



**EKSTRAKSI DAN KARAKTERISASI SENYAWA BIOAKTIF DALAM DAUN KENIKIR  
(*Cosmos sulphureus kuning*) SEBAGAI BAHAN BIOINSEKTISIDA ALAMI**

**Rizki Imaniar\*), Latifah dan Warlan Sugiyo**

Jurusan Kimia FMIPA Universitas Negeri Semarang

Gedung D6 Kampus Sekaran Gunungpati Telp. (024)8508112 Semarang 50229

**Info Artikel**

Sejarah Artikel:  
Diterima Maret 2013  
Disetujui Maret 2013  
Dipublikasikan Mei 2013

Kata kunci:  
daun kenikir  
ekstraksi  
larva nyamuk aedes aegypti  
senyawa bioaktif

**Abstrak**

Kenikir (*Cosmos Sulphureus kuning*) merupakan salah satu tanaman yang memiliki kandungan bahan bioinsektisida. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui senyawa bioaktif dan jenis pelarut yang cocok untuk ekstraksi senyawa bioaktif yang terkandung dalam daun kenikir. Ekstraksi dilakukan dengan cara mengekstrak serbuk daun kenikir dengan menggunakan pelarut heksana, kloroform, metanol. Pemisahan senyawa dilakukan dengan menggunakan kromatografi lapis tipis yang disinari dengan sinar UV 365nm dan kromatografi kolom, sedangkan eluen yang digunakan adalah methanol : kloroform = 1:15. Hasil analisis senyawa menggunakan *Gas Chromatography* (GC) dan *Gas Chromatography-Mass Spectrometer* (GC-MS) diketahui bahwa komponen utama dalam ekstrak daun kenikir adalah Pyridaben yang memiliki kelimpahan sebesar 22,37%, 9-octadecenamide dengan kelimpahan 9,78%, 4-nonil fenol dengan kelimpahan 6,77. Uji toksisitas biolarvasida dilakukan terhadap larva instar 3-4 dengan variasi konsentrasi (1000, 2000, 3000, 4000, 5000, 6000, 7000, dan 8000 ppm) selama 24 jam. Hasil analisis probit didapatkan  $LC_{50}$  untuk ekstrak metanol daun kenikir terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* sebesar 7063,175 ppm.

**Abstract**

Marigolds (*Cosmos Sulphureus Yellow*) is one of the plants that have bioinsecticide ingredients. This study aims to determine the bioactive compounds and the type of solvents suitable for the characterization of bioactive compounds contained in the leaves of marigolds. Extraction is done by marigolds leaf powder extract using solvent hexane, chloroform, methanol. Separation of compounds made using thin layer chromatography were irradiated with UV light 365nm and column chromatography, whereas eluent used methanol: chloroform = 1:15. The results of the analysis of compounds using Gas Chromatography (GC) and Gas Chromatography-Mass spectrometer (GC-MS) showed that the major components in the extract of the leaves of marigolds is Pyridaben has an abundance of 22.37%, 9-octadecenamide with an abundance of 9.78%, and 4-nonil phenol with an abundance of 6.77%. Biolarvasida toxicity tests conducted on 3-4 instar larvae with various concentrations (1000, 2000, 3000, 4000, 5000, 6000, 7000, and 8000 ppm) for 24 hours. probit analysis results  $LC_{50}$  for methanol extract of leaves of marigolds against *Aedes aegypti* larvae at 7063.175 ppm

## Pendahuluan

Demam berdarah adalah penyakit yang sangat berbahaya karena dapat menyebabkan penderitanya meninggal dalam waktu beberapa hari. Vektor utama penyakit demam berdarah adalah nyamuk *Aedes aegypti* yang termasuk kelas insekta.

Penyakit menular yang ditularkan serangga sebagai vektor saat ini masih merupakan masalah kesehatan di Indonesia, terutama penyakit malaria dan demam berdarah. Menurut Borror (1992), tindakan pengendalian terhadap nyamuk ditujukan pada nyamuk dewasa atau pada larva. Tindakan yang ditujukan pada larva dapat mencakup memodifikasi habitat-habitat larva atau pengendalian habitat larva dengan insektisida.

Berbagai alternatif sudah dilakukan untuk mengatasi penyakit demam berdarah, diantaranya dengan membasmi jentik-jentik nyamuk penyebab demam berdarah. Pembasmian jentik nyamuk umumnya dilakukan dengan menguras bak mandi, menutup tempat yang mungkin menjadi sarang tempat berkembangbiaknya nyamuk, mengubur barang bekas yang menampung air. Cara lain yang dilakukan yaitu dengan membasmi larva nyamuk sebagai sumber penularan dengan menggunakan bubuk abate (Anonim, 2012).

Berbagai jenis tumbuhan telah diketahui mengandung senyawa bioaktif seperti fenilpropana, terpenoid, alkaloid, asetogenin, flavonoid dan steroid yang dapat berfungsi sebagai bioinsektisida. Untuk itulah perlu suatu penelitian dan pengembangan guna mencari insektisida alami yang dapat menghentikan atau menghambat perkembangan serangga yang ramah lingkungan (Kardinan, 2005).

Insektisida sintesis mempunyai manfaat yang cukup besar pada masyarakat, namun dapat pula memberikan dampak negatif pada manusia dan lingkungan. Pada manusia dapat menimbulkan keracunan yang dapat mengancam jiwa manusia atau menimbulkan penyakit atau cacat (Bariyah, 2010).

Melihat kerugian yang ditimbulkan oleh insektisida sintetik maka perlu suatu usaha untuk mendapatkan alternatif yang lebih efektif dalam mengendalikan populasi serangga, sehingga alternatif yang perlu dicoba adalah menggunakan insektisida alami. Disekitar kita ternyata banyak terdapat tumbuh-tumbuhan yang dapat dijadikan insektisida alami. Penggunaan insektisida alami ini merupakan

salah satu alternatif pengendalian serangga pengganggu karena insektisida alami sangat efektif untuk mengurangi bahan pencemar di lingkungan (Naria, 2005).

Penelitian ini bertujuan untuk menguji keberadaan senyawa bioaktif dan toksisitasnya yang terdapat dalam daun kenikir yang dapat dipergunakan sebagai bioinsektisida. Penelitian ini diharapkan mendapatkan senyawa yang efektif sebagai bioinsektisida.

## Metode Penelitian

Daun kenikir (*Cosmos sulphureus kuning*) segar yang telah dipilih, dilayukan, dan dipotong kecil-kecil, kemudian dimasukkan dalam oven dengan suhu 40-50°C. Daun kenikir yang telah kering diekstrak dengan heksana (pelarut 1) sehingga diperoleh filtrat I dan residu I. Residu I diekstrak dengan kloroform (pelarut 2) sehingga didapat filtrat II dan residu II. Residu II diekstrak dengan metanol (pelarut 3) sehingga didapat filtrat III dan residu III. Dari ketiga ekstrak yang didapat dilakukan uji fitokimia. Pertama, ekstrak sampel sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan dengan serbuk Mg sebanyak 1 gram dan larutan HCl pekat. Perubahan warna larutan menjadi warna merah menandakan adanya ekstrak (+) mengandung senyawa golongan flavonoid. Kedua, ekstrak sampel sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan kedalamnya reagen *dragendorf*. Adanya endapan merah bata menunjukkan bahwa ekstrak (+) mengandung senyawa golongan alkaloid. Ketiga, ekstrak sampel sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan kedalamnya larutan FeCl<sub>3</sub> 2-3 tetes. Perubahan warna menjadi hitam menandakan adanya ekstrak (+) mengandung senyawa golongan tanin. Keempat, ekstrak sampel sebanyak 2 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan dengan aquades dan dikocok kuat selama 10 menit. Jika terbentuk busa yang stabil menunjukkan adanya senyawa golongan saponin.

Ekstrak metanol yang diperoleh, dipekatkan menggunakan evaporator pada suhu 30°C. Uji KLT terhadap ekstrak pekat menggunakan eluen metanol:kloroform (1:15) (Iskandar, 2007). Ekstrak ini kemudian difraksinasi dengan kromatografi kolom menggunakan eluen yang sama dengan kromatografi lapis tipis dengan fasa diam silika gel. Hasil pemisahan dengan kromatografi kolom selanjutnya diidentifikasi dengan GC

dan GC-MS. Untuk uji toksisitas bioinsektisida, media larva nyamuk *Aedes aegypti* dibuat dengan mengisi masing-masing kontainer dengan air. Enam kontainer plastik disiapkan untuk pengujian, lima kontainer digunakan untuk sampel dan satu kontainer sebagai kontrol. Sampel dibuat dengan berbagai variasi konsentrasi 0, 1000, 2000, 3000, 4000, 5000, 6000, 7000 dan 8000 ppm (Laelatul dkk, 2010). Masing-masing larutan tersebut dimasukkan ke dalam kontainer plastik yang berbeda. Setelah itu dimasukkan 10 ekor larva nyamuk uji. Hal ini dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan pada larva uji. Pengamatan dilakukan sampai 24 jam setelah perlakuan terhadap kematian larva nyamuk.

### Hasil dan Pembahasan

Serbuk daun kenikir (*Cosmos sulphureus kuning*) diekstraksi dengan soklet menggunakan tiga macam pelarut. Pelarut yang pertama menggunakan heksana dengan tujuan melarutkan komponen non polar. Pelarut kedua yaitu kloroform dengan tujuan melarutkan komponen-komponen yang kepolarannya sedang. Pelarut ketiga yaitu metanol dengan tujuan untuk melarutkan komponen-komponen polar. Selanjutnya masing-masing hasil ekstraksi dipisahkan dengan evaporator pada suhu 40°C dan selanjutnya dilakukan pengujian fitokimia.

**Tabel 1.** Hasil ekstraksi soklet

Sampel	Perlakuan	Pengamatan	Keterangan
Serbuk daun kenikir	Ekstraksi Soklet dengan Pelarut Heksana	Ekstrak berwarna hijau tua	Melarutkan komponen nonpolar
Ampas Kering	Ekstraksi Soklet dengan Pelarut Kloroform	Ekstrak berwarna hijau tua	Melarutkan komponen yang kepolarannya sedang
Ampas Kering	Ekstraksi Soklet dengan Pelarut Metanol	Ekstrak berwarna hijau tua	Melarutkan komponen polar

Uji fitokimia untuk mengetahui adanya senyawa metabolit sekunder pada daun kenikir dalam penelitian ini, meliputi uji adanya senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin.

**Tabel 2.** Hasil analisis kandungan kimia (uji fitokimia)

Senyawa	Perlakuan	Ekstraksi dengan Pelarut		
		Heksana	Kloroform	Metanol
Flavonoid	Penambahan Serbuk Mg + larutan HCl pekat	Larutan berwarna hijau (-)	Larutan berwarna hijau (-)	Larutan berwarna merah (+)
Alkaloid	Penambahan reagen dragendorff	Larutan berwarna hijau (-)	Larutan berwarna hijau (-)	Endapan merah bata (+)
Tanin	Penambahan larutan FeCl <sub>3</sub>	Larutan berwarna hijau (-)	Larutan berwarna hijau (-)	Larutan berwarna hitam (+)
Saponin	Penambahan aquades	Tidak terbentuk busa (-)	Tidak terbentuk busa (-)	Terbentuk busa (+)

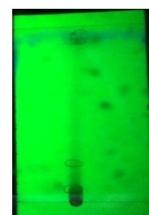
Berdasarkan Tabel 2, ekstrak yang menunjukkan uji positif untuk keempat senyawa bioaktif yang terdapat pada daun kenikir (*Cosmos sulphureus kuning*) adalah ekstrak metanol.

Identifikasi pertama yang dilakukan dengan menggunakan kromatografi lapis tipis.

**Tabel 3.** Hasil kromatografi lapis tipis dari ekstrak daun kenikir

Bercak	Rf
1	0,05
2	0,2
3	0,95

Hasil Pemisahan dengan Kromatografi Lapis Tipis dapat dilihat pula pada Gambar 1.



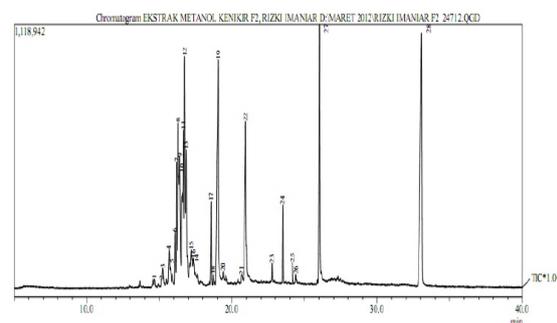
**Gambar 1.** Hasil kromatografi lapis tipis setelah disinari dengan sinar UV menggunakan 365 nm

Berdasarkan hasil kromatografi lapis tipis dengan menggunakan larutan pengembang metanol:kloroform (1:15), selanjutnya larutan pengembang metanol:kloroform (1:15) ini digunakan sebagai eluen untuk kromatografi kolom.

**Tabel 4.** Hasil kromatografi kolom

Sampel	No. Botol	Pengamatan
Ekstrak Daun Kenikir dalam Pelarut Metanol	1	Orange muda (eluen)
	2-8	Hijau muda
	9	Orange
	10-52	Kuning jernih

Kromatogram GC-MS dari ekstrak daun kenikir (*Cosmos sulphureus kuning*)



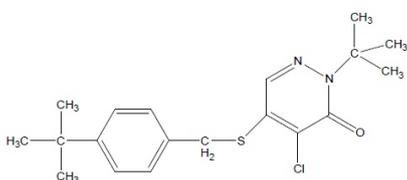
**Gambar 2.** Kromatogram GC-MS

Puncak paling dominan yaitu nomor 28 dengan kelimpahan 22,37% dan waktu retensi

33,057. analisis lebih lanjut menggunakan spektroskopi massa menunjukkan kesamaan puncak nomor 28 dengan senyawa Pyridaben dengan indeks kemiripan 53%.

**Tabel 5.** Komposisi senyawa-senyawa yang terdapat pada ekstrak metanol daun kenikir dengan GC-MS (kelimpahan > 1%)

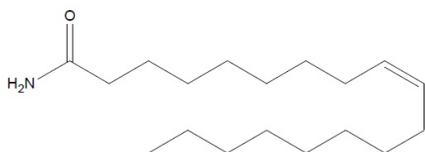
Puncak	Waktu Retensi (menit)	Kelimpahan (%)	Kemungkinan Senyawa
8	16,292	6,77	4-nonil fenol
9	16,404	4,42	Isomer nonil fenol
10	16,575	3,38	Isomer nonil fenol
11	16,643	4,57	Isomer nonil fenol
13	16,849	2,01	Isomer nonil fenol
17	18,568	2,79	7,9-di-ter-butyl-1-oxaspiro(4,5)deka-6,9diene-2,8-dione
19	19,042	16,01	Palmitic acid
22	20,940	9,39	Nonadecanoic acid
24	23,510	2,12	Phosphoric acid, tris (2-ethylhexyl) ester
27	26,027	9,78	9-octadecenamide
28	33,057	22,37	Pyridaben



**Gambar 3.** Struktur pyridaben

Senyawa ini bersifat sangat beracun. Didalam tubuh senyawa ini menghambat tranpor elektron mitokondria, sehingga mengganggu metabolisme dan menyebabkan penurunan berat badan (EFSA, 2010).

Puncak dengan kelimpahan tertinggi berikutnya yaitu nomor 27 dengan kelimpahan 9,78%. analisis lebih lanjut menggunakan spektroskopi massa menunjukkan kesamaan puncak nomor 27 dengan 9-octadecenamide dengan indeks kemiripan 92% dan waktu retensi 26,027.

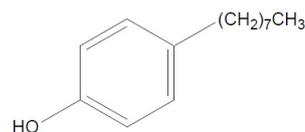


**Gambar 4.** Struktur 9-octadecenamide

Senyawa 9-octadecenamide (oleamide/ amida asam oleat/ oleyamida/ oleamid) merupakan amida asam oleat dan mempunyai sifat larut dalam pelarut polar. Oleoamida stabil dalam jangka waktu kurang lebih satu tahun, jika disimpan pada suhu -20°C. Oleoamida tersedia dalam bentuk padatan putih. Oleoamida merupakan lipida penyebab tidur (Sleeping-inducting liquid). Oleoamida menyebabkan gangguan fungsi motorik, *anxiety* (rasa gelisah), *analgesia* (obat bius) (Fedorova., et

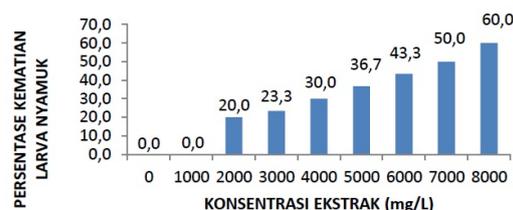
al : 2001).

Puncak nomor 8 sampai dengan 13 menunjukkan isomer nonil fenol. Puncak 8 memiliki indeks kemiripan 91% dengan senyawa 4-nonil fenol. Senyawa 4-nonilfenol merupakan senyawa fenol dengan gugus hidroksil yang terikat pada cincin aromatik. Bila diperhatikan aspek toksisitas, maka adanya senyawa fenol ini menjadikan ekstrak memiliki tingkat toksisitas tinggi.



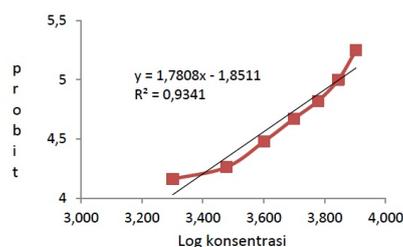
**Gambar 5.** Struktur 4-nonil fenol

Pengujian dilakukan pada larva nyamuk *Aedes aegypti* instar 3-4 sebanyak 30 ekor larva. Perhitungan jumlah larva yang mati dilakukan 24 jam setelah perlakuan



**Gambar 6.** Diagram persentase kematian larva nyamuk *aedes aegypti* pada berbagai konsentrasi selama 24 jam

Hasil pengujian selanjutnya digunakan untuk mencari nilai LC50 dengan metode analisis probit (*finney method*) (Priyono, 2007).



**Gambar 7.** Pengaruh log konsentrasi ekstrak metanol daun kenikir terhadap probit

Berdasarkan persamaan regresi diatas didapatkan  $X = 3.849$  yang merupakan antilog dari konsentrasi sehingga didapatkan harga  $LC_{50}$  ekstrak metanol daun kenikir adalah sebesar 7063,175 ppm.

Kematian larva uji disebabkan adanya kandungan senyawa kimia tumbuhan yang terkandung dalam ekstrak daun kenikir. Senyawa-senyawa tersebut merupakan senyawa kimia pertahanan tumbuhan yang termasuk kedalam metabolit sekunder atau aleokimia yang dihasilkan pada jaringan tumbuhan dan

dapat bersifat toksik serta dapat juga berfungsi sebagai racun perut dan pernafasan.

#### Simpulan

Senyawa-senyawa bioaktif yang terdapat dalam ekstrak daun kenikir berdasarkan analisis dan identifikasi menggunakan GC-MS adalah 4-nonil fenol, 9-octadecenamamide, dan Pyridaben, dengan komponen utama dalam ekstrak daun kenikir tersebut adalah Pyridaben yang memiliki kelimpahan sebesar 22,37%, komponen yang lain adalah 9-octadecenamamide dengan kelimpahan 9,78%, 4-nonil fenol dengan kelimpahan 6,77%. Uji toksisitas bioinsektisida dilakukan terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* instar 3-4 dengan variasi konsentrasi (1000, 2000, 3000, 4000, 5000, 6000, 7000, dan 8000 ppm) selama 24 jam. Hasil analisis probit didapatkan  $LC_{50}$  untuk ekstrak metanol daun kenikir terhadap Larva Nyamuk *Aedes aegypti* sebesar 7063,175 ppm.

#### Daftar Pustaka

- Anonim. 2012. Laporan Praktikum Pengendalian Larva Nyamuk *Aedes aegypti*. (<http://setiya-dewi-megasari.blogspot.com/2012/02/laporan-praktikum-pengendalian-vektor.html>, diakses 8 September 2012)
- Bariyah, Sri Rahayu Eka. 2010. Karakterisasi Simplisia dan Uji Aktivasi Anti Nyamuk dari Minyak Atsiri Bunga Tumbuhan Kenanga (*Cananga odorata Lam*) Hook.f. & Thomson) pada Sediaan Lotion. Medan: Pharmacology USU
- Borrer, D. J., C. A. Triplehorn dan N.F. Johnson. 1992. Pengenalan Pelajaran Serangga. Edisi Keenam. Alih Bahasa: Soetiyono Partosoedjono. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta
- Fedorova I., et al. 2001. Behavioral Evidence for the interaction of Oleamide with Multiple Neurotransmitter System, *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutic*. Volume 299, 1; 332-342
- Kardinan, Agus. 2005. Tanaman Pengusir dan Pembasmi Nyamuk. Jakarta: Agro Media Pustaka
- Naria, Evi. 2005. Insektisida Nabati Rumah Tangga. Medan: FKM USU
- Iskandar, Yusuf. 2007. Karakterisasi Zat Metabolit Sekunder dalam Ekstrak Bunga Krisan (*Chrysanthemum cinerariifolium*) sebagai Bahan Pembuatan Biopestisida. Semarang: UNNES
- Laelatul K, Lela; Asep Kadarohman; Ratnaningsih Eko. 2010. Efektivitas Biolarvasida Ekstrak Etanol Limbah Penyulingan Minyak Akar Wangi (*Vetiveria zizanoides*) Terhadap Larva Nyamuk *Aedes aegypti*, *Culex sp.*, dan *Anopheles sundaicus*. Bandung: Jurusan Kimia FPMIPA Universitas Pendidikan Indonesia
- European Food Safety Authority (EFSA).2010. CONCLUSION ON PESTICIDE PEER REVIEW "Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance pyridaben". Parma, Italy
- Prijono, D. 2007. Modul Praktikum Toksikologi Pengujian Toksisitas Insektisida. Bogor: Departemen Proteksi Tanaman Institut Pertanian Bogor