

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA AKTIF EKSTRAK AIRDAUN PAITAN (*Thitonia diversifolia*) SEBAGAI BAHAN INSEKTISIDA BOTANI UNTUK PENGENDALIAN HAMA TUNGAU (*Eriophyidae*)

Muhammad Taofik, Eny Yulianti, Ahmad Barizi, Elok Kamilah Hayati

Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Maulana Malik Ibrahim Malang

ABSTRACT

A study was conducted on the water solvent extraction of Paitan leaves (*Thitonia diversifolia*) with immersion times varied at 24, 48, and 72 hours. The research encompassed toxicity testing of the water extract against Eriophyidae mites. Subsequently, the extract exhibiting the best toxicity underwent phytochemical analysis, Thin-Layer Chromatography (TLC), and High-Performance Liquid Chromatography (HPLC).

TLC employed single solvents, namely ethanol, ethyl acetate, and hexane. Mixed solvents included toluene-chloroform 1:1, hexane-ethyl acetate 4:1, butanol:ethyl acetate:water (6:2:1), ethyl acetate:methanol:water (100:13.5:10), chloroform:methanol (3:1), toluene:ethyl acetate (3:1), butanol:acetic acid:water (4:1:5), ethyl acetate:toluene (3:7), benzene:ethyl acetate (40:60), ethanol:chloroform (9:2), hexane:ethyl acetate (8:2), methanol:ethyl acetate (4:1), ethyl acetate:methanol (7:3), hexane:ethyl acetate (8:2), ethyl acetate:methanol (9:1), chloroform:hexane (6:5).

Research findings indicated that the water extract of Paitan leaves possessed high toxicity against Eriophyidae mites, as evidenced by an LC50 value of less than 1000 ppm. The respective LC50 values for each treatment were 3.9163 ppm, 3.1784 ppm, and 2.2922 ppm, with the highest bioactivity observed at 2,2922 ppm, corresponding to the 72-hour treatment. This suggests that Paitan (*Thitonia diversifolia*) has the potential to serve as a highly economical and environmentally friendly botanical insecticide.

Phytochemical analysis revealed the presence of flavonoid, alkaloid, and tannin compound groups. TLC results across all solvent variations, whether single or mixed, did not yield satisfactory separation. HPLC chromatography displayed 11 peaks, with only 4 well-separated peaks at retention times of 9.55 minutes, 10.86 minutes, 12.16 minutes, and 17.36 minutes.

Key words: *Paitan leaves, Thitonia diversifolia, botanical insecticide, Eriophyidae mites, HPLC*

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang ekstraksi pelarut air daun paitan (*Thitonia diversifolia*) dengan variasi waktu perendaman 24, 48 dan 72 jam, uji toksisitas ekstrak air daun paitan terhadap hama tungau *Eriophyidae*, setelah didapatkan ekstrak yang memiliki toksisitas terbaik, dilanjutkan dengan uji fitokimia, analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT) serta analisis Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) atau disebut juga HPLC (*High-Performance Liquid Chromatography*). KLT menggunakan pelarut tunggal yaitu etanol, etil asetat, dan heksana. Pelarut campuran yaitu toluena-kloroform 1:1, heksana-etil asetat 4:1, butanol:etil asetat:air (6:2:1), etil asetat : metano l: air (100:13,5:10), kloroform:metanol (3:1), toluena : etil asetat (3:1), butanol:asam asetat:air (4:1:5), etil asetat:toluena (3:7), benzen:etil asetat (40:60), etanol:kloroform (9:2), heksana:etil asetat (8:2), metanol:etil asetat (4:1), etil asetat : metanol (7:3), heksana : etil asetat (8:2), etil asetat : metanol (9:1), kloroform : heksana (6:5).

Hasil penelitian menunjukkan ekstrak air daun paitan (*Thitonia diversifolia*) memiliki tingkat toksisitas yang tinggi terhadap hama tungau *Eriophyidae*, yang ditunjukkan dengan nilai LC50 kurang dari 1000 ppm. Nilai LC50 masing-masing perlakuan adalah 3,9163 ppm, 3,1784 ppm dan 2,2922 ppm, sehingga yang memiliki bioaktivitas tertinggi terhadap hama tungau *Eriophyidae* adalah 2,2922 ppm, yaitu pada perlakuan selama 72 jam. Hal ini bahwa tumbuhan paitan (*Thitonia diversifolia*) berpotensi sebagai bahan insektisida botani yang sangat ekonomis dan ramah lingkungan.

Hasil uji fitokimia menunjukkan adanya golongan senyawa flavonoid, alkaloid dan tanin. Hasil KLT pada semua variasi pelarut, baik dengan pelarut tunggal maupun campuran tidak menghasilkan pemisahan yang baik. Hasil kromatografi HPLC menunjukkan 11 puncak, dengan pemisahan senyawa yang baik hanya 4 puncak, yaitu pada waktu tambat 9,55 menit; 10,86 menit; 12,16 menit, dan pada waktu tambat 17,36 menit.

Kata kunci : *Daun Paitan, Thitonia diversifolia, Insektisida botani, Tungau Eriophyidae, uji toksisitas, HPLC*

I. PENDAHULUAN

Negara Indonesia adalah negara yang hijau dan sangat subur, beranekaragam hayati yang ada didalamnya. Hutan, gunung yang luas dan banyak sekali menjadikan Negara Indonesia mempunyai kekayaan alam yang berlimpah. Berbagai macam jenis tumbuhan masih banyak dijumpai diberbagai wilayah Indonesia, seperti di daerah Pulau Jawa, Kalimantan, dan Sumatera. Latar belakang Negara Indonesia yang mendukung ini dan dengan kondisi tanah yang sangat subur menyebabkan Indonesia berpotensi untuk melestarikan dan membudidayakan berbagai jenis tanaman dan tumbuhan untuk dimanfaatkan diberbagai bidang. Tumbuhan dan tanaman yang terdapat di bumi tidak terlepas oleh adanya air sebagai sumber utama setiap makhluk hidup.

Kerusakan yang terjadi selama ini disebabkan oleh ulah manusia sendiri, dengan contoh penggunaan bahan-bahan kimia yang berbahaya sebagai penanggulangan hama pada tanaman. Penerapan di bidang pertanian ternyata tidak semua insektisida mengenai sasaran. Kurang lebih hanya 20 persen pestisida mengenai sasaran, sedangkan 80 persen lainnya jatuh ke tanah. Akumulasi residu insektisida tersebut mengakibatkan pencemaran lahan pertanian, apabila masuk ke dalam rantai makanan, sifat beracun bahan pestisida dapat menimbulkan berbagai penyakit seperti kanker, mutasi, bayi lahir cacat, CAIDS (*Chemically Acquired Deficieacy Syndrom*), dan sebagainya (Sa'id, 1994).

II. LANDASAN TEORI

Penyemprotan dan pengaplikasian dari bahan-bahan kimia pertanian selalu berdampingan dengan masalah pencemaran lingkungan sejak bahan-bahan kimia tersebut dipergunakan di lingkungan (Uehara, 1993). Dalam penelitian ini tanaman Paitan (*Thitonia diversifolia*) dimanfaatkan sebagai insektisida botani

menggunakan metode maserasi atau perendaman dengan pelarut air. Pelarut air dipilih karena murah dan mudah serta tidak toksik, sehingga diharapkan petani mudah menerapkannya. Ekstraksi maserasi merupakan perlakuan dilaboratorium yang mendukung untuk dilanjutkan ke petani karena mudah saat diaplikasikan.

Uji toksisitas yang dipilih menggunakan hama jenis tungau *Eriophyidae*. Hama ini berbentuk kecil memanjang, berwarna kuning hingga bening. Hidup pada permukaan bawah daun dan pucuk yang masih muda, yang menyebabkan penebalan pada daun. Pada daun teh, tungau ini membentuk gall (bulatan - bulatan). Di lapangan serangan dapat mencapai 40 % pada musim hujan, sedangkan pada musim kemarau dapat berkembang lebih cepat (Asbani, 2007).

Toksitas atau daya racun pestisida adalah sifat bahan pestisida yang menggambarkan potensi pestisida tersebut dalam menimbulkan kematian langsung pada hewan tingkat tinggi (termasuk manusia). Uji toksisitas suatu bahan dipergunakan untuk mengetahui efek dari bahan beracun pada suatu hewan percobaan. Tingkat toksisitas insektisida ditentukan oleh jumlah insektisida untuk mematikan 50% populasi yang diuji dalam waktu tertentu. Dalam beberapa hal dosis yang tepat untuk serangga tidak dapat ditemukan, oleh karena itu ditentukan LC50 yaitu konsentrasi insektisida dalam media yang dapat membunuh 50% dari populasi hewan coba (Djojsumanto, 2000).

Pada penelitian ini akan dilakukan fraksinasi ekstrak air daun Paitan untuk mencari senyawa aktif yang berpotensi menekan hama tungau *Eriophyidae*. Pemisahan menggunakan metode KLT (Kromatografi Lapis Tipis) dan KCKT (Kromatografi Kinerja Tingkat Tinggi) atau disebut juga HPLC (High-Performance Liquid Chromatography). KLT analitik dilakukan dengan pencarian eluen terbaik dari berbagai variasi eluen, dari mulai eluen tunggal sampai eluen campuran, dari polar-semi polar-non polar.

Uji fitokimia ini dilakukan untuk mencari senyawa golongan alkaloid, flavonoid, triterpenoid, steroid, dan tanin. HPLC dengan prinsip kromatografi adsorpsi banyak digunakan pada industri farmasi dan pestisida. Zat-zat dengan kepolaran berbeda, yaitu antara sedikit polar sampai polar dapat dipisahkan dengan HPLC berdasarkan partisi cair-cair. Luas puncak kromatografi pada kurva elusi dipengaruhi oleh tiga proses perpindahan massa yaitu difusi Eddy, difusi longitudinal dan transfer massa tidak setimbang, sedangkan parameter-parameter yang menentukan proses berlangsungnya proses-proses tersebut adalah : laju aliran, ukuran partikel, laju difusi dan ketebalan stasioner.

III. METODE PENELITIAN

3.1 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah pisau, gunting, pipet tetes, mikroskop, pipet ukur, botol kaca, blender, tabung/toples plastik, sendok plastik, mortar marmer, mortar besi, lampu, petridish, spray halus, mikroskop, lampu, vaccum, pipet volum, botol plastik, bola hisap, erlenmeyer, corong glass, seperangkat alat KLT tabung reaksi, beaker glass, corong pisah, rotary evaporator, sentrifuge, timbangan analitik (Mettler AE 25), seperangkat alat HPLC merk Konik 500B.

3.2 Bahan Penelitian

Bahan sampel daun Paitan (*Thitonia diversifolia*) diambil dari Perkebunan BALITTAS Karang Ploso, Kabupaten Malang. Bahan-bahan kimia yang digunakan adalah aquades, silika gel GF254, pelet KBR, etil asetat (p.a), kloroform (p.a), toluena (p.a), heksana (p.a), etanol (p.a), reagen dragendroff, reagen meyer, HCl pekat (dan 2%), methanol 50%, Mg, kloroform, asam asetat anhidrat, H₂SO₄ pekat dan kertas whatman 51.

3.3 Cara Kerja

1. Preparasi Sampel Daun Paitan

Sampel dari tanaman Paitan yang

digunakan dalam penelitian ini adalah dari Daun Paitan (*Thitonia diversifolia*) yang diambil dari kebun Balai Penelitian Tanaman Tembakau dan Serat (BALITTAS) Karang Ploso, Malang. Daun paitan dipetik dari urutan ke-3 sampai ke-7 dari ujung atas tangkai. Sebanyak 1 kg kemudian dipotong kecil-kecil, setelah itu dimasukkan ke dalam mortar besi untuk digerus dan ditumbuk-tumbuk. Perlakuan ini bertujuan untuk memperluas permukaan sehingga memudahkan dalam ekstraksi maserasi nanti. Sampel yang diperoleh berwarna hijau dan lembek-basah.

2. Ekstraksi Maserasi

Daun paitan yang sudah dihaluskan dimasukkan ke dalam toples plastik yang berdiameter sekitar 8,5 cm², ditambahkan pelarut air sebanyak 1 liter. Perbandingan untuk melakukan maserasi ini 1:2, yaitu 500g untuk sampel daun paitan dan 1 L untuk pelarut air. Dilakukan varisi lama perendaman yaitu 24, 48, dan 72 jam pada temperatur kamar yang terlindung dari cahaya. Dikocok sesekali dan ditutup rapat (Tukimin, 2002). Ekstrak air yang didapat, dipakai untuk uji toksisitas terhadap hama tungau.

3. Uji Toksisitas Terhadap Hama Tungau *Eriophyidae*

Sebelum dilakukan perlakuan, dipersiapkan terlebih dahulu petridish sejumlah tiga kali perlakuan, dihitung populasi hama di dalam daun jarak yang setelah itu di masukkan kedalam petridish, kemudian dilakukan penyemprotan ke petridish yang berisi hama tungau.

Perlakuan menggunakan 2 variasi yaitu cairan pertama mengandung campuran ekstrak paitan dan air, dan cairan ke-dua hanya air sebagai kontrol. Pelaksanaan penyemprotan dilakukan pada daun jarak pagar yang terserang hama tungau *Eriophyidae*. Tungau tersebut disemprot dengan alat sprayer untuk memperoleh sebaran titik pestisida yang merata. Parameter pengamatan meliputi mortalitas tungau, waktu pengamatan

dilakukan setiap hari (tiap 24 jam). Setelah didapatkan perlakuan terbaik, fitrat terbaik diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* hingga didapatkan ekstrak pekat. Hasil dari ekstrak pekat tersebut diuji fitokimia, KLT dan HPLC.

4. Uji Fitokimia

4.1 Alkaloid

Ekstrak pekat terbaik sebesar 0,5 g ditambahkan 0,5 mL HCl 2 %. Larutan dibagi dalam 2 tabung. Tabung 1 ditambahkan 2-3 tetes reagen Dragendorff, tabung 2 ditambahkan 2-3 tetes reagen Mayer, jika tabung 1 terbentuk endapan jingga dan pada tabung 2 terbentuk endapan putih menunjukkan adanya alkaloid.

4.2 Flavonoid

Ekstrak pekat Daun Paitan 0,5 g ditambahkan 1-2 mL HCl 37 % dan sedikit serbuk Mg. Dikocok, apabila timbul warna merah muda, maka ekstrak positif mengandung flavonoid.

4.3 Steroid dan Triterpenoid

Ekstrak pekat Daun Paitan dimasukkan dalam tabung reaksi, dilarutkan dalam 0,5 mL kloroform lalu ditambah dengan 0,5 mL asam asetat anhidrat. Campuran ini selanjutnya ditambah dengan 1-2 tetes mL H₂SO₄ pekat melalui dinding tabung tersebut. Jika hasil yang diperoleh berupa cincin kecoklatan/violet pada perbatasan dua pelarut menunjukkan adanya triterpenoid, sedangkan jika terbentuk warna hijau kebiruan menunjukkan adanya steroid.

4.4 Tanin

Uji dengan FeCl₃

Ekstrak tanaman daun paitan ditambahkan dengan 2-3 tetes larutan FeCl₃ 1%. Jika larutan menghasilkan warna hijau kehitaman atau biru tua, maka bahan tersebut mengandung tanin.

Uji dengan Larutan Gelatin

Ekstrak tanaman daun paitan dimasukkan dalam tabung reaksi ditambah dengan larutan gelatin. Jika terbentuk endapan putih, menunjukkan adanya tanin.

Uji Tanin Katekol dan Tanin Galat

Ekstrak tanaman daun paitan

ditambahkan dengan larutan formaldehid 3%: asam klorida pekat (2:1) dan dipanaskan dalam air panas dengan suhu 90° C. Jika terbentuk endapan merah, menunjukkan adanya tanin katekol. Filtrat ditunjukkan dengan Na-asetat dan ditambahkan larutan FeCl₃ 1%. Jika terbentuk warna biru tinta/hitam, menunjukkan adanya tanin galat.

5. Uji Kualitatif dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Pemisahan isolat dengan menggunakan Plat Silika Gel GF254 dengan ukuran 1x10 cm², dengan cara ekstrak pekat ditotolkan (10-15 totalan) pada jarak 1 cm ditepi bawah plat KLT analitik menggunakan pipa kapiler, kemudian dianginkan dan dielusi sampai jarak 8cm dalam chamber yang berdiameter 6 cm, serta dilakukan pengembangan dengan pelarut tunggal dan campuran, yaitu;

Eluen Tunggal, eluen tunggal menggunakan etanol, etil asetat, dan heksana.

Eluen Campuran, pelarut campuran eluennya adalah campuran dari; toluena-kloroform 1:1 (Obafemi, et.al, 2006), heksana-etil asetat = 4:1 (Sulistijowati dan Gunawan, 2001), butanol : etil asetat : air (6:2:1), etil asetat : metanol : air (100:13,5:10), kloroform : metanol (3:1), toluena:etil asetat (3:1), butanol:asam asetat:air (4:1:5), etil asetat : toluena (3:7), benzen : etil asetat (40:60), etanol:kloroform (9:2), heksana:etil asetat (8:2), metanol:etil asetat (4:1), etil asetat:metanol (7:3), heksana : etil asetat (8:2), etil asetat:metanol (9:1), kloroform:heksana (6:5). Plat hasil elusi dikeringkan, dan diamati dengan lampu UV pada panjang gelombang 254 dan 366 nm, selanjutnya plat diuapkan dalam amoniak. Hasil ini kemudian dianalisa dengan cara melihat jumlah spot dan pemisahan spot yang dihasilkan.

6. Analisis menggunakan HPLC

Ekstrak pekat sampel daun paitan diidentifikasi menggunakan HPLC. Ekstrak pekat dilarutkan kedalam aquades,

dilakukan fitrasi selanjutnya sampel disuntikan dengan memakai suntikan mikro melalui septum elastomer. Identifikasi dengan HPLC ini, memakai merk dari KONIK B 500, detektor UV-VIS 280 nm dengan memakai sistem gradien yaitu pada 3 menit awal memakai fase gerak metanol:air (10:90) dan pada sampai ke menit 20 memakai fase gerak metanol:air (90:10), dengan kolom Rp 18, flow 1 ml/menit.

ANALISIS DATA

Analisis data pada penelitian ini dilakukan dengan cara mendiskripsikan data- data yang diperoleh dalam bentuk tabel dan hasil kromatografi cair kinerja tinggi untuk mengetahui kandungan daun paitan. Analisis ini berdasarkan atas uji fitokimia, uji toksisitas, dan untuk analisa data dari uji LC50 menggunakan analisis probit pada program MINITAB 14 dengan tingkat kepercayaan 95% dan Kromatogram HPLC dilakukan dengan memperhatikan pola dan puncak serapan spektrum dari sampel.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Ekstraksi Maserasi

Maserasi Daun Paitan menggunakan pelarut air memungkinkan untuk menarik senyawa dari dalam bahan agar dapat larut dalam air. Pelarut air akan masuk ke dalam sel melewati dinding sel. Isi sel akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam sel dengan di luar sel. Larutan yang konsentrasinya tinggi akan terdesak keluar dan digantikan oleh pelarut air dengan konsentrasi rendah (proses difusi). Peristiwa tersebut berulang sampai terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel. Selama proses maserasi dilakukan pengadukan dan pengocokan sesekali.

Metode ekstraksi maserasi ini mengacu pada percobaan yang pernah dilakukan oleh pihak BALITTAS dan uji langsung pemakaian ke petani. Endapan yang diperoleh dipisahkan dengan kain

kasa putih, Ekstrak yang dihasilkan berwarna hijau tua. Warna hijau tua pada ekstrak daun paitan tersebut disebabkan oleh banyaknya klorofil.

4.2 Uji Toksisitas Ekstrak Air Daun Paitan Terhadap Hama Tungau *Eriophyidae*

Uji toksisitas ini dilakukan dengan dua perlakuan yaitu menggunakan larutan daun paitan, perbandingan 1:2 (fitrat daun paitan pekat:air), dan air saja sebagai kontrol. Uji toksisitas dilakukan pada fitrat yang dihasilkan dari 3 variasi lama perendaman.

Berdasarkan kurva mortalitas Hama Tungau *Eriophyidae* diperoleh nilai LC50 sebesar 3,1784 ppm, 3,9163 ppm dan 2,2922 ppm yang dapat dilihat dari nilai mediannya. Hasil LC₅₀ ketiga perlakuan tersebut menunjukkan bahwa tingkat toksisitas senyawa dalam perlakuan selama 24, 48 dan 72 jam. Makin lama waktu perendaman, maka tosisitas meningkat. Toksisitas tertinggi diperoleh pada 72 jam.

4.3 Karakterisasi Metabolit Sekunder

a. Pemisahan Pelarut dengan *Vacum Evaporator*

Vacum dalam *rotary evaporator* berfungsi untuk mempermudah proses penguapan pelarut dengan memperkecil tekanan dalam vacum, sehingga pelarut dapat menguap di bawah titik didihnya. Filtrat yang diperoleh berwarna hitam pekat. Warna hitam pekat terbentuk karena pelarut yang digunakan tidak hanya mengekstrak satu senyawa saja, melainkan juga mengekstrak senyawa-senyawa lainnya yang ada dalam tumbuhan tersebut yang memiliki sifat polar, karena pelarutnya adalah air yang bersifat polar.

b. Uji Fitokimia Alkaloid

Uji kualitatif alkaloid dilakukan dengan menggunakan reagen dragendorff dan mayer. Reagen dragendorff akan menghasilkan endapan berwarna jingga,

sedangkan reagen Mayer akan menghasilkan endapan berwarna putih kekuning-kuningan. Pada sampel dihasilkan positif alkaloid

Uji Flavonoid

Uji flavonoid dilakukan dengan penambahan magnesium dan asam klorida pekat. Reaksi antara magnesium dengan asam klorida pekat menghasilkan warna merah muda, membentuk senyawa kompleks. Pada sampel dihasilkan positif flavonoid

Steroid dan Triterpenoid

Hasil untuk triterpenoid adalah negatif, karena yang diperoleh tidak adanya cincin yang berwarna kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut, karena triterpenoid tersusun dari rantai panjang hidrokarbon C₃₀ yang menyebabkan sifatnya non-polar sehingga sulit terekstrak dalam pelarut air (polar). Steroid tersusun dari isopren-isopren dari rantai panjang hidrokarbon yang menyebabkan sifatnya non-polar, dan ini menyebabkan sulitnya terekstrak dalam pelarut polar (air). Uji steroid ini juga menunjukkan hasil negatif karena tidak terbentuk warna hijau kebiruan.

Tanin

Sebagaimana senyawa fenol lainnya, tanin menghasilkan warna hijau kebiruan dengan besi (III) klorida. Terjadinya pembentukan warna ini disebabkan karena terbentuknya senyawa kompleks antara logam Fe dan tanin. Senyawa kompleks terbentuk karena adanya ikatan kovalen koordinasi antara ion/atom logam dengan atom non-logam.

Pengujian tanin tidak hanya dengan FeCl₃ 1% tetapi juga dengan menambahkan larutan gelatin yaitu akan terbentuk endapan putih. Jika tidak terbentuk endapan putih pada pengujian dengan gelatin maka hanya mengandung senyawa polifenol, tetapi bukan senyawa tanin.

Gelatin mengandung protein

sehingga terbentuk senyawa tanin-protein, dikarenakan adanya ikatan hidrogen antara tanin dan protein pada gelatin sehingga dapat terbentuk endapan putih (Lemmens dan Soetjipto, 1991). Ikatan hidrogen terjadi apabila atom H terikat oleh dua atom lain atau lebih (pada umumnya hanya dua atom) yang memiliki keelektronegatifan tinggi seperti atom N, O dan F. Atom hidrogen dari gugus hidroksil pada tanin membentuk ikatan hidrogen dengan atom O dan atom N pada struktur gelatin.

c. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Ekstrak air daun paitan yang didapat dari hasil *rotary evaporator* diambil dan dipisahkan dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Plat yang digunakan sebelumnya dioven dengan tujuan untuk menghilangkan kadar air yang ada pada plat tersebut.

Semua hasil kromatografi lapis tipis dengan variasi eluan, baik eluen tunggal maupun eluen campuran, menunjukkan bahwa sampel yang ditotolkan pada plat tidak menunjukkan pemisahan yang sempurna.

Penyebab yang memungkinkan tidak nampaknya noda pemisahan pada plat hasil kromatografi lapis tipis ini adalah, sampel yang digunakan dalam kromatografi lapis tipis ini, merupakan ekstrak air yang mengandung sangat banyak jenis senyawa sehingga kesulitan untuk dipisahkan.

Berikut hasil uji fitokimia pada ekstrak pekat

Uji Fitokimia	Hasil
Alkaloid	++
Flavonoid	+++
Steroid/Triterpenoid	-
Tanin	+

d. High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

Penelitian ini menggunakan panjang gelombang 280 nm, karena mendekati panjang gelombang maksimum sehingga akan memberikan kondisi

analisis yang baik (bebas dari gangguan pelarut), tetapi intensitas serapan menjadi lebih lemah yang mengakibatkan berkurangnya kepekaan.

Hasil spektra dari Kromatografi HPLC menunjukkan terdapat 11 puncak. Hasil puncak kromatogram HPLC ini, tidak semuanya merupakan suatu senyawa yang dapat dipisahkan. Eluen yang dipakai pada menit pertama sampai menit ke tiga memakai eluen metanol:air (10:90) menunjukkan tidak menghasilkan puncak,

Menit selanjutnya, yaitu pada menit ke tiga sampai menit ke 20 menunjukkan hasil bahwa sampel ekstrak air daun paitan tersebut dapat dipisahkan, ini dapat diketahui dari munculnya beberapa puncak pada spektra hasil HPLC.

Pemisahan ekstrak air daun paitan ini menggunakan sistem gradien, dengan memakai kolom nonpolar, karena ekstrak air daun paitan mempunyai sifat polar, maka digunakanlah eluen yang bersifat polar yaitu, metanol:air (90:10) dengan harapan komponen-komponen akan terpisah baik dan mempunyai nilai yang kuat pada hasil kromatogram.

Beberapa puncak diduga adalah senyawa-senyawa yang bersifat polar, dan hal ini diuji fitokimia yang menunjukkan positif mengandung flavonoid, alkaloid, dantanin. Ke tiga senyawa itu merupakan sifat polar.

V. KESIMPULAN

Uji fitokimia dari ekstrak air daun paitan adalah positif mengandung flavonoid, alkaloid, tanin dan negatif mengandung steroid, triterpenoid.

Uji toksisitas dari ekstrak air Daun Paitan (*Thitonia diversifolia*) terhadap Hama Tungau *Eriophyidae* adalah, pada perlakuan selama 48 jam < 24 jam < 72 jam, yaitu dengan nilai LC₅₀ 3, 9163 ppm, 3,1784 ppm, 2,2922 ppm.

Hasil kromatografi HPLC menunjukkan 11 puncak, tetapi yang diperkirakan pemisahan senyawa yang baik ditunjukkan 4 puncak, yaitu pada waktu tambat 9,55 menit, 10,86 menit,

12,16 menit, dan pada waktu tambat 17,36 menit, yang diperkirakan 4 senyawa itu adalah senyawa golongan flavonoid, alkaloid, dan tanin.

VI. DAFTAR PUSTAKA

- Anonymous. 2008. *Tithonia diversifolia*. <http://www.iptek.net>. 3-149[1], Diakses tanggal 25 Maret 2008.
- Ari. 2010. *Penelitian Laboratorium (Praktikum)*. Tidak diterbitkan. Malang: Universitas Muhammadiyah.
- Arsyad. 2001. *Kamus Kimia Arti dan Penjelasan Istilah*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Asbani, N. 2007. *Infotek Jarak Pagar* http://www.perkebunan.litbang.deptan.go.id/archives/infotek_JP.Vol1n.p.5.2006.pdf, Diakses tanggal 30 November 2007.
- Benson, L. 1963. *Plant Classification*. Boston: D. C. Heath and company.
- Clark, J. 2007. *High Performance Kromatografi Cair HPLC*.
- Daintith, J. 1994. *Kamus Lengkap Kimia*. Jakarta: Erlangga.
- Darwis, D. 2000. *Teknik Dasar Laboratorium Dalam Penelitian Senyawa Bahan Alam Hayati*, Workshop Pengembangan Sumber Daya Manusia Dalam Bidang Kimia Organik Bahan Alam Hayati. Padang: FMIPA Universitas Andalas Padang.
- Day, J.R.R.A. dan Underwood, A. 2002. *Analisis Kimia Kuantitatif*, edisi ke enam. Jakarta: Erlangga.
- Djojosumanto. 2000. *Teknik Aplikasi Pestisida Pertanian*. Kanisius: Yogyakarta.
- Dzulkarnain, B. 1996. *Tanaman Obat Bersifat Antibakteri di Indonesia*. Jakarta: Cermin Dunia Kedokteran.
- Hadi. 1996. *Pengaruh Ekstrak Bunga dan Daun Paitan (Tithonia diversifolia Grey) Terhadap Sifat Anti Makan dan Indeks Nutrisi Larva Instar Heliothis armigera Hubner*

- (*Lepidoptera: Noctuidae*).
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia: Penentuan Cara Modern menganalisis Tumbuhan*, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata. Bandung: ITB.
- Hoesien, M. 1995. *Prospek Insektisida Nabati Untuk Penanggulangan Resistensi Hama, "Risalah Seminar Regional Resistensi Serangga Terhadap Insektisida dan Upaya Penanggulangannya"*. Malang: Perhimpunan Entomologi Indonesia Cabang Malang. hlm. 97-103.
- Hukmah, S. 2008. *Aktivitas Antioksidan Katekin dari Teh Hijau (Camellia sinensis) Hasil Ekstraksi Dengan Variasi Pelarut dan Suhu*. Skripsi Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maliki Malang.
- Jamal, Y. dan Agusta, A. 1995. *Komponen Kimia Dan Uji Daya Antibakteri Ekstrak Daun Kirinyu (Tithonia diversifolia)*. Bogor : Laboratorium Treub, Puslitbang Biologi LIPI,
- .Khopkar, S.M. 2003. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta : Universitas Indonesia (UI Press).
- Lenny, S. 2006. Skripsi; *Isolat dan Uji Bioaktifitas Kandungan Kimia Utama Puding Merah dengan Metode Uji Brine Shrimp*. Sumatera: Universitas Sumatra Utara.
- Utama. Markom, M. 2009. *Penyaringan Bahan Fitokimia Pada Tanaman Ekor Kucing (Cabomba furcata) Sebagai Sumber Allelopatik*. Bandung: Disampaikan dalam Seminar Nasional Teknik Kimia Indonesia (SNTKI).
- Morallo, B. dan Rejesus. 1984. *Botanical Insecticides Against the Diamondback Moth*. Department of Entomology, College of Agriculture, University of the Philippines at Los Banos, College, Laguna, Philippines.
- Moronkola, D.C. Ogunwande, I.A. Walker, T.M. Setzer, W.N dan Oyewole, I.O. 2006. *Identification of The Main Volatile Compounds in The Leaf and Flower of Tithonia diversifolia (Hemsl) Grey*. Journal of Natural Medicines. Japan: The Japanese Society of Pharmacognosy and Springer-Verlag.
- Murson, J.W. 1991. *Analisis Farmasi Metode Modern*. Surabaya: Erlangga.
- Obafemi, C.A. Sulaimon, T.O. Akinpelu, D.A. dan Olugbade, T.A. 2006. *Antimicrobial Activity of Extracts And a Germacranolide-type Sesquiterpene Lactone From Thitonia diversifolia Leaf Extract*. African Journal of Biotechnology vol. 5 (12), pp. 1254-1258.
- Oka, I.N. 1994. *Penggunaan, Permasalahan Serta Prospek Pestisida Nabati Dalam Pengendalian Hama Terpadu, "Prosiding Seminar Hasil Penelitian Dalam Rangka Pemanfaatan Pestisida Nabati*. Bogor: Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat. hlm.1-9.
- Painter, R.H. 1951. *Insect Resistance in Crop Plants*. New York: The Mac Milan Company, 520pp.
- Poedjiadi, A. dan Supriyanti, F.M.T. 1994. *Dasar-Dasar Biokimia*. Jakarta: UI Press.
- Prakash, A. dan Jagadiswari. 1997. *Botanical Pesticidies In Agriculture*. India: Lewis Publishers. hlm. 226-227.
- Prarifitriya, R. 2006. *Uji Kerja Bersama (Joint Action) Ekstrak Daun Johar (Cossiana siamea) dan Paitan (Tithonia diversifolia) Serta Potensi Daya Racunya Dibandingkan Dengan Insektisida Piretroid Terhadap Ulat Kubis (Plutella xylostella)*. Skripsi Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan

- Hama Dan Penyakit Tanaman
Fakultas Pertanian Universitas
Brawijaya.
- Puspita, D.C. 2007. *Makalah Kromatografi, HPLC, GC, Elektroforesis*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Sanata Dharma.
- Rejessus, dan Morello, B. 1983. *Botanical Insecticides Against The Diamondback Moth*. Los Banos: Department of Entomology, College of Agricultur, University of The Philippines.
- Samsudin, H. 2008. *Resistensi Tanaman Terhadap Serangga Hama*. Artikel Departemen Pertanian, tanggal 11 November 2008.
- Sa'id, E.G. 1994. *Dampak Negatif Pestisida, sebuah catatan bagi kita semua*. Agrotek, Vol. 2(1). Hal, 71-72. IPB: Bogor.
- Sastrohamidjojo, H. 1995. *Sintesis Bahan Alam*. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Silverstien, R.M. 1991. *Spectrometric of Organic Compounds*, edisi ke-5. Jhon willey & Sons
- Stahl, E. 1985. *Analisis Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopi*. Bandung: ITB. Sudjadi, Drs. 1986. *Metode Pemisahan*. Yogyakarta: UGM-Press.
- Sulistijowati, A dan Gunawan, D. 2001. *Efek Ekstrak Daun Kembang Bulan (Tithonia diversifolia A. Gray) terhadap Candida albicans serta Profil Kromatografinya*. Yogyakarta : Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. hlm. 32-36.
- Sumarno. 1992. *Pemuliaan Untuk Ketahanan Terhadap Hama*. *Proseding symposium Pemuliaan Tanaman*. Perhimpunan Pemuliaan Tanaman Indonesia, Komisariat Daerah Jawa Timur.
- Soebagio, Drs. 2003. *Kimia Analitik II*. Malang: Universitas Negeri Malang-Press. Taketa, A.T.C.
- Eberhard, B. and Eloir P.S. 2004. *Triterpenes and triterpenoidal glycosides from the fruits of Ilexparaguariensis (Maté)*. Journal of the Brazilian Chemical Society Print version ISSN 0103-5053 J. Braz. Chem. Soc. vol.15 no.2
- Tarumingkeng, R.C. 2001. *Pestisida dan Penggunaanya*. Bogor : Institut Pertanian Bogor.
- Teetes, G.L. 1996. *Plant Resistance to Insects*.
- Ton, S.W. 1991. *Environmental Considerations With Use of Pesticides in agriculture*. Paper pada Lustrum Ke-VIII Fakultas pertanian USU, Medan.
- Uehara, K. 1996. *The Present State of Plant Protection in Japan-Safety Countermeasures for Agriculture Chemicals*, Japan Pesticide Information, NO. 61. Japan Plant Protection Association, Tokyo: Japan, pp 3-6.
- Untari, S. 2004. *Penyamakan Kulit Kelinci dengan Teknologi Tepat guna sebagai Bahan Kerajinan Kulit dan Sepatu dalam Menunjang Agribisnis Ternak Kelinci*. Yogyakarta: Balai Besar Kulit, Karet dan Plastik, Jl. Sokonandi No. 9.