

## UJI FITOKIMIA DAN UJI TOKSISITAS EKSTRAK DAUN GAMAL (*Gliricidia sepium*) SEBAGAI INSEKTISIDA NABATI

### THE PHYTOCHEMICAL TEST AND TOXICITY TEST LEAVES GAMAL (*Gliricidia sepium*) EXTRACT AS A BOTANICAL INSECTICIDE

Ajeng Kartini\*, Daniel Tarigandan Chairul Saleh

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Mulawarman, Samarinda

\*Corresponding Author : [ajengkartini170@gmail.com](mailto:ajengkartini170@gmail.com)

Submit : 08 Maret 2017 Accepted : 06 November 2017

#### ABSTRACT

Research on phytochemical test and toxicity tests of leaf extract of *Gliricidia sepium* as an insecticide plant have been conducted. *Gliricidia* leaves macerated dried samples using ethanol and fractionated using a solvent n-hexane and ethyl acetate. Phytochemical test showed that it contains alkaloids, steroids, triterpenoids, phenolic and flavonoid in total extract. N-hexane fraction containing steroids, triterpenoids and the phenolic. Ethyl acetate fraction containing steroids, triterpenoids, flavonoids, phenolic and saponin. Toxicity test method Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) showed that the ethyl acetate fraction had the highest toxicity on shrimp larvae with LC<sub>50</sub> values of 49.29 ppm. Test Activity as an insecticide plant conducted in animal infestation of rice (*Sitophylus oryzae* Leach) Value LC<sub>50</sub> is determined using a regression line between log concentration and probit mortality, the LC<sub>50</sub> obtained is 2.831%. Analysis of the content of chemical compounds in the ethyl acetate fraction from the leaves of *Gliricidia* produces 9 peak component compounds at mass spectra are shown from the results of GC-MS with 2 peaks compound dominant that serves as an insecticide plant them 2-(3H)-Benzofuranone, 3-methyl and dl-Limonene.

**Keywords :** Gamal (*Gliricidia sepium*), Phytochemicals, Toxicity, Botanical Insecticide

#### PENDAHULUAN

Beras merupakan makanan pokok yang dikonsumsi masyarakat Indonesia. Permasalahan utama yang dapat mengakibatkan penurunan kualitas beras dipenyimpanan hasil pertanian yaitu adanya serangan hama. Hama utama yang menyerang beras didalam penyimpanan yaitu kutu beras (*Sitophylus oryzae* Leach). Serangga *Sitophylus oryzae* Leach menyebabkan butiran beras menjadi berlobang kecil-kecil serta mudah pecah sehingga kualitasnya rendah. Dimana hama kutu beras dapat menyerang setiap waktu. Kehadiran hama kutu beras ini perlu dikendalikan dengan tepat, agar kualitas dan kuantitas beras dalam simpanan tidak menurun. Salah satu cara pengendalian yaitu dengan menggunakan bahan tanaman sebagai insektisida nabati [1].

Insektisida nabati berasal dari tanaman yang berupa bahan alami yang memenuhi beberapa kriteria seperti: aman, murah, mudah diterapkan dan efektif membunuh hama. Bahan dari tanaman ini juga mudah terurai (*Biodegradable*) sehingga tidak mencemari

lingkungan dan relatif aman bagi manusia dan ternak karena residunya mudah hilang. Salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai insektisida nabati adalah daun gamal (*Gliricidia sepium*), karena daun dan kulit batang sejak lama sudah dikenal sebagai racun tikus dipusat Amerika dan ekstrak gamal juga bersifat anti jamur [2].

Berdasarkan uraian diatas, maka dilakukan penelitian ini untuk mengetahui tentang senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak total daun gamal (*Gliricidia sepium*), fraksi etanol, fraksi n-Heksan, dan fraksi etil asetat. Kemudian dari hasil tersebut dilakukan uji toksisitas terhadap larva udang dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) untuk mengetahui pada fraksi mana yang paling efektif tingkat toksisitasnya. Ekstrak paling toksik dilanjutkan dengan uji karakterisasi GC-MS untuk mengetahui kandungan kimia pada fraksi yang paling aktif, dan dilakukan pengujian untuk mengetahui efektifitasnya terhadap mortalitas hama Kutu beras (*Sitophylus oryzae* Leach)

dalam kondisi laboratorium sebagai insektisida nabati.

Dari hasil penelitian ini diharapkan ekstrak daun gamal dapat dijadikan salah satu tumbuhan yang berfungsi sebagai insektisida nabati, sehingga akan menambah nilai guna dari tumbuhan tersebut. Sekaligus dapat memecahkan permasalahan dibidang pertanian khususnya pada hasil panen beras.

## METODOLOGI PENELITIAN

### Alat

Adapun alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain Erlenmeyer, corong kaca, gelas kimia, gelas ukur, neraca analitik, seperangkat alat Buchi rotary evaporator, desikator, corong pisah, tabung reaksi, rak tabung reaksi, labu ukur, plat mikro, *Tube Lamp* (TL), pipet tetes, pipet mikro, hot plate, gunting, batang pengaduk, cawan petri, magnetik stirer, spatula, jarum, gelas plastik, , tiang statif, gas kromatografi massa spektrometri (GC-MS).

### Bahan

Adapun bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain daun gamal, etanol, n-heksan, etil asetat, aquades, kloroform amoniak, dietil eter, asam sulfat ( $H_2SO_4$ ),  $CH_3COOH$  glasial, preaksi dragendrof ( $Bi(NO_3)_2 \cdot 5H_2O$ ),  $HNO_3$ ,  $FeCl_3$ , asam klorida, kalium dan serbuk magnesium (Mg), aluminium foil, kertas saring, telur udang (*Artemia salina* Leach), kutu beras dan beras.

## PROSEDUR PENELITIAN

### Persiapan Sampel

Sampel daun gamal yang terkumpul dibersihkan dari kotoran yang menempel dan dikeringanginkan pada suhu ruangan sampai sampel benar-benar kering, sampel yang telah kering dipotong menjadi kecil dan dihaluskan .

### Ekstraksi Senyawa Metabolit Sekunder

Ekstraksi senyawa metabolit sekunder dari sampel kering daun gamal dilakukan dengan cara maserasi. Sampel kering yang telah dihaluskan direndam dalam pelarut etanol selama beberapa hari dalam suhu ruang. Maserasi dilakukan secara berulang-ulang hingga larutan ekstrak tidak berwarna lagi. Ekstrak yang diperoleh kemudian disaring dan diuapkan pelarutnya dengan menggunakan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak total etanol daun gamal.

### Fraksinasi

Ekstrak total etanol daun gamal difraksinasi berdasarkan perbedaan kepolaran pelarut-pelarut organik. Sejumlah ekstrak total daun gamal ditambahkan etanol dan difraksinasi dengan n-heksan didalam corong pisah sehingga diperoleh 2 fraksi yaitu fraksi etanol dan fraksi n-heksan. Dilakukan penambahan n-heksan berulang kali hingga diperoleh fraksi n-heksan yang jernih. Fraksi n-heksan kemudian dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* dan disebut sebagai ekstrak fraksi n-heksan.

Fraksi etanol kemudian difraksinasi dengan penambahan etil asetat. Fraksinasi dilakukan secara berulang hingga diperoleh ekstrak etil asetat yang jernih. Fraksi etil asetat kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dan disebut sebagai fraksi etil asetat.

### Uji Fitokimia

#### Uji Alkaloid

Uji Alkaloid dilakukan dengan preaksi Dragendorff (Kalium tetraiodobismut). Sejumlah ekstrak total dan masing-masing fraksi dilarutkan dengan pelarut yang sesuai. Larutan ekstrak sebanyak 1 mL kemudian ditambahkan dengan 5 tetes asam sulfat 2 N dan didiamkan beberapa saat. Larutan kemudian ditambahkan dengan 3 tetes preaksi dragendorff. Adanya alkaloid ditunjukkan dengan terbentuknya endapan jingga sampai merah coklat pada pereaksi dragendorff [3].

#### Uji Saponin ( Uji Forth)

Sejumlah ekstrak total dan masing-masing fraksi dilarutkan dalam 2 mL aquades kemudian dikocok kuat tabung reaksi, jika timbul busa ditambah 1 tetes HCl pekat. Ekstrak positif mengandung saponin apabila terdapat busa dengan ketinggian 1-3 cm bertahan selama 15 menit [4].

#### Uji Steroid dan Triterpenoid/ Uji Liebermann-burchard

Uji steroid dan triterpenoid dilakukan dengan pereaksi *Lieberman Burchard* (Asam asetat glasial dan asam sulfat pekat 10:1) sejumlah ekstrak total dan masing-masing fraksi dilarutkan dalam pelarut yang sesuai. Larutan ekstrak sebanyak 1 mL ditambahkan dengan 10 tetes asam asetat glasial. Larutan dikocok perlahan dan dibiarkan selama beberapa menit kemudian ditambahkan dengan 2-3 tetes asam sulfat pekat. adanya Steroid memberikan warna biru atau hijau, sedangkan untuk triterpenoid memberikan warna merah atau ungu.

### Uji Flavonoid

Uji Flavonoid dilakukan dengan metode wilstater. Sejumlah ekstrak total dan masing-masing fraksi dilarutkan dengan pelarut yang sesuai. Larutan ekstrak sebanyak 1 mL kemudian ditambahkan sedikit serbuk Mg dan 3 tetes HCL pekat. Uji positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga

### Uji Fenolik

Sejumlah ekstrak total dilarutkan dan masing-masing fraksi dilarutkan dalam pelarut yang sesuai. Larutan ekstrak sebanyak 1 mL ditambahkan dengan 3 tetes FeCl<sub>3</sub> 1% . Ekstrak positif menghasilkan warna hijau , merah, ungu, biru atau hitam pekat.

### Uji toksisitas Larva Udang Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)

Pengujian toksisitas dilakukan terhadap ekstrak n-Heksan, etil asetat dan ekstrak kasar etanol.

### Penetasan telur *Artemia salina* Leach

Sebuah kompartemen yang terdiri dari dua bagian yang dipisahkan dengan sekat berlubang disiapkan untuk pembiakan larva udang. Sebanyak 10 mg telur udang *Artemia salina* Leach ditambahkan 100 mL air laut yang telah disaring dan dimasukkan ke dalam kompartemen yang gelap sedangkan kompartemen lainnya diberi pencahayaan lampu teflon agar menetas sempurna. Setelah 48 jam telur udang menetas dan siap diuji cobakan [5].

### Pembuatan Larutan Sampel 1000 ppm

Sebanyak 1 mg sampel dilarutkan dalam 100 µL DMSO dan diencerkan dengan 900 µL air laut sehingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm.

### Pembuatan Larutan Kontrol

Larutan kontrol dibuat sama dengan prosedur diatas tanpa menggunakan sampel.

### Prosedur Uji Metode Meyer

Sebuah 2 buah plat mikro standar disiapkan masing-masing untuk plat uji dan plat kontrol. Baris I dan II masing-masing 3 kolom dimasukkan 100 µL sampel 1000 ppm pada plat uji dan 100 µL larutan kontrol pada plat kontrol. Larutan baris II pada plat uji diencerkan dengan 100 µL air laut dan diaduk. Kemudian dipipet kembali 100 µL larutan baris II dan dimasukkan kedalam baris III. Larutan baris III diencerkan kembali dengan 100 µL air laut sambil diaduk dan dimasukkan kedalam baris selanjutnya. Seterusnya dilakukan hal yang sama sampai baris terakhir sehingga diperoleh konsentrasi larutan pada masing-masing baris plat uji sebagai

berikut: baris I = 1000 ppm, baris II = 500 ppm, baris III = 250 ppm, baris IV = 125 ppm, baris V = 62,5 ppm, baris VI = 31,2 ppm, baris VII = 15,6 ppm, baris VIII = 7,8 ppm.

Selanjutnya kedalam larutan sampel pada plat uji dan larutan kontrol pada plat kontrol ditambahkan 100 µL air laut yang mengandung 8-15 larva udang dan dibiarkan selama 24 jam. Jumlah larva udang yang mati dan hidup pada setiap baris plat uji dihitung setelah 24 jam dan nilai LC<sub>50</sub> ditentukan dengan uji probit menggunakan SAS (*Statistical Analisis System*).

### Analisis Senyawa Ekstrak Daun Gamal dengan GC-MS

Sampel ekstrak daun gamal fraksi etil asetat dianalisis dengan Kromatografi Gas-spektrometri massa untuk mengetahui kandungan kimia yang terdapat pada sampel.

### Pengujian Ekstrak Daun Gamal terhadap kutu beras (*Sitophylus Oryzae* Leach)

#### Penyiapan Bioindikator

Terlebih dahulu disiapkan kutu beras yang akan digunakan, kutu beras didapatkan dari tempat penyimpanan beras yang sudah berketu kemudian dilakukan pemilihan kutu beras secara visual untuk kutu beras yang diujikan.

#### Uji Mortalitas kutu beras

Ekstrak daun gamal fraksi etil asetat dibuat beberapa konsentrasi yaitu 1,5%, 2%, 2,5% dan 3%. Ditimbang masing-masing beras (makanan kutu beras) seberat ± 25 gram, beras direndam pada masing-masing konsentrasi ekstrak ± 10 menit kemudian dikering anginkan pada suhu ruang. Sebagai kontrol digunakan beras yang tidak diberi ekstrak tetapi hanya diberi aquadest (perlakuan dengan konsentrasi (0%), kemudian beras yang telah mengandung ekstrak tersebut dimasukkan kedalam bejana uji lalu dimasukkan 10 ekor kutu beras. Bejana uji yang telah berisi kutu beras ditutup dengan aluminium lalu ditusuk-tusuk dengan jarum agar udara dapat masuk. Setiap konsentrasi perlakuan dilakukan pengulangan masing-masing tiga kali.

Parameter yang diamati adalah jumlah kutu yang mati selama 72 jam pada masing-masing unit perlakuan dan dihitung jumlah akumulatifnya. Data mortalitas kutu beras selama 72 jam ditulis ke dalam tabel pengamatan, sedangkan hasil isolasi diuraikan secara deskriptif. Nilai dugaan 50% konsentrasi (LC<sub>50</sub>) ditentukan dengan menggunakan persamaan garis

regresi antara log konsentrasi dan probit kematian (probit analisis).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil Ekstraksi

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun gamal (*Gliricidia sepium*). Tumbuhan ini diperoleh dari Handil Kecamatan Muara Jawa, Kabupaten Kutai Kartenegara dan telah dideterminasi di Laboratorium Sistematika dan Anatomi Tumbuhan FMIPA. Adapun berat ekstrak dan masing-masing fraksi disajikan dalam tabel berikut ini:

**Tabel 1.** Ekstrak Hasil Ekstraksi Daun Gamal.

Jenis Ekstrak	Massa (Gram)
Ekstrak kasar Etanol	50,25
Ekstrak Pekat Fraksi <i>n</i> -heksana	7,80
Ekstrak Pekat Fraksi etil asetat	17,54

### Skrining Fitokimia

Berdasarkan hasil uji fitokimia terhadap ekstrak kasar etanol, ekstrak fraksi *n*-heksana dan ekstrak fraksi etil asetat dari daun gamal (*Gliricidia sepium*) terlihat kandungan metabolit sekundernya seperti yang ditunjukkan pada Tabel 2.

**Tabel 2.** Hasil Uji Fitokimia dari Ekstrak Kasar Etanol, Ekstrak Pekat Fraksi *n*-heksana dan Ekstrak Pekat Fraksi Etil Asetat daun gamal (*Gliricidia sepium*)

Jenis Senyawa	Jenis Ekstrak		
	Ekstrak Kasar Etanol	Ekstrak Fraksi <i>n</i> -Heksan	Ekstrak Fraksi Etil Asetat
Alkaloid	+	-	-
Saponin	-	-	+
Steroid	-	+	+
Triterpenoid	+	+	+
Flavonoid	+	-	+
Fenolik	+	+	+

Keterangan :

(+) = mengandung senyawa metabolit sekunder  
(-) = tidak mengandung senyawa metabolit sekunder

### Uji Toksisitas (BSLT)

Berdasarkan perhitungan dengan Analisis probit SAS terhadap ekstrak kasar Etanol, Fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat daun gamal (*Gliricidia sepium*) diperoleh LC<sub>50</sub> (Lethal Concentration 50%), diperlihatkan pada tabel 3.

**Tabel 3.** Nilai LC<sub>50</sub> Uji Mortalitas Larva Udang pada Ekstrak Kasar Etanol, Ekstrak fraksi *n*-heksan dan Ekstrak Fraksi Etil asetat daun gamal (*Gliricidia sepium*).

No	Jenis Ekstrak	LC <sub>50</sub> (ppm)
1	Ekstrak kasar Etanol	61,31
2	Ekstrak Pekat Fraksi <i>n</i> -heksana	66,48
3	Ekstrak Pekat Fraksi etil asetat	49,29

Berdasarkan data diatas menunjukkan bahwa ekstrak fraksi etil asetat memiliki bioaktivitas paling tinggi terhadap larva udang, yang ditunjukkan dengan nilai LC<sub>50</sub> yang paling kecil yaitu 49,29 ppm. Nilai ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi tersebut, ekstrak sampel mampu membunuh larva udang sampai 50 % populasi.

### Analisis GC-MS Fraksi Etil Asetat Daun Gamal

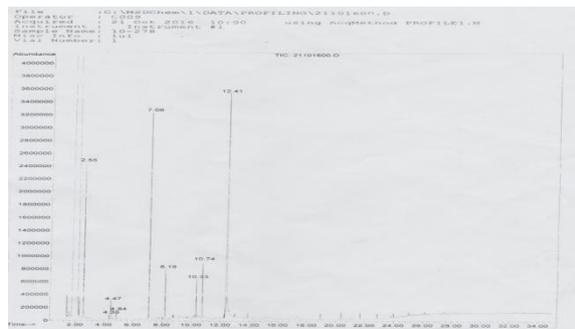
Analisa senyawa pada fraksi etil asetat daun gamal menggunakan GC-MS dilakukan untuk mengetahui komposisi dan berat molekul dari fraksi etil asetat tersebut, diperoleh informasi komponen senyawa kimia pada fraksi etil asetat daun gamal sebanyak 9 senyawa, dari 9 senyawa tersebut terdapat 2 senyawa dominan yang mempunyai aktivitas sebagai Insektisida nabati menurut literatur yaitu 2(3H)-Benzofuranone, 3-metil (CAS) dan dl-limonena dengan masing-masing persen area sebesar 43,035 % dan 16,33% dapat dilihat pada Tabel 4.

**Tabel 4.** Hasil Analisis GC-MS Fraksi Etil Asetat Daun Gamal

Peak	Waktu Retensi	% total	NamaSenyawa
------	---------------	---------	-------------

1	2,550	16,33	Asam propanoat, etil ester (CAS)
2	4,353	0,544	metil laurat
3	4,466	2,629	Xylene
4	4,841	0,897	Benzene, 1,3-dimetil
5	7,079	19,895	dl-limonena
6	8,193	6,028	linalool L
7	10,327	3,819	z-cintral
8	10,745	6,823	z-cintral 2 (3H)
9	12,408	43,035	Benzofuranone, 3 metil (CAS)

Berikut adalah hasil spectra massa analisa GC-MS dari fraksi etil asetat daun gamal (*Gliricidia sepium*)



**Gambar 1.** Spektrum Massa dari fraksi etil asetat daun gamal (*Gliricidia sepium*)

```

Data Path : C:\MSDCHEM\1\DATA\PROFILING\
Data File : 21101600.D
Acq On : 21 Oct 2016 10:00
Operator : COG
Sample : 10-278
Misc :
ALS Vial : 1 Sample Multiplier: 1

Integration Parameters: t:steint.p
Integrator: RTE
Smoothing: OFF
Sampling: 1
Start Thrs: 0.1
Stop Thrs: 0
Filtering: 9
Min Area: 0.8 % of largest Peak
Max Peaks: 100
Peak Location: TOP
If leading or trailing edge < 1 prefer < Baseline drop else tangent >
Peak separation: 1

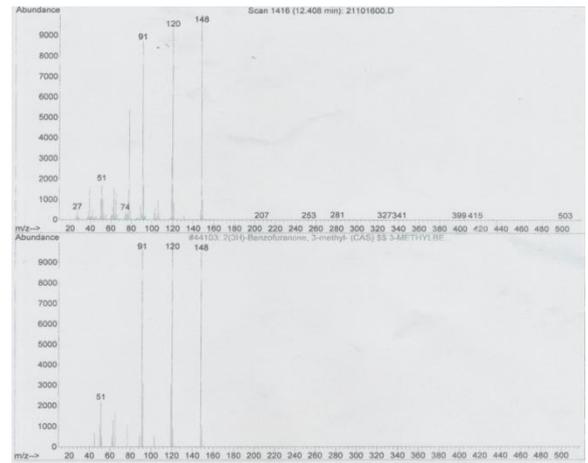
Method : C:\MSDCHEM\1\METHODS\PROFILE1.M
Title :
Signal : TIC

peak # R.T. first scan scan scan scan TY peak height area % of total
1 2.550 280 284 328 rVB2 2431717 4371955 37.95% 16.330%
2 4.353 486 491 500 rBB 70863 148881 1.26% 0.544%
3 4.466 500 504 533 rVB 278519 703958 6.11% 2.629%
4 4.841 543 547 556 rBB 118097 240159 2.08% 0.897%
5 7.079 799 804 808 rBB 3186241 5326430 46.23% 19.895%
6 8.193 927 932 968 rBV 781995 1613751 14.01% 6.028%
7 10.327 1173 1179 1183 rBB 586615 1022452 8.87% 3.819%
8 10.745 1220 1225 1238 rBB 893266 1826528 15.89% 6.823%
9 12.408 1405 1416 1420 rBB 3246590 11521281 100.00% 43.035%

Sum of corrected areas: 26772095
PROFILE1.M Thu Oct 27 10:25:18 2016
    
```

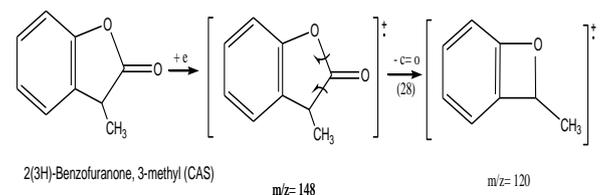
**Gambar 2.** Spektrum Massa dari fraksi etil asetat daun gamal (*Gliricidia sepium*)

Berikut adalah spektra massa 2 (3H)-Benzofuranone, 3-metil- (CAS) yang memiliki waktu retensi sebesar 12.408, presentase sebesar 43,035% memiliki berat molekul 148 dengan rumus  $C_9H_8O_2$ .



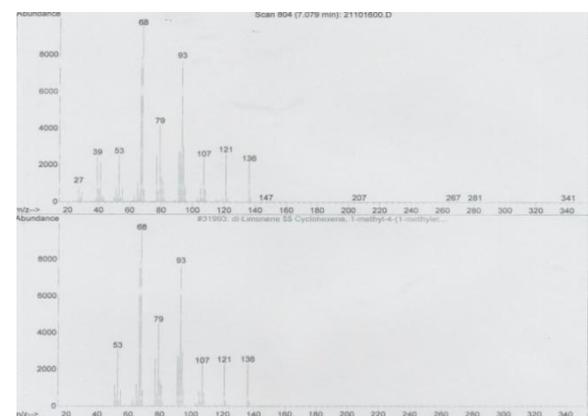
**Gambar 3.** Spektrum massa 2(3H)-Benzofuranone, 3-metil

Pola fragmentasi dari senyawa 2(3H)-Benzofuranone, 3-metil (CAS) dapat digambarkan sebagai berikut:



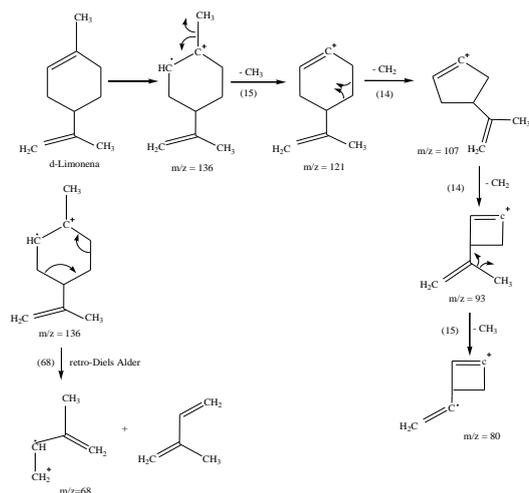
**Gambar 4.** Pola Fragmentasi senyawa 2(3H)-Benzofuranone, 3-metil (CAS)

Spektra Massa berikutnya adalah spektrum massa dl-Limonena yang memiliki waktu retensi sebesar 7.079 dan presentase sebesar 19.895%. Senyawa dl-Limonena memiliki berat molekul 136 dengan rumus  $C_{10}H_{16}$ .



**Gambar 5.** Spektrum massa dl-limonena

Pola fragmentasi dari senyawa dl-limonena dapat digambarkan sebagai berikut: [6].



**Gambar 6.** Pola Fragmentasi senyawa dl limonena

Senyawa 2(3H)- Benzofuranone, 3-metil dan dl-limonena menurut literatur yang diperoleh senyawa tersebut memiliki potensi sebagai

insektisida nabati. Penelitian yang telah dilakukan mengisolasi dan mengidentifikasi beberapa turunan senyawa benzofuran dari tanaman *A.odorata* memiliki toksisitas yang kuat terhadap larva *spodoptera littoralis*. Wibaldus menginformasikan senyawa dl-limonena dari minyak atsiri jeruk nipis menyebabkan mortalitas rayap dan dapat merusak sistem syaraf pada rayap. Kedua literatur tersebut membuktikan bahwa senyawa 2(3H)- Benzofuranone, 3-metil dan dl-limonena berpotensi sebagai insektisida nabati.

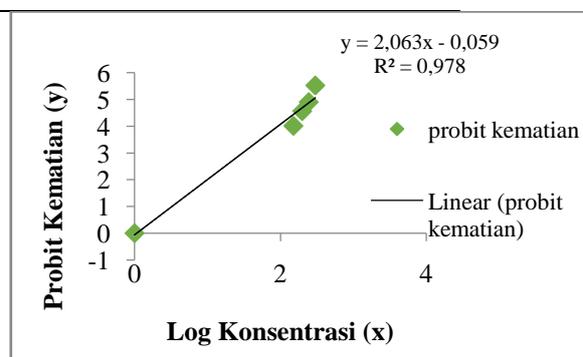
### Hasil Uji Insektisida Nabati Ekstrak EtilAsetat Daun Gamal Terhadap Kutu Beras

Insektisida nabati yang berasal dari ekstrak fraksi etil asetat daun gamal. Hasil pengamatan uji Insektisida nabati terhadap kutu beras pada berbagai konsentrasi diperoleh data yang ditunjukkan pada Tabel 5 berikut:

**Tabel 5.** Hasil Uji Mortalitas Kutu Beras

No	Konsentrasi (%)	Jumlah Hewan Uji	Jumlah Hewan Uji yang Mati			Rata-rata Mortalitas	Persentase Mortalitas (%)
			U1	U2	U3		
1	Kontrol	10	0	0	0	0	0
2	1,5	10	1	2	2	1,66	16,6
3	2,0	10	4	3	3	3,33	33,3
4	2,5	10	4	5	5	4,66	46,6
5	3,0	10	7	6	8	7	70

Nilai konsentrasi ekstrak daun gamal fraksi etil asetat dan mortalitas kutu beras pada Tabel 5, konsentrasi diubah dalam bentuk Xi (log (konsentrasi x 100) dan mortalitas kutu beras dari setiap ulangan dalam bentuk skala probit untuk melihat hasil LC<sub>50</sub>. Log konsentrasi diperoleh kurva hubungan konsentrasi ekstrak daun gamal fraksi etil asetat dengan probit kematian kutu beras. Grafik tersebut dapat dilihat pada Gambar 7.



**Gambar 7.** Persamaan Probit Kematian

Berdasarkan analisis regresi antara log konsentrasi ekstrak dengan probit kematian hewan uji diperoleh persamaan regresi linier  $Y_i = 2.063x - 0.059$  dengan nilai korelasi  $R^2 =$

0,978 pada garis regresinya menunjukkan garis lurus, maka diperoleh nilai toksisitas  $LC_{50}$  sebesar 2,831% diartikan bahwa pada konsentrasi tersebut terjadi kematian sebanyak 50 % dari hewan uji selama 72 jam.

Metode pengujian insektisida nabati dilakukan dengan metode pencampuran makanan. Ekstrak fraksi etil asetat daun gamal dicampurkan dengan beras sebagai sumber makanan *Sitophylus orizae*. Ekstrak daun gamal diduga bersifat racun perut dan racun pernapasan terhadap *Sitophylus orizae*, dimana pada serangga yang telah diberi perlakuan ekstrak daun gamal menunjukkan gejala awal yaitu serangga bergerak naik kealuminium foil penutup bejana uji. Hal ini membuktikan bahwa bahan aktif dalam ekstrak daun gamal fraksi etil asetat mengganggu pernapasan serangga dengan adanya peningkatan  $CO_2$  melebihi konsentrasi  $O_2$  sehingga serangga bergerak mencari udara segar. Konsentrasi  $O_2$  yang rendah menyebabkan spirakel serangga terus membuka dan menyebabkan kematian. Beberapa serangga uji yang mati dalam posisi terbalik, hal ini karena terjatuh dari penutup dan tidak mampu membalikan tubuh keposisi kedaaan sebenarnya [7].

#### KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan diketahui jenis metabolit sekunder yang terkandung pada ekstrak kasar etanol mengandung senyawa alkaloid, triterpenoid, fenolik dan flavonoid; Ekstrak fraksi n-heksan mengandung senyawa steroid, triterpenoid dan fenolik. Ekstrak fraksi etil asetat mengandung senyawa steroid, triterpenoid, flavonoid, fenolik dan saponin. Berdasarkan hasil uji  $LC_{50}$  mortalitas larva udang (BSLT) didapatkan nilai  $LC_{50}$  pada ekstrak kasar etanol yaitu 61,31 ppm, pada fraksi n-heksan yaitu 66,48 ppm, pada fraksi etil asetat 49,29 ppm dimana fraksi etil asetat memiliki toksisitas yang paling tinggi. Berdasarkan hasil uji toksisitas terhadap kutu beras ekstrak fraksi etil asetat daun gamal didapatkan nilai  $LC_{50}$  yaitu 2,831% diartikan

bahwa pada konsentrasi tersebut terjadi kematian sebanyak 50 % dari hewan uji selama 72 jam. Hasil identifikasi kandungan kimia dengan GC-MS dari daun gamal fraksi etil asetat didapatkan 2 senyawa yang paling dominan yang berfungsi sebagai insektisida nabati yaitu diduga senyawa 2 (3H)- Benzofuranone, 3-metil- (CAS) dan di-Limonena.

#### DAFTAR PUSTAKA

- [1] Benny. 2016. *Uji Dosis Tepung Buah Sirih Hutan (Piper aduncum L) Terhadap Mortalitas Hama Sitophilus oryzae L, Pada Beras Dipenyimpanan*. Jorn Faperta Vol 3 No 1 Februari 2016. Universitas Riau.
- [2] Nismah, Utami dan Pratami, D.G. 2011. *Isolasi Senyawa Flavonoid dari Ekstrak Serbuk Daun Gamal (Gliricidia sepium) dan Uji Toksisitasnya Terhadap Hama Kutu Putih Pepaya (Paracoccus marginatus)*. Laporan Penelitian Fakultas MIPA, Universitas Lampung.
- [3] Robinson. 1995. *Kandungan Kimia Organik Tumbuhan Tinggi*. Bandung : Penerbit ITB.
- [4] Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia: Penentuan Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung: Penerbit ITB.
- [5] Kadarisman, I. 2000. "Isolasi dan Identifikasi Senyawa Kimia Bioaktif dari Rimpang Bangle (*Zingiber cassumunar Roxb*)". Skripsi Jurusan Kimia FMIPA, Institut Pertanian Bogor.
- [6] Wibaldus. 2016. *Bioaktivitas Minyak Atsiri Kulit Buah Jeruk Nipis (Citrus aurantifolia) Terhadap Rayap Tanah (Coptotermes sp.)*. Program Studi Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Tanjung Pura.
- [7] Novizan. 2002. *Membuat dan Memanfaatkan Pestisida Ramah Lingkungan*. Jakarta: PT. Agromedia Pustaka.