. Fraksi aktif daun dilakukan pengoloman dengan menggunakan silaca gel (Wakogel C-300) dengan eluen n-heksan-etil asetat (8:2). Hasil kolom pertama (menghasilkan tiga fraksi (Fraksi. D1, Fraksi. D2 dan Fraksi. D3) dari hasil uji hayati menunjukkan nilai penghambat 68% namun masih menunjukkan noda ganda sehingga masih dilanjutkan pada pemisahan lanjutan ke kolom kedua (II) dan diperoleh dua fraksi (Fraksi. D1.1 dan D1.2) dilakukan uji KLT dua dimensi dan menunjukkan noda tunggal.

4. Aplikasi Antifidan Isolat Aktif Daun Jarak Kepyar**.**

Isolat aktif diuji aktivitas antifidan terhadap serangga *Epilachna varivestis* Mulsan dan memberikan hasil dengan nilai penghambatan makan sebesar 71% untuk isolat daun.

Terlihat dari hasil isolasi bahwa kemurnian sangat mempengaruhi aktivitas penghambatan makan artinya semakin murni isolat semakin tinggi nilai penghambatan makan terhadap serangga uji. Prosentase hasil penelitian ini tidak mendapatkan nilai penghambatan makan sampai 100% namun demikian tetap terjadi aktivitas penghambatan makan. Perry, *et al*. (1997) menjelaskan bahwa antifidan adalah zat kimia yang aksi penolakan makannya tidak harus total hingga 100%, tetapi cukup membuat tumbuhan atau tanaman tersebut kurang disukai ketika serangga mencoba dan melakukan aktivitas makannya.

Hasil uji senyawa antifidan menunjukkan bahwa serangga dapat merasakan adanya zat asing (senyawa antifidan) yang membuat serangga setelah makan daun perlakuan menurun aktivitas makannya, bahkan tidak mau makan sama sekali sehingga lama-kelamaan serangga menjadi hitam kemudian menggelepar dan akhirnya serangga mati.

Mekanisme peracunan antifidan terhadap serangga *E. varivestis* dapat dijelaskan sebagai berikut: Serangga mememiliki reseptor pada antena atau pada bagian mulut seperti palpus dan juga pada bagian kaki tarsus yang dapat mendeteksi makanannya ataupun bahan kimia (terpenoid, alkaloid), akan menolak makan tetapi serangga sudah dipuasakan kurang lebih 8 jam, keadaan ini berarti serangga dalam keadaan lapar sehingga dengan sendirinya serangga harus makan walaupun sudah terdeteksi bahwa pada daun tersebut terdapat zat asing (antifidan) yang berasal dari terpenoid dan alkaloid yang terkandung pada tanaman jarak.

Setelah mencicipi daun kedelai sebagai pakan perlakuan, serangga merasakan reaksi bahan kimia dengan sel-sel dalam tubuh serangga sehingga serangga tersebut terhambat atau berhenti sama sekali makan, dan karena tidak makan lagi maka sel-sel tubuh serangga telah mengalami ketidakseimbangan dan diduga sistem pernapasan tidak berjalan baik maka mengakibatkan serangga menjadi berwarna hitam, menggelepar dan akhirnya serangga tersebut mati.

Berkenaan dengan peracunan senyawa kimia hasil penelitian (senyawa antifidan dari terpenoid dan alkaloid) terhadap serangga uji, Schoonhoven (1986) menjelaskan bahwa kehadiran antifidan yang berupa alkaloid akan merangsang reseptor penolak dan akibatnya akan menghalangi serangga untuk makan. Lebih lanjut Schoonhoven (1982), menyimpulkan bahwa antifidan diduga 1) merangsang reseptor penolak yang spesifik 2) merangsang reseptor secara umum, 3) merangsang aktivitas beberapa sel dan menghambat yang lainnya, 4) menghambat spesifik reseptor penstimulan makan (*phagostimulant*) dan 5) kadang-kadang menyebabkan tingginya pola impuls yang tidak alami pada frekwensi yang tinggi. Menurut Simmonds & Blaney (1984) aktivitas penghambatan makan berhubungan dengan syaraf gustatori larva. Sedangkan Dadang Sukayat (2010) mengemukakan cara kerja insektisida nabati dapat meliputi: 1) merusak perkembangan telur, larva dan pupa, 2) menghambat pergantian kulit, 3) mengganggu komunikasi serangga, 4) menyebabkan serangga menolak atau berkurang makan, 5) menghambat reproduksi serangga betina, 6) mengusir serangga, 7) menghambat perkembangan patogen penyakit, 8) menghambat kerja enzim. Dari pendapat di atas bahwa berkurangnya daya makan serangga sebagai akibat tingginya kadar atau konsentrasi yang dikandung oleh senyawa antifidan.

Prijono (2008) menjelaskan cara kerja antifidan dalam tubuh serangga dapat bekerja dalam dua cara yaitu 1) mempengaruhi perilaku serangga seperti: penghambatan aktivitas makan, mengganggu penemuan inang, menghambat aktivitas peneluran, dan 2) mempengaruhi fisiologi serangga, seperti: mempengaruhi perkembangan telur hingga gagal menjadi serangga pra dewasa (larva atau nimfa dan dewasa/imago), menghambat pembentukan khitin, mengganggu reproduksi.

Ditinjau dari masuknya metabolit sekunder (antifidan) ke dalam tubuh serangga, Rompas (2010) mengatakan bahwa, modus operandi zat kimia itu dalam tubuh dan meracuni organisme, ada yang menyerang otak (*neurotoksisiti*), darah (*hematoksisiti*), hati (*hepatoksisiti*), kulit (*dermatoksisiti*), mata (*oftalmotoksisiti*), ginjal (*nefrotoksisiti*) dan paru-paru (*pneumotoksisiti*), dengan cara kerja yang berbeda-beda tergantung jenis senyawanya.

Mitcell and Sufcliff, (1984), menjelaskan bahwa serangga mempunyai reseptor termasuk kemoreseptor pada antena, bagian mulut, tarsus, palfus yang dapat membedakan berbagai senyawa kimia alkaloid, terpenoid yang bekerja menghambat respon gula pada sensila galeal pada Coleoptera. Menurut Dadang (1999) *R. communis* memberi efek penolakan peneluran dan aktivitas makan yang cukup tinggi pada kumbang terutama Coleoptera: Bruchidae.

Lebih lanjut, cara kerja senyawa metabolit sekunder (antifidan) pada sistem saraf, menurut Prijono (2008) diduga berlangsung melalui rangkaian berikut: 1) interaksi insektisida dengan makromolekul tertentu dalam sitem saraf, 2) menyebabkan ganguan terhadap fungsi sistem saraf, 3) menyebabkan kelumpuhan sistem otot dan kelainan perilaku, 4) akan terjadi kegagalan pada sistem pernafasan (pertukaran udara), 5) sehingga terjadi ketidakseimbangan kandungan zat dalam cairan tubuh, 6) maka terjadi peracunan sel, dan 6) akhirnya serangga sampai pada kematian.

Tarumengkeng (1992), Mengatakan bahwa insektisida memasuki tubuh serangga melalui berbagai cara yaitu: 1) melalui kulit, setelah bahan insektisida (antifeedant) bersentuhan dengan serangga, 2) melalui mulut dan saluran makanan, 3) melalui sistem jalan napas atau spirakel dan trakhea.

5. <u>Identifikasi dan Penentuan Struktur</u>

Penentuan struktur isolat dari biji jarak kepyar dilakukan dengan analisis spektrum resonansi magnet inti proton dan karbon-13 (RMI-^{1}H dan ^{13}C, Jeol 500 dan 100 MHz). Data analisis spektrum menunjukkan bahwa isolat hasil penelitian memiliki kelompok proton dan karbon aromatik dan alifatik, serta adanya gugus N-metil dan gugus metoksi, serta adanya gugus karbonil. .

Penentuan struktur senyawa hasil isolasi dari daun jarak dilakukan dengan analisis spektrum resonansi magnet inti proton dan karbon-13 (RMI-^{1}H dan ^{13}C, Jeol 500 dan 100 MHz). Data analisis spektrum menunjukkan bahwa isolat memiliki kelompok proton dan karbon aromatik dan alifatik polisiklik, serta adanya gugus karbonil ester. Adanya sinyal proton etilenik pada pergeseran kimia (δ) 5,13 ppm dan didukung juga oleh adanya karbon etilenik pada (δ) 121,9 ppm sehingga menunjukkan bahwa senyawa isolat dari daun jarak mengandung inti alifatik polisiklik dalam hal ini ialah inti triterpenoid.

BAB 6

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

1. Berdasarkan hasil ekstraksi dan fraksinasi serta uji hayati fraksi-fraksi ekstrak daun jarak kepyar dapat disimpulkan bahwa pada jaringan daun jarak kepyar (*R.commu nis*) terkandung senyawa aktif yang mampu menghambat aktivitas makan (antifidan) kumbang *E. varivestis*. Hasil uji hayati fraksi-fraksi dari ekstrak daun memberikan nilai penghambatan makan (FR) tertinggi 67% pada fraksi metanol, diikuti ekstrak n-heksan dengan nilai penghambatan 66% dan ekstrak etil asetat dengan nilai penghambatan 62%
2. Isolasi dan pemurnian terhadap fraksi aktif ekstrak daun jarak kepyar dengan teknik kromatografi kolom dan kromatografi lapis tipis didapatkan isolat aktif daun (Fraksi D2.1 sebesar 4,05 gram) sebagai senyawa aktif antifidan dengan uji KLT dua dimensi memberikan noda tunggal sehingga isolasi dan pemurnian dengan teknik kromatografi kolom dan kromatografi lapis tipis dapat ditarapkan.
3. Uji hayati isolat aktif antifidan hasil isolasi dan pemurnian fraksi metanol daun jarak kepyar mampu memberikan nilai penghambatan makan terhadap *E. varivestis* sebesar 71%. Variasi konsentrasi senyawa antifidan sangat mempengaruhi aktivitas makan kumbang *E. varivestis* di mana makin tinggi konsentrasi memberikan nilai penghambatan makan yang semakin tinggi pula (isolat daun konsentrasi 0,01% FR 30%, <1% FR 38%, <2,5% FR 42%, <5% FR 60% dan <10% FR 71%).
4. Hasil identifikasi spektrum inframerah isolat daun *R. communis*, diketahui positif terkandung senyawa triterpenoid aromatik yang mempunyai karakteristik gugus fungsi O-H, C-H, C=O, C=C, C-O siklik dan =C-H yang didukung oleh uji UV-Vis dengan serapan pada panjang gelombang 214,5 nm merupakan hasil transisi $n \rightarrow \pi^*$ oleh suatu kromofor C=O.
5. Ditemukannya senyawa antifidan pada penelitian ini memberikan kontribusi terhadap penemuan insektisida botani yang ramah lingkungan dan berpotensi untuk menggantikan insektisida sintetis yang dapat membahayakan manusia, hewan dan lingkungan.

B. Saran.

Melalui penelitian ini disarankan untuk dapat dilakukan penelitian lanjutan untuk pengujian spektrofotometer massa dan beberapa parameter uji NMR dua dimensi untuk memastikan struktur isolat yang menjadi usulan dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

Ade K, N. Gharsallah and M. Damak. 2011. Chemical composition and in vitro antioxidant. Properties of Essential oil of *Ricinus communis* L. Journal of Medical Plants Research vol. 5(8).pp. 1466-1470.

Alford, A.R, and MD Bentley. 1994. *Citrus Limoids as potensial antifidan for the spuce budworm (Lepidoptera:Tortricidae)*. J. Econ. Entomol, 79:35-38. Buletin Hama dan Penyakit Tumbuhan 12(1):27-32. (2000). *Buletin of Plant Pest* and *Diseases ISSN* 0854-3836

Anom, I.D.K. 2000., *Isolasi Senyawa Antimakan Dari Biji Kosia pruniformis Terhadap Epilachna sparsa.* Jurnal *Eugenia* volume 6. No. 3 Media *Publikasi Ilmu Pertanian*. Fakultas Pertanian Universitas Sam Ratulangi Manado. hlm 196-202.

Anurag Sharma dan Rakesh Gupta, 2009. Biological activity of Some Plant extracts against Prieris brassica (Linn). Journal of Biopesticides, 2 (1):26-31.

Arifin A, dan Sjamsul. 1986. *Buku Materi Pokok Kimia Organik Bahan Alam*. Jakarta: Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Universitas Terbuka

Bell L.A, L.E Fellows and M.S.J Simmonds . 1990. Natural Products from plants for the control of insect pests, pp. 337-350. In Hodgson and Kuhr J.R. (eds.), Safer Insecticides: Depelopment and Use. Marcel Dekker. New York. 593p.

Bernays E.A and R.F. Chapman. 1994. Host Plant Selection by Phytophagous Insects. New York: Chapman & Hall.

Blaney W.M; M.S.J Simmonds; and S.V Ley; J.C Anderson and Toogood PL. 1990. Antifidan effects of azadirachtin and structurally related compounds on lepidopterous larvae. *Entomol Exp* App 55:149-160

Borror D. J Ch., A. Triplehornand, N. F. Johson., 1992. Pengenalan Pelajaran Serangga Edisi keenam. Penerjemah Soetiyono Partosoedjono. Faskultas Kedokteran Hewasn IPB.

Cahyo, A., 2006. Perbandingan Penggunaan Minyak Tanah dan Biodiesel (Minyak Jarak) Sebagai Bahan Bakar Bertekanan. Diakses tanggal 8 Desember 2010. http://www.docstoc.com/docs/27694693.

Carnelis. 1998. Pengaruh Ekstrak Biji tiga jenis tanaman Meliaceae terhadap aktivitas makan, mortalitas, dan perkembangan *Crocidolomia binotalis* Zeller

(Lepidoptera: Pyralidae). Skripsi. Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Faperta, IPB.Bogor.

Cassaret, L. J., and J.D Doull, 1975. Toxicology. The Basic Science of Poisons. New York: Macmillan Publishing Co. Inc.

Chiu S. F. 1985. Recent research findings on Mellaceae and other promising botanical Insecticidals in China. *Zeitschrift fur pflanzenkrankheiten und pflanzenschultz* 92:310-319.

Creswell, . C.J, 1982, "Spectrum Analysis of Organic Compound" Burgess Publishing Company.

Dadang, R.S Dewi and K. Ohsawa. 2007b. Penghambatan Makan dan mortalitas campuran ekstrak tumbuhan terhadap larva *Plutella xylostella* L (Lepidoptera: yponomeutidae). Seminar Nasional Perhimpunan Entomologi Indonesia Cabang Bandung, Sukamandi, 10-11 April 2007.

Dadang and K. Ohsawa. 2005. Identification of inscticidal principle in Polyalthia littoralis Boerl. (*Annonaceae)* seed toxic to Azzuki Bean Weevil, *Callosobruchus chinensis* L. (Coleoptera:Bruchidae) and *Plutella xylostella*. J. ISSAAS 11(2):54-62.

Dadang S. 2010. Pemasyarakatan Pestisida Nabati dalam Pengendalian OPT Pangan and Hortikultura. Buletin.

Dadang. 1999. Insect Regulatory Activity and Active Substances of Indonesian Plants Particularly to the Diamondback Moth. Dissertation. Tokyo: Tokyo University of Agriculture.

Dadang. S. Dan Kanju Ohsawa Sakuraga 1-1-1q. Setagayaku ,(2000) Penghambatan Aktivitas Makan Larva Plutella Xylotella (Lepidoptera) Yang diperlakukan ekstrak Biji Swietania mahoni Jaceq (Meliaceae).

Dadang and K. Ohsawa, 2001b. Pengaruh Penghambatan Aktivitas Makan dan Peneluran, mortalitas dan ovisida ekstrak lima belas jenis tumbuhan pada *Plutella xylostella* (L) (Lepidoptera: Yponomeutidae) dan *Callosobruchus chinensis* (L.) (Coleoptera: Bruchidae). Bul HPT 13:23-32

Darwis , D., M. Sitorus and Ibrahim. 2009. Transformation of Ricinoleic of Castor oil into linoleic (omega 6) and conyugated linoleic acid by dehydration. Dep. Of chemistry, Faculty of Matematica and Natural Science. Andalas State University.

Dinas pertanian dan kehutanan. 2009. *Pestisida Nabati*. http://www.Jakarta.go.id/dislan/berita/pestisida_nabati.html (diakses tangggal 10 januari 2009)

Gritter, R.J., J.M Bobbit, and A.E Schwarting, 1985, *Introduction to Cromatography*, Holden Day, Inc. Okland. H.

Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia. Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan.* Edisi kedua. Penerbit ITB Bandung..

Harborne J.B. 1988. Introduction to Eccological Biochemistry. 3rd ed. Academic Press. London. 356p.

Harborne J.B. 1989. Recent advances in chemistry ecology. Nat prod. Reports 6:85-109

Harborne J.B. 1990. Role of secondary metabolites in chemical defence mechanism in plants, pp 126-139. *In* D.J Chawick and J. Mars Wiley, Chichester. 242p.

Harbone, J B**.** 2006. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan* . Terjemahan oleh Kosasih Padmawinata K. dan Soediro I., edisi 4. Bandung : Institut Tekhnologi Bandung

Hassall. K.A.1969. World crop protection vol 2 . lliffe Books Ltd., London 250 pp.

Hassan S. A. 1998. Defining the problem: Introduction. In: Haskell PT, McEwen P, editor. Ecotoxicology: Pesticides and Beneficial Organisms. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. P 55-68

Honda H. 1994. Aplication of ecochemical from higher plants for insect pest control. Chem Reg plants 29:1120-1129 (*in Japanese*).

Jombo. G.T.A and Enenebeaku. 2008. Antibacterial profile of fermented seed extracts of *Ricinus communis*; findings from apreliminary analisis. Nigerian Journal of physiological sciences 23(1-2):55-59.

Kogan M. 1994. Plant resistance in pest manegement, pp. 73-128. In Metcalf RL and Luckman W.H. (eds), Introduction to Insect Pest Management 3rd edition. John Wiley and Sons. New York. 650p.

Langenheim J.H. 1994. Higher plant terpenoids: a phytocentric overview of their ecological roles. *J. Chem Ecol* 20:1223-1271

Leatemia J.A and M.B Isman. 2004. Toxicity and antifeedant activity of crude seed extracts of *Annona squamosa* (Annonaceae) against Lepidoptera pests and natural enemies. Int J Trop Insect Sci 24:150-158

Lenny, 2006. *Senyawa Flavonoida, Venilpropanoida, dan Alkaloida*. http://library.usu.ac.id/download/fmipa/06003489.pdf (diakses tanggal 23 februari 2011)

Lombok, Z.L. 2001. *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Anti Makan Larva Epilachna sparsa Dari Akar Milletia sericea*. *Eugenia*. Volume 7, No. 3. Media Publikasi Ilmu Pertanian.Hlm 190-200.

Makun. H.A.,S.T Anjorin ., L.A Anederan, M.M Onakpa,and H.L Mohamad., 2008. Antifungal Activities of Jatropha curcas And *Ricinus communis* Seed on Fusarium verticiliades And Aspergilus flavus. Departement of Biochemkistry, Faculty of Siences, Vederal University of Technology Minna. Niger State, Nigeria.

Manik S.M. 2003. Repelen beberapa ekstrak tanaman terhadap *Periplaneta americana* L. (Dictyoptera: Blattidae). Skripsi. Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Faperta, IPB. Bogor.

Mangindaan, R.E.P., 2005. Aktivitas Antifidan dari Ekstrak Sponge Terhadap Larva Hama Kubis *Plutella xylostella*. *Eugenia*. Volume 4. Hlm 299-301 Media Pulikasi Ilmu Pertanian.Volume 4. Hlm 299-301.

Marlina, N.M Surdia, C.L Radiman, dan Ahmad,. 2004. Pengaruh Variasi konsentrasi asam sulfat pada proses Hidroksilasi Minyak Jarak (*Castrol oil*). Jurnal MIPA Vol. 9 No. 2 Juni 2004.

Martono, .2004. *Plasma Nutfah Insektisida Nabati*. http://www.plasma-nutfah-insektisida-nabati-2-pdf. (diakses 5 februari 2011).

Matsumura F. 1985. Toxicology of Insecticides. 2nd ed. New York: Plenum Press.

Mayanti, T., 2006. *Senyawa Antifidan Dari Biji Kokossan (Lansium Domesticum Corr Var. Kokossan), Hubungan Struktur Kimia Dengan Aktivitas Antifidan (Tahap I)*. Pdf Laporan Penelitian. http://www.jurnalkimia.com (diakses tanggal 5 februari 2011)

Mitchell B.K and J.F Sutcliffe. 1984. Sensory inhibition as a mechanism of feeding deterrence: effects of three alkaloids on leaf beetle feeding. *Phys Entomol* 9:57-64

Muralkrishana, R.S, K.C Citra, D. Gunesekhar, and R.P. Kamezwara, 1990. Antifeedant Properties of Certain plant extracts againt Second Strage larvae of Henosepilachna vigintioc topunclata Fab. Indian Journal of Entomology 52 (4): 681-685.

Nurhasyim. 1990. Pengaruh ekstrak temu hitam (*Curcuma aeuginosa* Roxb.) . terhadap aktivitas makan dan perkembangan Crockidolomia binotalis Zeller (Lepidoptera: Pyralidae). Skripsi. Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Faperta, IPB. Bogor.

Plantamor, 2008 http://www.plantamor.com/index.php?album jarak_kepyar (diakses 28 Januari 2011)

Perry A.S, I. Yamamoto , Ishaaya I and R.Y Perry . 1997. Insecticides in Agriculture and Env Entomol, Retrospects and Prospect. Springer. Berlin. 261p

Prijono, D. dan Pudjianto. 2008. Pengembangan formulasi insektisida nabati yang dibakukan berbasis daun kacang babi (*Tephrosia vogelii* Hook. F., Leguminosae) dan buah kemukus (*Piper cubeba* L.f., Piperaceae) (Laporan Research Grant Program B). Bogor: Departemen Proteksi Tanaman IPB.

Prijono D, P. Simanjuntak, B.W Nugroho, Sudarmo and S. Puspitasari. 2001. Insecticidal activity of extracts of Aglaia spp. (Meliaceae) against the cabage cluster caterpillar, *Crocidolomia binotalis* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae). *J Perlind Tan Indon* 7: 70-78.

Prijono D, J.I Sudiar and Irmayetri. 2006. Insecticidal activity of Indonesian plant extracs against the cabbage head caterpillar, *Crocidolomia pavonana* (F.) (Lepidoptera: Pyralidae). J ISSAAS 12 (1): 25-34

Priyanto. 2009. Toksikologi., Mekanisme, Terapi Antidotum, dan Penilaian Resiko.., Lembaga Studi dan Konsultasi Farmakologi Indonesia (LESKONFI). Jakarta.

Purnomo. 1991. *Pengaruh sublaten NPV terhadap biologi Spodoptera litura* F. (Lepidoptera; Nuctuidae). Jurnal Litbang. Pertanian **2**: 34-40.

Qiu YT, J.A Van Loon and P. Roessingh. 1998. Chemoreception of oviposition inhibiting terpenoids in the diamondback moth *Plutella Xylostella.entomol Exp App* 87:143-155

Ramos-Lopez, M.A, S. Perez, G.C. Rodriques Hernandez, .2010. Activity Of *Ricinus Communis* (Euphorbiaceae) Against *Spodoptera Frugiperda* (Lepidoptera : Noctuidae). Pdf. African Journal of Biotechnology Vol. 9(9), pp. 1359-1365, 1 March, 2010. Diaskes tanggal 16 februari 2011. http://www.mendeley.com/research/activity-*ricinus-communis*-euphorbiaceae-against-spodoptera-frugiperda-lepidoptera-noctuidae

Riyadi, A., 2008. Identifikasi Senyawa Aktif Tanaman Kamandrah (*Croton tiglium*) dan Biji Jarak Pagar (*Jatropha curcas*) Sebagai Larvasida Nabati Vektor Demam Berdarah.

Robinson T. 1980. The Organic Constituents of Higher Plants. 4th edition. Cardus Press. North Amherst, MA.

Robinson T. 1991., *The Organic constituents of higher plant*,. Departemen of Biochemistry University of Massachusetts. Diterjemahkan oleh, Kosasisih Padmawinata, Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi. Edisi keenam Penerbit ITB. Bandung.

Rompas, R.M.R., 2010. Toksikologi Kelautan. Sekretariat Dewan Kelautan Indonesia. Ged. Mina Bahari II. Kementrian Kelautan dan Perikanan. Jakarta.

Rumthe, R.Y. 2007., *Pengujian Bioaktivitas Ekstrak Bunga Cengkeh* (*Eugenia aromatic*) Terhadap Mortalitas Spodoptera litura (FAB) Lepidoptera: Noctuidea). Journal Eugenia. Volume 13 No. 2 Hl. 160-172.

Sampietro D.A, C. A Catalan, and M.A Vattuone, 2009. Isolation, Identification and Characterization of Allelochemicals/Natural Products. Science Publishers, Enfield, NH USA.

Sani, U.M. 2009. *Isolation of 1,2-benzenedicarboxylic acid bis(2-ethylhexyl) ester from methanol extract of the variety minor seeds of Ricinus communis Linn. (euphorbiaceae)*. http://www.pdfchaser.com (diakses 23 Januari 2011)

Sardjoko, P. 1987, *Kumpulan materi kursus singkat kromatografi*, PAU- Bioteknologi Universitas Gadjah Mada, Yokyakarta, 38-41

Sastrosiswojo, S dan W. Setiawati. 1993. *Hama-hama Kubis dan Pengendaliannya*. Dalam: Permadi A.H dan Sastrosiswojo (eds). Kubis. Balai Penelitian Hortikultura. Lembang. Hal 39-50

Schmutterer, H. and Koch., 1997. *Properties and potential of natural pesticides from neem tree, Azadirachta indica*. Ann. Rev. Entomol. 35: 271-291

Schmutterer H. 1997. Side-effect of neem (Azadirachta indica) products on insect pathogens and natural enemies of spider mites and insects. J. Appl Entomol 121:121-128.

Schmutterer H. 1990. Properties and potential of Natural products from the neem tree, Azadirachta indica. Ann Rev Entomol 35:271-297

Schoonhoven L.M. 1982. Biological aspects of antifidans. Entomol Exp App 31 : 57-69.

Schoonhoven L.M. 1986. Perception of antifeedant by lepidopterous larvae, pp. 129-132. *In* R. Greenhalgh and Roberts T.R (eds.) Pesticide Science and Biotechnology. 6 th IUPAC Congress of Pesticide Chemistry Blackwell Scientific, London. 604.

Schoonhoven L.M, T. Jermy and J.J.A Van Loon. 1998. Insect Plant Biology: from physiology to evolution. Chapman & Hall. London. 409p.

Scott I. M, H.R ansen, B. J. R. Philogene and J.T Arnason, 2008. A review of *Piper* spp. (Piperaceae) phytochemistry, insecticidal acttivity and mode of action. Phytochem Rev 7: 65-75.

Sharma A. and R. Gupta. 2009. *Biological Activity of Some Plants extracts against Pieres Brassicae* (Linn.). *Journal of Biopesticides*,2(1): 26-31.

Sembel, D. T., D., D.S Tarore.. Kandowangko dan J. Watung 2001. Program *Pengendalian Hama Tanaman Dalam Upaya Pengembangan Tanaman Kentang di Sulawesi Utara*. Kerja Sama Dinas Pertanian Tanaman.

Shcriner , R.J., and R.C Fuson,. 1980, *The systematic Identification of Organic Compounds*, John Wiley and Sons, Inc, Toronto. H

Silverstein, R.M., G. Bessler and T. C. Morril, 1999. Spectroscopic, Identification of Organic Compound" fifth ed, John Wiley and Sons.

Silverstein R. M and F. X Webster. 1998 Spectrometric Identification of Organic Compounds. 6th edition. John Wiley and Sons, New York.

Silverstein, Bassler, and Morrill. (1984). *Penyidikan Spektrometrik Senyawa Organik*. Jakarta ; Erlangga.

Simmonds M. S and W.M Blaney. 1984. Some neurophysiological effects of azadirachtin on lepidopterous larvae and their responses, pp. 163-179. In Schumetterer H & Ascher KRS (eds.) Natural Pesticides from the Neem Tree and Other Tropical Plants. Procedings of 2nd Int. Neem Conf. GTZ. Germany. 587p.

Simon P.B., Benyamin, R. Gordon, K. Cristina., Bagas., B. Milir, Simone Rochfort and David J. Bourne 2009. Cultivar Determination of *Ricinus comunis* via the Metabolisme: a Proof of Consept Investigation. Australian Government. Departement of Defrence Defece Science and Technology Organisation.

Sinaga, E. (2005). *Ricinus communis* Linn. *Jarak*. (Online). Tersedia: http://iptek.apjii.or.id/artikel/ttg_tanaman_obat/unas/Jarak.pdf (12 Februari 2005)

Sinaga, E. 2009. *Ricinus communis Linn.* Pdf Laporan Penelitian. Diaskes tanggal 8 desember 2010. www.bpi.da.gov.ph/Publications/mp/pdf/t/tangan-tangan.pdf

Singh. K. P. Sharma, K.L Land Singh, 1987. Evaluation of Antifeedant and repellent qualities of Various neem (*Azadirachta indica*) formulation against *Pieris brassica* Linn. Larvae on cabbage and Cauliflower. *Research and Development Reporter*. 4 (1):76-78.

Sitorus. S, H. Ibrahim, Nurdin, and D. Darwis., 2009. Transformation of Ricinoleic of Castor Oil In to Lindeic (Omega 6) and Conyugated Linoleic Acid by Dehidration.

Susilowati. 2008. Isolasi dan identifikasi senyawa Karotenoid dari cabai merah (*capsicum annuum* linn.) http://www.jurnalkimia.com (diakses tanggal 2 Juli 2011)

Sriningsih, S. 2008. *Analisa Senyawa Golongan Flavonoid Herba Tempuyung* (*Sonchusarvensis*L):www.indomedia.com/intisari/1999/juni/tempuyung.htm. (diakses tanggal 30 Januari 2011)

Subarnas, A., K. Sidik, Muchtadi dan S.A Sumiwi, 1997. *Isolasi dan Identifikasi Senyawa aktif Analgetik dari akar Pakis Tangkur (Polupodium feei MRTT*), Laporan penelitian, Direktorat Pembinaan dan Pengabdian Masyarakat Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan dan Kebudayaan,Bandung.

Subiyakto S. 2005., *Pestisida Nabati. Pembuatan dan Pemanfaatannya. Cara praktis pembuatan pestisida nabati aman dan ramah lingkungan dengan teknik pengujian sederhana.* Kanisisus. Yogyakarta.

Subiyakto, D. A Sunarto, dan Sujak. 2008a. *Teknologi sederhana pemanfaatan pestisida nabati.* Makalah disampaikan pada Diklat Fungsional Pemandu Terapan Teknologi Pembanguan Pengendalian Hayati bagi Pegawai di Lingkungan Pemerintah Provinsi dan Kabupaten se Jawa Timur. Surabaya 12-18 Oktober 2008. 25 hlm.

Sukma, Panji. 2000. *Pestisida Nabati*. http://panjisoekma.blogspot.com/. (diakses 28 januari 2011)
Susilowati. 2008. Isolasi dan identifikasi senyawa Karotenoid dari cabai merah (*capsicum annuum* linn.) http://www.jurnalkimia.com (diakses 2 Juli 2011)
Sule, M.I and U. M Sani., 2008., Isolation of Ricinus From, Metanol Extraks of Tree Differen Seed of Thee Vrietas Rinunud of Ricinus Comminus Linn.

Supratman U. 2008. Elusidasi Struktur Senyawa Organik. Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Padjadjaran Bandung. Edisi 4. Bandung.

Swain T. 1977. Secondary compounds as protective agents. *Ann Rev Plant Phys* 28:479-501

Tabashnik B. E. 1985. Deterence of diamondback moth (Lepidoptera:Plutellidae) oviposition by plant compounds. Env Ento mol 14: 575-578.

Tarumingkeng, R.C. 1992. Insektisida., Sifat, mekanisme kerja dan dampak penggunaannya. Universitas Kristen Krida Wacana. Jakarta.

Touchstone, C. Dobbins, and F. Murrell, 1983, *Ptactice of Thin Layer Chromatography* 2nd Edition, John Wiley and Sons, Inc. New York. H

Torres, M., Gil, S., and Parra, M., 2005. New Synthetic methods of2-pyridone rings. Current Organic Chemistry. 9(17):1757-1779.

Tulung. M; C. Rante, dan K. F Lala, 2004. *Bioaktivitas Ekstrak Biji Melia azedarach* Sebagai Insektisida Terhadap Larva *Spodoptera exigua* Pada Tanaman Bawang Daun. *Eugenia*. Volume 14 No. 4. Media Publikasi Ilmu Pertanian. Fakultas Pertanian Universitas Sam Ratulangi Manado. Hlm 453-460.

Vina, J. 2010. *Isolasi dan karakterisasi senyawa Turunan Terpenoid Dari Fraksi n-Heksan Momordica Charantia L.* http://www.veypdf.com (diakses tanggal 7 Mey 2011)

Vogel"s, 1989, Textbook of Practical Organic Chemistry**,** fourth edition, Longman Group, London.

Widodo, Wahyu dan Sumarsih, Sri. 2011. Seri Budi Daya Jarak Kepyar, Tanaman Penghasil Minyak Kastrol Untuk Berbagai Industri. Buku PDF. Diakses tanggal 4 Juli 2011. http://bookgoogle.co.id/books?id=M0fmrpllJGwC&pg=PA21 &lpg=PA21&dq=BIP-NTB.

Wiyantono. 1998. Bioaktivitas ekstrak binji Aglaia harmsiana Perkins (Meliaceae) terhadap *Crocidolomia binotalis* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae). Thesis. Program Pascasarjana, IPB Bogor.

LAMPIRAN-LAMPIRAN

LAMPIRAN 1. AKTIVITAS EKSTRAK DAN FRAKSINAT DAUN DAN BIJI JARAK KEPYAR R. communis)

1. **Preparasi sampel**

(a) (b)

Gambar 1. Kegiatan pengambilan sampel (a) biji (b) daun jarak kepyar

(a) (b)

Gambar 2. Kegiatan pengeringan sampel: (a) Biji (b) daun jarak kepyar

(a) (b)

Gambar 3. Proses Penghalusan sampel: (a) Biji jarak kepyar (b) Daun Jarak

Keterangan :

Gambar 1. (a) Pengambilan Sampel Biji (b) Pengambilan Sampel Daun

Gambar 2. (a) Pengeringan Sampel Biji (b) Pengeringan Sampel Daun

Gambar 3. (a) Penghalusan Sampel Biji (b) Penghalusanm Sampel Daun

2. Ekstraksi dan Fraksinasi Sampel

Gambar 4. Proses Maserasi

Gambar 5. Penyaringan

Gambar 6. Evaporasi Sampel I Daun

Gambar 7. Evaporasi Lanjutan

(a)

(b)

(c)

Gambar 8. Proses Partisi dan Fraksinasi ak metanol oleh pelarut n-heksan dan etil asetat

Keterangan: Gambar 4 Proses Maserasi Gambar 5. Penyaringan

Gambar 6. Evaporasi Sampel I Daun Gambar 7. Evaporasi Lanjut

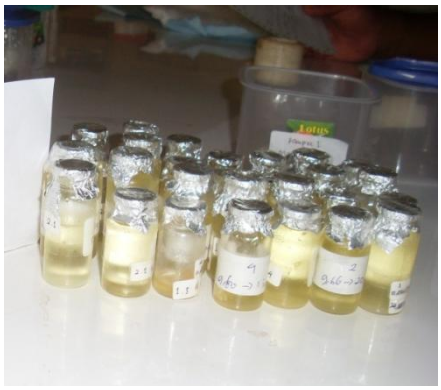
Gambar 8. Prose partisi dan Fraksinas

(a) Fraksi. Etil asetat,

(b) Fraksi N-Heksan dan (c) Fraksi Metanol

Gambar 9. Ekstrak Metanol

Gambar 10. Ekstrak kental etil asetat



Gambar 11. Ekstrak kental Biji

Gambar 12. Kristal Isolat

Keterangan :

Gambar 9. Hasil Ekstrak Metanol

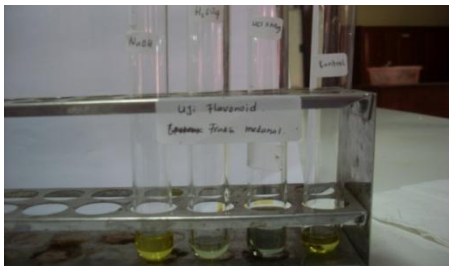
Gambar 10 Hasil Ekstrak Kental Etil Asetat

Gambar 11. Hasil Ekstrak Kasar Biji

Gambar 12. Kristal Hasil Isolasi Biji

LAMPIRAN 2 AKTIVITAS UJI FITOKIMIA

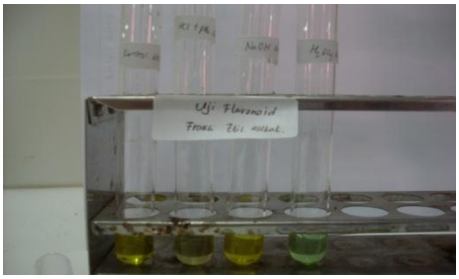
(a)



(b)

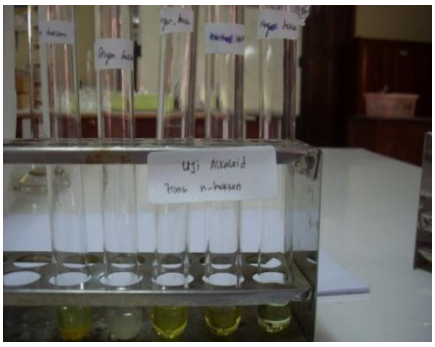
Gambar 13. Uji Alkaloid fr. methanol Gambar 14. Uji Flavonoid fr. methanol

(c)



(d)

Gambar 15. Uji Alkaloid fraksi etil asetat Gambar 16. Uji Flavonoid fraksi etil asetat



(e)

(f)

Gambar 17. Uji Alkaloid fraksi n-heksan Gambar 18. Uji Flavonoid fraksi n-heksan

Keterangan:

Gambar 13. Uji Alkaloid Fr. Metanol 14. Uji Flavonoid Fr. Etil asetat

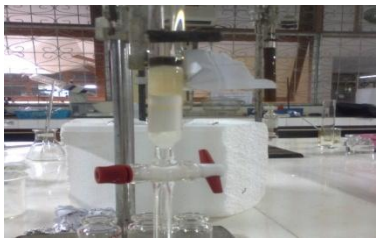
Gambar 15. Uji Alkaloid Fr. Etil asetat 16. Uji Flavonoid Fr. Etil asetat

Gambar 17. Uji Alkaloid Fr. N-Heksan 18. Uji Flavonoid Fr. N-Heksan

LAMPIRAN 3. ISOLASI DAN PEMURNIAN FRAKSI DAUN DAN BIJI JARAK KEPYAR

Kromatografi Kolom dan KLT BIJI

Gbr. 19. Kromatografi Kolom I



Gbr.20. Kromatografi Kolom II

Gambar 21. Partisi Ekstrak Biji

Gambar 22. KLT Ekstrak Biji

Gambar 23. Fraksi Hasil Kromatografi Kolom

Gambar 24.. Kristal Isolat

Keterangan:

Gambar 19. Proses Kromatografi Klom I

Gambar 20. Proses Kromatografi Kolom II

Gambar 21. Partisi Ekstraksi Biji

Gambar 22. Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Biji

Gambar 23. Fraksi Hasil Kromatografi Kolom

Gambar 24. Kristal Isolat biji.

LAMPIRAN 4. AKTIVITAS UJI ANTIFIDAN DAN EFEK MORTALITAS

a. Fraksi Metanol.

(a)

(b)

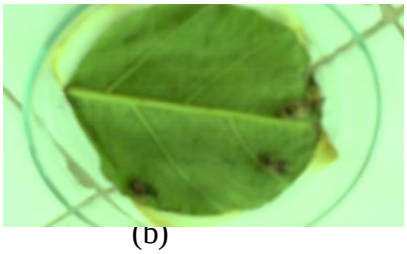
(c)

(d)

Gambar 25. Uji aktivitas antifidan fraksi metanol terhadap serangga pada:
(a). 1 %; (b). 2,5 %; (c). 5 %; (d). 10 %

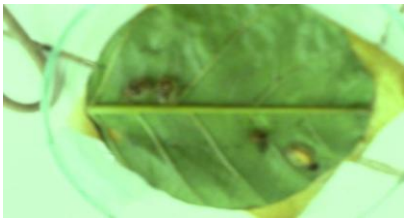
b. Fraksi Etil Asetat

(a)



(b)

(c)

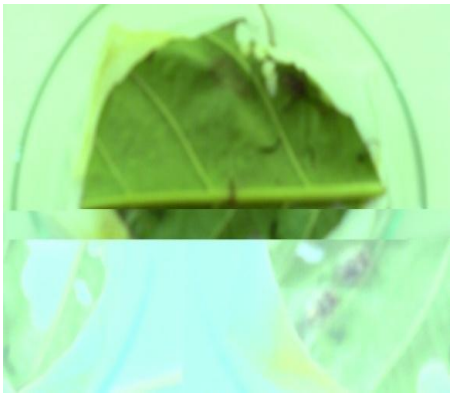


(d)

Gambar 26. Uji aktivitas antifidan fraksi etil asetat terhadap serangga pada:
(a). 1 %; (b). 2,5 %; (c). 5 %; (d). 10 %

Keterangan: . Gambar 25 Uji Aktivitas Antifidan Fraksi Metanol
Gambar 26 Uji Aktivitas Antifidan Fraksi Etil asetat

c. Fraksi n-heksan



(a)

(b)

(c)

(d)

Gambar 27. Uji aktivitas antifidan fraksi *n*-heksan terhadap serangga pada: (a). 1 %; (b). 2,5 %; (c). 5 %; (d). 10 %

Gamabar 28. Pengujian Antifidan Lanjutan

Keterangan:

Gambar 27. Uji Aktivitas antifidan Fraksi n-Heksan

Gambar 28. Proses Pengujian antifidan.

Gambar 29. a.*Epilachna varivestis* Dewasa Gambar 29. b. Larva *Epilachna v.*

a. Dewasa b. Pupa c. Larva d. Telur

Gambar 30. *Epilachna varivestis* Pradewasa dan Dewasa (Whitney Cranshaw)

Keterangan:

Gambar 29 a. Epilachna varivestis dewasa

Gambar 29 b. Epilachna variuvestis Larva

Gambar 30 E. varivestis Pradewasa dan Dewasa

LAMPIRAN 5. LAHAN PENELITIAN UNTUK INANG

Epilachna varivestis

Gambar 31. Kedelai

Gambar 32. Kacang Tanah

Gambar 33. Kacang Lima

Gambar 34. Ketimun

Gbr 35. Bawang

Gbr 36. Pagar Kangkung

Gambar 37. Sangkar Untuk Memelihara Serangga Uji

Keterangan:

Gambar 31. Tanaman Kedelai untuk inang *E. varivestis*
Gambar 32 Tanaman Kacang Tanah Inang *E. varivestis*
Gambar 33 Tanaman Kacang Lima Sebagai inang *E. varivestis*
Gambar 34 Tanaman Ketemun
Gambar 35. Tanaman Pagar Kangkung
Gambar 36. Tanaman Pagar Kangkung

LAMPIRAN 6. DATA ANALISIS ANTIFIDAN FRAKSI-FRAKSI DAUN DAN BIJI JARAK KEPYAR

Tabel 7. Data Uji Hayati Fraksinat (Daun Jarak) pada *Epilachna varivestis* M

Perlakuan	Konsentrasi (%)	Berat rata-rata daun yang dikonsumsi (gr)	Nilai Penghambatan (FR) (%)
Fraksi Metanol	0	0,71	0
	0,01	0,55	23
	1	0,55	23
	2,5	0,54	24
	5	0,29	61
	10	0,24	67
Fraksi Etil asetat	0	0,84	0
	0,01	0,57	33
	1	0,48	43
	2,5	0,42	51
	5	0,42	51
	10	0,32	62
Fraksi n-Heksan	0	0,68	0
	0,01	0,60	12
	1	0,40	41
	2,5	0,31	54
	5	0,31	54
	10	0,23	66

Tabel 8. Data Uji Hayati Fraksinat (Biji jarak) pada *Epilachna varivestis* M

Perlakuan	Konsentrasi (%)	Berat rata-rata daun yang dikonsumsi (gr)	Nilai Penghambatan (FR) (%)
Fraksi Metanol	0	0,75	0
	0,01	0,49	35
	1	0,42	45
	2,5	0,38	51
	5	0,26	65
	10	0,27	64
Fraksi Etil asetat	0	0,74	0
	0,01	0,47	36
	1	0,44	41
	2,5	0,37	50
	5	0,30	59
	10	0,31	58
Fraksi n-Heksan	0	0,73	0
	0,01	0,47	36
	1	0,41	44
	2,5	0,36	50
	5	0,30	58
	10	0,34	53

Tabel 9.. Data Uji Hayati Isolat Aktif (Daun Jarak) Hasil Kolom I

Perlakuan	Konsentrasi (%)	Berat rata-rata daun yang dikonsumsi (gr)	Nilai Penghambatan (FR) (%)
Isolat	0	0,70	0
Aktif1	0,01	0,52	26
Kolom 1	1	0,45	36
(Daun)	2,5	0,41	41
	5	0,35	50
	10	0,22	68
Isolat	0	0,81	0
Aktif2	0,01	0,61	24
Kolom1	1	0,58	28
(Daun)	2,5	0,55	32
	5	0,42	48
	10	0,40	51
Isolat	0	0,62	0
Aktif3	0,01	0,45	34
Kolom 1	1	0,38	45
(Daun)	2,5	0,33	51
	5	0,36	48
	10	0,33	52

Tabel 10. Data Uji Hayati Isolat Aktif (Biji Jarak) Hasil Kolom I

Perlakuan	Konsentrasi (%)	Berat rata-rata daun yang dikonsumsi (gr)	Nilai Penghambatan (FR) (%)
Isolat	0	0,75	0
Aktif1	0,01	0,55	26
Kolom 1	1	0,53	29
(Biji)	2,5	0,48	36
	5	0,41	45
	10	0,35	53
Isolat	0	0,71	0
Aktif2	0,01	0,51	28
Kolom 1	1	0,45	36
(Biji)	2,5	0,41	42
	5	0,26	63
	10	0,21	70
Isolat	0	0,63	0
Aktif 3	0,01	0,48	24
Kolom 1	1	0,43	32
(Biji)	2,5	0,37	41
	5	0,29	53
	10	0,34	53

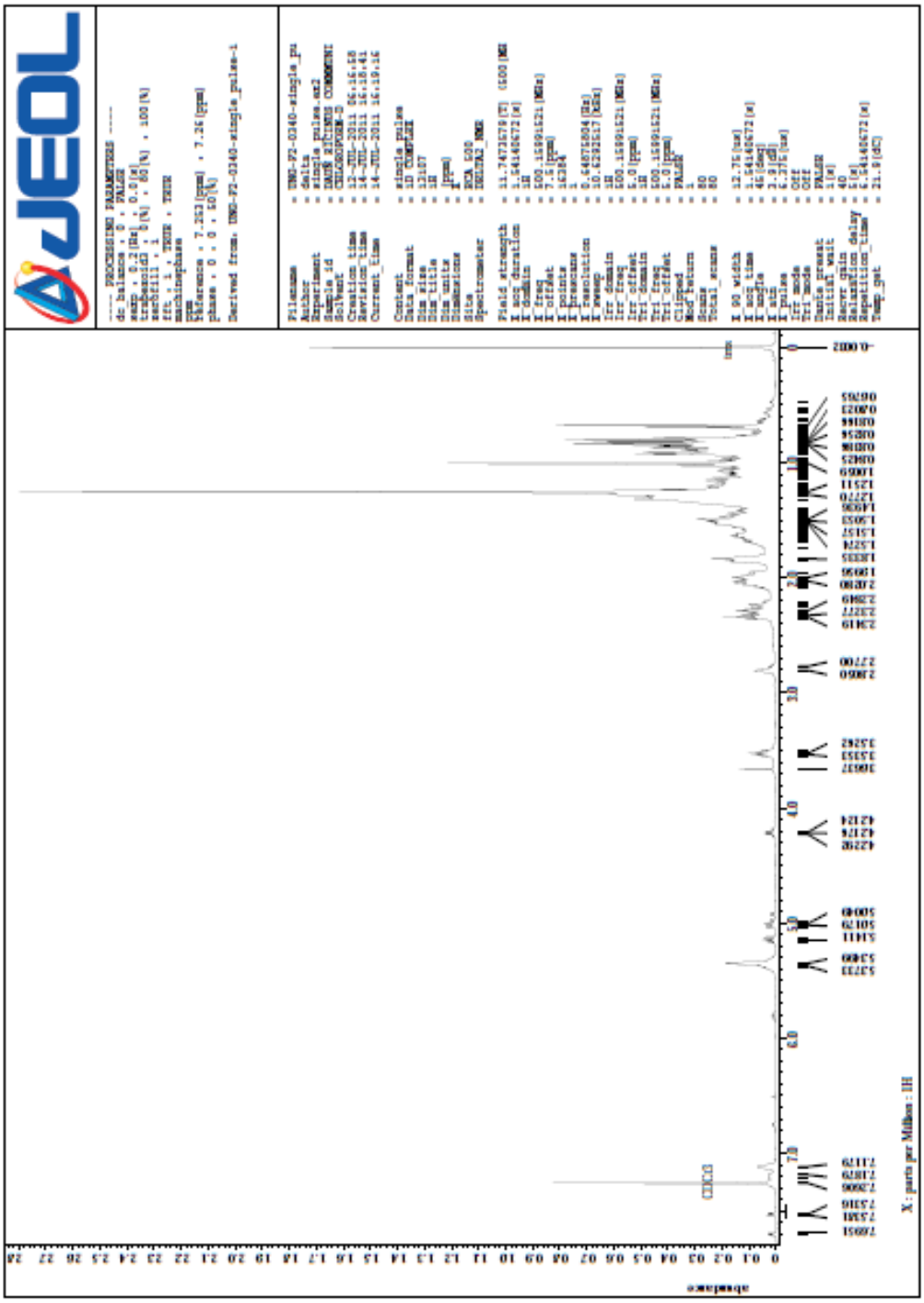
Tabel 11. Data Uji Hayati Isolat Aktif (Daun Jarak) Hasil Kolom2

Perlakuan	Konsentrasi (%)	Berat rata-rata daun yang dikonsumsi (gr)	Nilai Penghambatan (FR) (%)
Isolat	0	0,67	0
Aktif 1	0,01	0,51	30
Kolom 2	1	0,42	38
(Daun)	2,5	0,39	42
	5	0,24	60
	10	0,15	71
Isolat	0	0,83	0
Aktif 2	0,01	0,56	33
Kolom 2	1	0,50	40
(Daun)	2,5	0,48	42
	5	0,41	50
	10	0,39	53

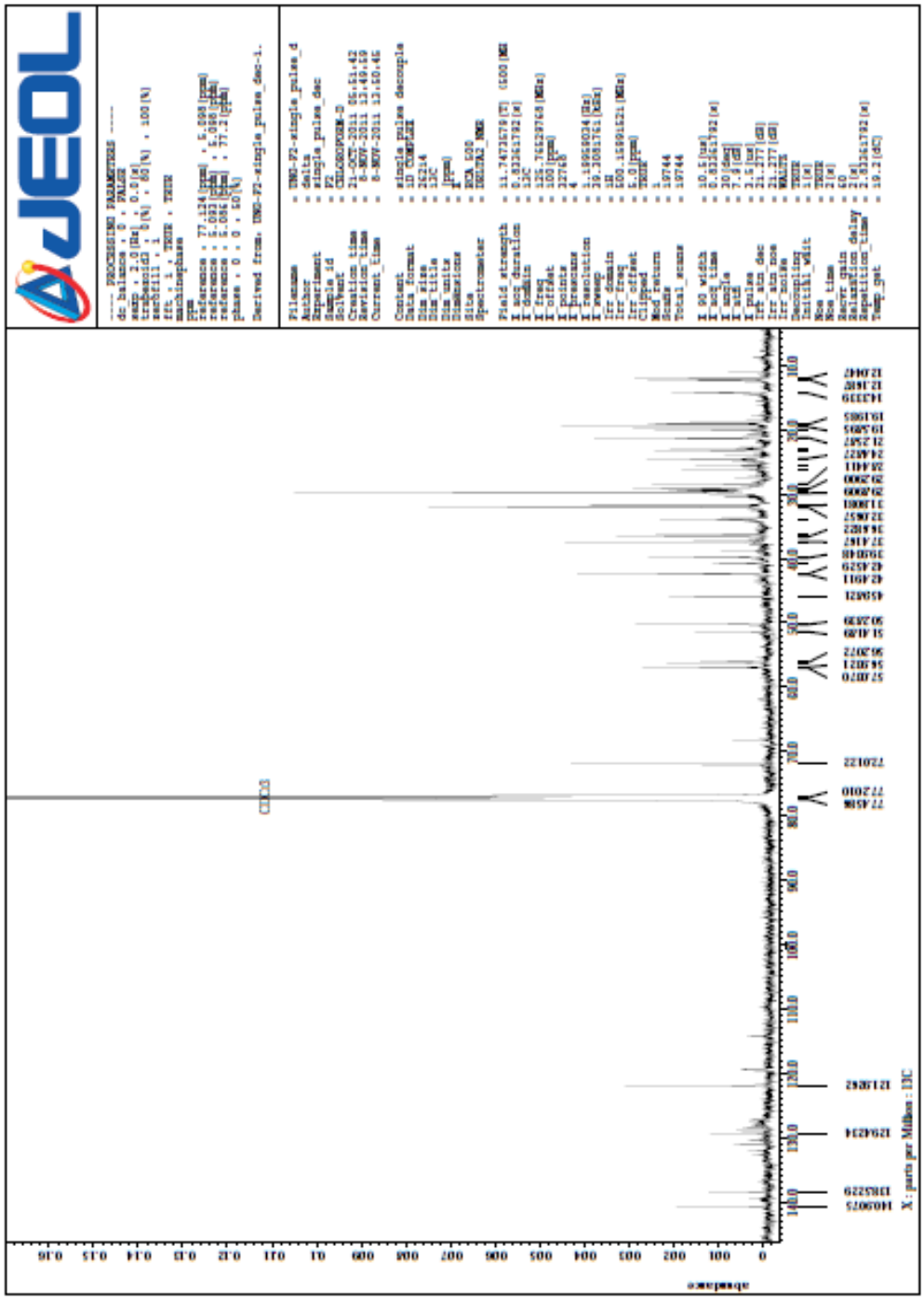
Tabel 12. Data Uji Hayati Isolat Murni Aktif (Biji Jarak) Hasil Kolom2

Perlakuan	Konsentrasi (%)	Berat rata-rata daun yang dikonsumsi (gr)	Nilai Penghambatan (FR) (%)
Isolat	0	0,72	0
Aktif1	0,01	0,50	31
Kolom 2	1	0,47	35
(Biji)	2,5	0,40	44
	5	0,34	53
	10	0,30	58
Isolat	0	0,73	0
Aktif 2	0,01	0,45	38
Kolom 2	1	0,44	40
(Biji)	2,5	0,39	46
	5	0,16	78
	10	0,15	79

LAMPIRAN 7. SPEKTRUM NMR-^{1}H ISOLAT AKTIF DAUN JARAK KEPYAR



Gambar 3. Spektrum RMI-^{1}H isolat dari daun jarak



Gambar 4. Spektrum RMI-^{13}C isolat dari daun jarak