

WIDYA BIOLOGI

**EKSTRAKSI DAN FRAKSINASI DAUN BROTOWALI
(*Tinospora crispa* L. Miers) UNTUK INSEKTISIDA NABATI
PADA LARVA *Plutella xylostella* L.**I Wayan Suanda^{1*}, I Made Sumarya²¹Pendidikan Biologi FKIP Universitas PGRI Mahadewa Indonesia²Program Studi Biologi FTIS Universitas Hindu Indonesia*Email: suandawayan65@gmail.com**ABSTRAK**

*Pestisida sintesis yang digunakan dalam pengendalian organisme pengganggu tanaman (OPT) menimbulkan masalah terkait pencemaran lingkungan, kesehatan, terganggunya musuh alami bukan sasaran, resiko pada pengguna dan konsumen serta masalah negatif lainnya. Oleh karena itu perlu dicari alternatif insektisida berbahan baku alami dari tanaman yang berpotensi sebagai pestisida. Brotowali (*Tinospora crispa* L. Miers) banyak tumbuh di Jawa, Bali dan Maluku, merupakan tanaman berkhasiat obat, antijamur, antibakteri, antinemasida anti antimoluska. Hasil penelitian ekstrak daun brotowali pada konsentrasi 1% dapat menekan aktivitas makan potongan daun kubis secara in vitro sebesar 44,29% dan mortalitas larva *Plutella xylostella* sebesar 13,33%. Korelasi nyata ($r^2 = 0,9585$) terjadi antara konsentrasi ekstrak daun brotowali dengan penurunan aktivitas makan larva *P. xylostella*. Hasil fraksinasi ekstrak daun brotowali dari beberapa pelarut didapat 14 kelompok senyawa (fraksi). Fraksi V dengan pelarut etil asetat : heksan (3:7) tersusun oleh 2 senyawa yang memiliki nilai $R_f = 0,62$ dan $R_f = 0,86$ merupakan komponen paling aktif. Fraksi V menyebabkan penurunan aktivitas makan larva *P. xylostella* dengan nilai $r^2 = 0,9047$. Ekstrak daun brotowali memiliki nilai EC_{50} pada konsentrasi 2,186% dan fraksi V nilai $EC_{50} = 0,054\%$.*

Kata kunci: Ekstraksi, Fraksinasi, Brotowali, Insektisida nabati, P. xylostella.

ABSTRACT

*The synthetic pesticides used in the plant pests control cause problems related to environmental pollution, health, disruption of non-targeted natural enemies, risks to users and consumers, and other negative problems. Thus, it is necessary to look for alternatives to pesticides made from natural ingredients from plants that have the potential as pesticides. Brotowali (*Tinospora crispa* L. Miers) is widely grown in Java, Bali and Maluku. It is a plant with medicinal, anti-fungal, anti-bacterial, anti-nemacide, and anti-mollusc properties. The results of the study of brotowali leaf extract at a concentration of 1% were able to suppress the feeding activity of the chopped cabbage leaves by 44.29% and the mortality of *Plutella xylostella* larvae was 13.33%. A significant correlation ($r^2 = 0.9585$) occurred between the concentration of brotowali leaf extract and a decrease in the feeding activity of *P. xylostella* larvae. The fractionation of brotowali leaf extract from several solvents obtained 14 groups of compounds (fractions). The V fraction with ethylacetate: hexane (3: 7) was composed of 2 compounds, which had a value of $R_f = 0.62$ and $R_f = 0.86$, were the most active components. Fraction V caused a decrease in the feeding activity of *P. xylostella* larvae with a value of $r^2 = 0.9047$. Brotowali leaf extract has an EC_{50} value at a concentration of 2.186% and a fraction V value of $EC_{50} = 0.054\%$.*

Keywords: Brotowali, Extraction, Fractionation, Natural Insecticides, P. xylostella

WIDYA BIOLOGI**PENDAHULUAN**

Kubis (*Brassica oleracea*) merupakan salah satu komoditi sayuran yang mempunyai nilai gizi dan ekonomi tinggi karena sangat banyak dibutuhkan bagi sebagian besar masyarakat dan termasuk enam besar sayuran komoditas ekspor. Menurut data BPS Provinsi Bali (2020), produksi kubis di Bali mengalami penurunan yaitu tahun 2017 (35.507 ton); 2018 (33.306 ton) dan 2019 (17.576 ton). Produksi kubis mengalami fluktuasi dengan kualitas rendah, bahkan gagal panen akibat serangan organisme pengganggu tanaman (OPT). *Plutella xylostella* L. merupakan hama utama merusak tanaman kubis di dataran tinggi, bahkan sering terjadi gagal panen di musim kemarau. Petani kubis mengaplikasikan insektisida sintetis secara berlebih untuk menyelamatkan hasil pertaniannya. Ketergantungan petani dalam penggunaan pestisida/insektisida sintetis untuk menyelamatkan hasil pertaniannya sangat tinggi, hal ini didasarkan data dari Kementerian Pertanian bahwa terjadi peningkatan aplikasi pestisida/insektisida sintetis paling banyak (Direktorat Jendral Prasarana dan Sarana Direktorat Pupuk dan Pestisida Kementerian Pertanian, 2011).

Hasil penelitian Sinulingga (2006), ditemukannya residu pestisida sintetis jenis organoklorin pada wortel. Residu kimia dari pestisida/insektisida sintetis yang tertinggal

pada hasil pertanian memicu terjadinya kerusakan sel, penuaan dini dan munculnya penyakit degeneratif (Kumar *et al.*, 2008). Pestisida sintetis bersifat bioaktif yang mengandung racun sangat berbahaya dalam penggunaannya, pencemaran lingkungan, mengganggu kesehatan manusia, hewan, parasit dan predator yang bukan menjadi target. WHO memperkirakan 200.000 orang tiap tahun meninggal dunia akibat keracunan pestisida kimia sintetis (Belmain *et al.* 2012) dan penggunaan pestisida kimia sintetis secara terus menerus tanpa kendali menimbulkan resistensi sekitar 500 spesies serangga dan tungau (Khater, 2012).

Menurut Kardinan (2011) terdapat 2.400 jenis tumbuhan dalam 235 famili memiliki potensi sebagai pestisida nabati yang keberadaannya tersebar di Indonesia. Penggunaan pestisida nabati yang memiliki sifat mudah terdegradasi sehingga ramah lingkungan, tersedia cukup banyak sebagai tumbuhan lokal dan mudah didapat sehingga menjadi lebih murah dibandingkan dengan pestisida kimia sintetis (Suanda dan Delly, 2020; Wiratno *et al.*, 2011). Slogan “*Back to Nature*” telah menjadi tren baru bagi masyarakat dunia yang mulai sadar akan bahaya yang ditimbulkan dari penggunaan pestisida sintetis yang berlebihan dalam pertanian, masyarakat semakin arif dan bijaksana dalam memilih bahan pangan yang aman bagi kesehatan dan ramah

WIDYA BIOLOGI

lingkungan (Suanda dan Darmayasa, 2007). Tanaman brotowali sering digunakan sebagai obat tradisional untuk anti diabetes dan anti inflamasi, analgesik dan anti malaria (Ihwan *et al.*, 2014; Ahmad *et al.*, 2016; Dweek dan Cavin, 2016; Muharni *et al.*, 2015). Tanaman brotowali mengandung senyawa aktif sebagai metabolit sekunder berupa alkaloid, pati, glikosida, pikroretosid, pikroretin, berberin, palmatin dan kolumbin (Sulastri *et al.*, 2018) dan sering digunakan bahan untuk campuran pestisida organik (Wiratno *et al.*, 2019).

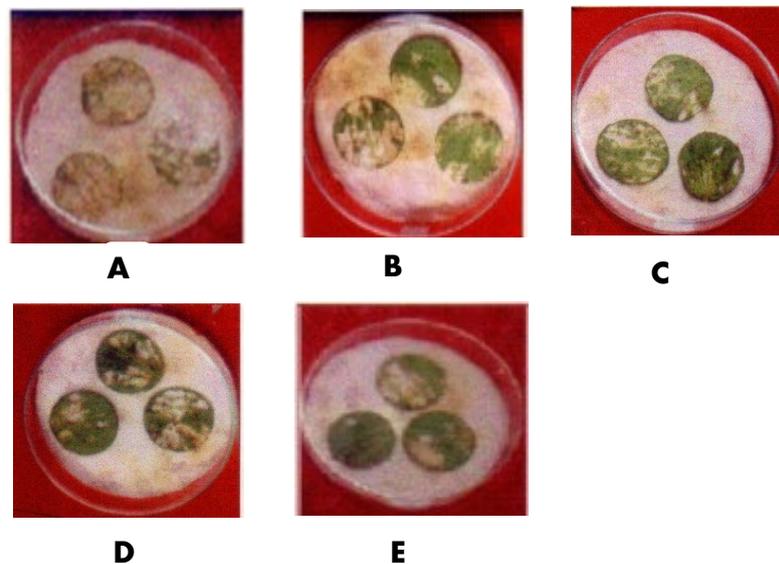
Ketersediaan bahan baku untuk pembuatan pestisida nabati yang cukup melimpah, dampak negatif yang ditimbulkan penggunaan pestisida/insektisida kimia sintesis memberikan inovasi dan motivasi yang mendorong untuk mencari insektisida alternatif dengan melakukan penelitian ekstraksi dan fraksinasi daun tanaman brotowali sebagai insektisida nabati untuk mengendalikan hama *Plutella xylostella* L. yang merusak tanaman kubis. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas ekstrak kasar daun brotowali, komponen ekstrak dan fraksi ekstrak daun brotowali yang merupakan komponen aktif terhadap larva *P. xylostella*; mengetahui cara kerja ekstrak atau komponen ekstrak daun brotowali terhadap larva *P. xylostella* L. dan penyelamatan hasil krop kubis pada tanaman di lapangan.

BAHAN DAN METODE**Ekstraksi**

Penelitian awal dilakukan pada 100 jenis tumbuhan dengan mencoba bagiannya seperti: daun, bunga, buah, daging biji buah, kulit batang dan akar yang diduga berpotensi dapat mengendalikan hama dan penyakit tanaman serta berkhasiat untuk kesehatan manusia berdasarkan “Usada Taru Premana”, dilakukan di Laboratorium Hama dan Penyakit Tumbuhan (HPT) Fakultas Pertanian Universitas Udayana Denpasar. Daun brotowali sebagai sampel yang dicuci dengan air mengalir atau dibersihkan dengan kertas *tissue* terlebih dahulu, kemudian dikering anginkan selama 14 hari. Sampel tersebut diblender hingga menjadi serbuk (tepung) dan ditimbang seberat 100 g dan dimaserasi dengan perendaman dalam 1000 mL metanol 99,98% (1:10) selama 72 jam. Filtrat yang diperoleh melalui penyaringan dengan kain kasa dan kertas saring Whatman No. 2, kemudian dievaporasi dengan *Vacum Rotary Evaporator* pada suhu 40°C. Ekstrak yang diperoleh dari masing-masing tanaman diuji aktivitas insektisidanya terhadap larva *P. xylostella* pada konsentrasi 1%. Hasil pengujian pendahuluan ekstrak kasar daun brotowali (*Tinospora crispa* L.) memiliki kemampuan untuk menghambat nafsu makan larva *P. xylostella* L. Data yang diperoleh kemudian dianalisis dengan

WIDYA BIOLOGI

ANOVA, dan dilanjutkan dengan uji BNT 1% dan DNMRT 1%.



Gambar 1. Aktivitas Insektisida Ekstrak Daun Brotowali
A = kontrol; B= perlakuan 0,1%; C= perlakuan 0,3%
D= perlakuan 0,5% dan E= perlakuan 0,7%

Fraksinasi

Fraksinasi dilakukan dengan menggunakan kolom kromatografi dan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) pada ekstrak kasar (*crude extract*) daun brotowali yang menunjukkan aktivitas insektisida terhadap larva *P. xylostella*. Kolom Kromatografi diisi dengan 90 g silika gel (Wakogel C-300 ukuran partikel 40-75 μm) yang terlebih dahulu dilarutkan dalam 300 mL heksan sampai tercampur merata, selanjutnya dituangkan pada kolom kromatografi secara perlahan-lahan. Partikel silika gel dibiarkan mengendap selama 2 jam. Ekstrak kasar disaring dengan kertas saring Whatman No. 2 dan disiapkan 15 g ekstrak kasar daun brotowali dilarutkan

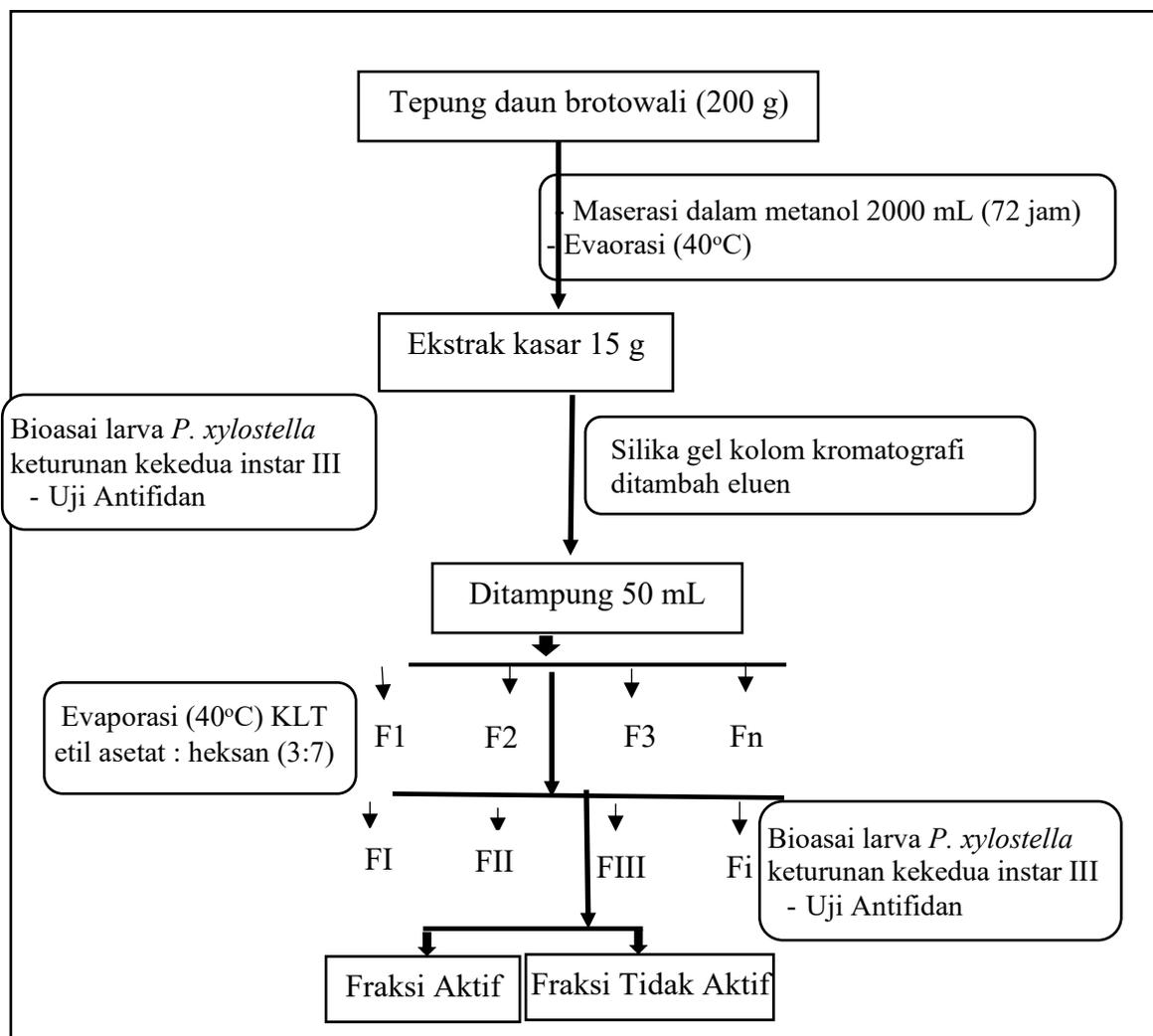
dalam 40 mL aseton : metanol (1:1) ditambah 10 g silika gel diuapkan kembali dengan *Vacum Rotary Evaporator* pada suhu 40°C sampai terbentuk kristal. Ekstrak berbentuk kristal ini dimasukkan kedalam kolom kromatografi berdiameter 3 cm dan panjang 60 cm.

Pemisahan dilakukan dengan menggunakan pelarut yang memiliki sifat polaritas berbeda yaitu: 200 mL heksan, 20 mL etil asetat : 180 mL heksan, 60 mL etil asetat : 140 mL heksan, 100 mL etil asetat : 100 mL heksan, 200 mL etil asetat, 20 mL metanol : 180 etil asetat, 40 mL metanol : 160 mL etil asetat, dan 60 mL metanol : 150 mL etil asetat. Eluen yang melewati kolom kromatografi ditampung dalam erlemayer

WIDYA BIOLOGI

volume 50 mL sebagai Fraksi 1 (F1) dan penampungan eluen 50 mL berikutnya sebagai Fraksi 2 (F2) dan seterusnya. Eluen dievaporasi sampai mendapatkan ekstrak kental. kemudian dilarutkan dalam 2 mL aseton : metanol (1:1), selanjutnya dilakukan pemisahan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Keisel Gel 60 F₂₅₄ ukuran 10 cm x 10 cm dengan

pengembang heksan : etil asetat 5 mL (1:1). Kelompok senyawa yang menunjukkan tanda pemisahan pada eluen yang sama dan nilai R_f sama digabung dalam satu fraksi dan kemudian diupkan agar mendapatkan endapan berupa padatan yang selanjutnya digunakan untuk bioasai (Suanda, 2002) (Gambar 2).



Gambar 2. Skema ekstraksi dan fraksinasi bahan aktif daun brotowali

Uji Antifidan Ekstrak Kasar Daun Brotowali

Aktivitas insektisida ekstrak kasar daun brotowali diuji dengan metode “*Leaf Disk*” berupa potongan daun kubis diameter

WIDYA BIOLOGI

3 cm sebanyak tiga helai. Permuakaan bagian atas dan bawah daun kubis masing-masing dilapisi 20 μ L ekstrak kasar daun brotowali konsentrasi 0,1%; 0,3%; 0,5%; 0,7%; 1,0%; 1,5%; 2,0%; 2,5%; 3,0%; 3,5% dan 4,0% serta perlakuan kontrol diletakkan dalam cawan Petri berdiameter 9 cm. Penelitian dilakukan dengan rancangan acak lengkap (RAL) dan masing-masing diulang sebanyak tiga kali. Daun kubis perlakuan kontrol pada kedua permukaannya dilapisi solven aseton : metanol (1 : 1). Diinvestasikan larva *P. xylostella* keturunan

kedua (F2) instar III masing-masing sebanyak 15 larva ke dalam cawan Petri dengan memuaskan larva selama 4 jam sebelum perlakuan.

Pengamatan berat daun kubis yang dimakan larva dilakukan setelah 24 jam, sedangkan mortalitas larva *P. xylostella* dilakukan 48 jam setelah aplikasi (jsa). Nilai penurunan persentase aktivitas makan larva *P. xylostella* terhadap perlakuan kontrol menurut Prijono (1988) ditentukan dengan rumus:

$$PA = \left(1 - \frac{Bmp}{Bmk} \times 100 \%\right)$$

Keterangan :

PA = Penurunan aktivitas makan larva (%)

Bmp = Berat daun yang dimakan larva pada perlakuan (gram)

Bmk = Berat daun yang dimakan larva pada kontrol (gram).

Uji Aktivitas Antifidan Ekstrak Daun Brotowali Hasil Fraksinasi

Ekstrak daun brotowali hasil fraksinasi masing-masing diuji aktivitas antifidan terhadap larva *P. xylostella* keturunan kedua (F2) instar III dengan metode tanpa pilihan. Potongan daun kubis berdiameter 3 cm pada kedua permukaannya masing-masing dilapisi 20 μ L ekstrak hasil fraksinasi konsentrasi 0,3%. Pengamatan dilakukan dengan menimbang berat daun kubis yang dimakan larva setelah 24 jam. Larva dipindahkan kedalam cawan Petri

yang berisi daun kubis baru yang telah dipersiapkan untuk pengamatan mortalitas larva dilakukan 48 jam setelah aplikasi. Fraksi yang menyebabkan persentase penurunan aktivitas makan tertinggi serta persentase mortalitas larva *P. xylostella* terbanyak menunjukkan paling aktif. Fraksi yang paling aktif diuji kembali pada konsentrasi 0,1%; 0,2%; 0,3%; 0,4% dan 0,5 % serta perlakuan kontrol.

Pengujian Lapangan

Ekstrak kasar daun brotowali yang akan diujikan diformulasi dengan

WIDYA BIOLOGI

menambahkan 0,5 % *Tween* 80; 1% *stiker* dan air (*aquades*), sehingga volume akhir mencapai 1000 mL. Larutan ini diformulasi menjadi konsentrasi 0% (K0); 0,1% (K1); 0,3% (K2); 0,5% (K3); 0,7% (K4) dan 1% (K5) untuk pengujian di lapangan. Pengujian dilakukan di Desa Candikuning Kabupaten Tabanan, Bali yang dirancang dengan Rancangan Acak Kelompok (RAK) yang terdiri atas 6 perlakuan yang diulang sebanyak 4 kali. Pengamatan intensitas

kerusakan daun kubis dilakukan berdasarkan rumus:

$$I = \frac{\sum (n \times v)}{Z \times N} \times 100\%$$

Keterangan :

I = Intensitas kerusakan daun (%)

n = Jumlah bagian tanaman yang diamati dari tiap katagori serangan

v = Nilai skala tiap katagori serangan

Z = Skala katagori serangan tertinggi

N = Jumlah daun yang diamat

Tabel 1. Skor intensitas kerusakan daun kubis

Skor	Keterangan
0	Tidak ada serangan
1	Serangan > 0 - ≤ 25 % luas daun kubis
2	Serangan > 25% - ≤ 50% luas daun kubis
3	Serangan > 50% - ≤ 75% luas daun kubis
4	Serangan > 75% - ≤ 100% luas daun kubis

Penentuan terhadap pengurangan kehilangan hasil akibat perlakuan ekstrak daun

brotowali dilakukan pada saat panen, dengan rumus:

$$\% \text{ Pengurangan Kehilangan Hasil} = \frac{\text{Hasil panen perlakuan} - \text{Hasil panen kontrol}}{\text{Hasil panen kontrol}} \times 100\%$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Insektisida Ekstrak Kasar Daun Brotowali terhadap Larva *P. xylostella*

Pengujian ekstrak kasar daun brtotowali pada konsentrasi 0,1%; 0,3%; 0,5%; 0,7%; 1%; 1,5%; 2,0%; 2,5%; 3,0%; 3,5% dan 4,0% terhadap larva *P. xylostella*

menunjukkan aktivitas insektisida berbeda nyata dengan perlakuan kontrol ($P < 0,05$). Hasil pengamatan menunjukkan bahwa intensitas kerusakan daun kubis dimakan larva semakin berkurang dengan peningkatan konsentrasi ekstrak daun brotowali (Tabel 2) dan terjadi korelasi yang nyata ($r^2 = 0,9585$).

WIDYA BIOLOGI

Tabel 2. Aktivitas insektisida ekstrak kasar daun brotowali terhadap larva *P. xylostella* pada pengujian antifidan

Konsentrasi ekstrak (%)	Rata-rata berat daun kubis dimakan larva <i>P. xylostella</i> selama 24 jam (g)	Rata-rata mortalitas larva <i>P. xylostella</i> (%) selama 48 jam
0,0	0,210 a	0,000 a
0,1	0,160 b	2,223 a
0,3	0,157 b	2,223 a
0,5	0,147 bc	4,447 a
0,7	0,140 bcd	6,670 a
1,0	0,117 cde	13,333 b
1,5	0,114 cde	17,777 bcd
2,0	0,110 de	20,000 bcd
2,5	0,087 ef	22,223 cd
3,0	0,074 f	28,891 e
3,5	0,067 f	24,447 d
4,0	0,064 f	15,553 bcd

Keterangan: huruf yang sama di belakang nilai rata-rata menunjukkan perbedaan tidak nyata pada taraf uji DMRT 5%.

Peningkatan konsentrasi ekstrak daun brotowali yang dilapisi pada daun kubis perlakuan menyebabkan berkurangnya daun kubis dimakan oleh larva *P. xylostella*, karena senyawa aktif berupa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak daun brotowali menurunkan nafsu makan larva. Konsentrasi ekstrak yang lebih besar menyebabkan keberadaan senyawa aktif yang terdapat pada daun kubis perlakuan lebih tinggi, sehingga dampak penurunan nafsu makan larva yang ditimbulkan juga semakin meningkat. Menurut Kresnady dan Lentera (2003), brotowali mengandung beberapa senyawa aktif pada bagian daun, batang dan akarnya. Senyawa tersebut antara lain: alkaloid berberina, damar lunak, pati, glikosida, pikroretosid, harsa, pikroretin,

tinokrisposid, kolumbin dan kaokulin. Senyawa aktif seperti alkaloid, tinokrisposid, glikosida yang terkandung pada brotowali tidak disukai oleh serangga (Dumeva *et al.* 2016).

Data Tabel 1 pada pengujian racun perut menunjukkan mortalitas larva *P. xylostella* berbeda sangat nyata antara perlakuan ekstrak kasar daun brotowali dengan perlakuan kontrol ($P < 0,01$). Pengujian ekstrak kasar daun brotowali konsentrasi 1,0%-3,0% menyebabkan mortalitas larva *P. xylostella* sebesar 8,890%-22,223% dan kematian larva menurun pada konsentrasi yang lebih tinggi. Kematian larva sebesar 8,890%-22,223% belum cukup menunjukkan ekstrak kasar daun brotowali sebagai racun perut dan cenderung mengarah bersifat antifidan.

WIDYA BIOLOGI

Muron dan Norton (1984) *dalam* Laba dan Soekarna (1986) melaporkan bahwa suatu senyawa dikatakan efektif bila mampu membunuh 80% serangga uji. Prijono *et al.* (1998) melaporkan bahwa mortalitas larva *Crocidolomia binotalis* instar III yang mencapai 33,9%-43,9% pada pemberian ekstrak biji Mahoni (*S. mahagoni*) belum cukup sebagai pembunuh tetapi lebih bersifat menghambat pertumbuhan. Lebih lanjut Dwi dan Subiakto (2006) menyatakan bahwa pestisida dapat dikatakan efektif apabila mempunyai daya bunuh terhadap serangga $\geq 80\%$.

Menurunnya mortalitas larva *P. xylostella* pada daun kubis yang diberi perlakuan konsentrasi ekstrak kasar daun brotowali yang meningkat, diduga disebabkan oleh pengaruh zat aktif tinokrisposid yang terkandung dalam ekstrak tersebut. Zat aktif tinokrisposid dapat memberikan efek mortalitas yang maksimal pada konsentrasi ekstrak yang optimum dan pemberian konsentrasi yang lebih tinggi ternyata efeknya menurun (Adnan *et al.* 1998). Permadi dan Fitrihidajati (2019) menyatakan senyawa triterpenoid yang terkandung pada brotowali memiliki sifat antimakan terhadap serangga.

Alkaloid yang terkandung dalam brotowali dapat mengganggu terbentuknya komponen penyusun peptidoglikan pada sel hama, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh maka menimbulkan kematian pada sel tersebut (Satria, 2014).

Uji Insektisida Ekstrak Daun Brotowali Hasil Fraksinasi terhadap Larva *P. xylostella*

Hasil fraksinasi ekstrak daun brotowali menggunakan metode kolom kromatografi dan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) didapat 14 fraksi. Fraksi diuji aktivitas insektisidanya terhadap larva *P. xylostella* instar III pada konsentrasi 0,3%. Hasil bioasai dari fraksi V solven etil asetat : heksan (3:7) atau 60 mL etil asetat : 140 mL heksan menunjukkan aktivitas makan larva *P. xylostella* paling rendah, sedang fraksi lainnya aktivitas makannya lebih tinggi (Tabel 3). Hubungan yang signifikan juga ditunjukkan antara perlakuan konsentrasi fraksi V dengan penurunan aktivitas makan larva ($r^2 = 0,9047$). Fraksi V selanjutnya diuji aktivitas insektisidanya terhadap larva *P. xylostella* pada konsentrasi 0,1%; 0,2%; 0,3%; 0,4%; 0,5% dan daun kubis pada perlakuan kontrol dilapisi aseton : metanol (1 : 1) (Tabel 4).

WIDYA BIOLOGI

Tabel 3. Aktivitas insektisida masing-masing fraksi dari ekstrak daun brotowali terhadap larva *P. xylostella*

Fraksi	Rata-rata berat daun kubis dimakan larva <i>P. xylostella</i> (g) selama 24 jam	Rata-rata mortalitas larva <i>P. xylostella</i> (%) selama 48 jam
-	0,210 a	0,000 a
I	0,147 b	8,890 ab
II	0,140 bc	8,890 ab
III	0,097 bcde	26,670 cd
IV	0,043 ef	20,000 bcd
V	0,023 f	33,330 d
VI	0,090 bcde	11,110 abc
VII	0,050 ef	33,330 d
VIII	0,083 cdef	24,440 bcd
IX	0,053 ef	24,440 bcd
X	0,073 def	17,780 bcd
XI	0,040 ef	17,780 bcd
XII	0,120 bcd	17,780 bcd
XIII	0,073 def	22,220 bcd
XIV	0,057 ef	24,440 bcd

Keterangan: huruf yang sama di belakang nilai rata-rata menunjukkan perbedaan tidak nyata pada taraf uji DMRT 5%.

Tabel 4. Aktivitas insektisida fraksi V terhadap larva *P. xylostella*

Konsentrasi Fraksi (%)	Rata-rata berat daun kubis dimakan larva <i>P. xylostella</i> (g) selama 24 jam	Rata-rata mortalitas larva <i>P. xylostella</i> (%) selama 48 jam
0	0,210 a	0,000
0,1	0,096 b	22,223 cd
0,2	0,081 b	26,667 de
0,3	0,024 c	33,333 e
0,4	0,020 c	15,553 c
0,5	0,004 c	8,890 b

Keterangan: huruf yang sama di belakang nilai rata-rata menunjukkan perbedaan tidak nyata pada taraf uji DMRT 5%.

Fraksi V hasil pemisahan KLT dengan pengembang etil asetat : heksan (3 : 7) tampak membentuk 2 spot yang masing-masing mempunyai nilai Rf : 0,62 dan 0,86. Terjadi korelasi yang nyata ($r^2 = 0,9585$) antara konsentrasi ekstrak kasar dengan penurunan aktivitas makan larva *P. xylostella*. Hubungan yang signifikan juga

ditunjukkan antara konsentrasi fraksi V dengan penurunan aktivitas makan larva ($r^2 = 0,9047$). Nilai EC_{50} ekstrak kasar daun Brotowali terhadap penurunan aktivitas makan larva *P. xylostella* adalah konsentrasi 2,186%, sedangkan fraksi V = 0,054%. Senyawa yang terkandung dalam ekstrak daun brotowali fraksi V kemungkinan

WIDYA BIOLOGI

adalah tinokrisposid. Dumeva *et al.* (2016) melaporkan bahwa senyawa aktif yang terkandung pada brotowali seperti: alkaloid, tinokrisposid, glikosida tidak disukai oleh serangga. Brotowali memiliki kandungan senyawa aktif berupa alkaloid, tinokrisposid, tannin dan flavonoid (Adnan dan Pachly, 1992). Tinokrisposid adalah suatu furanoditerpen glikosida yang mempunyai rasa pait dan glikosida yang paling tidak disukai oleh larva *P. xylostella* (Kardinan *et al.*, 1998). Daun kubis yang dilapisi ekstrak fraksi V pada konsentrasi yang tinggi menyebabkan daun kubis yang dimakan larva sangat sedikit dan semakin berkurang bila konsentrasi fraksi V dinaikkan, demikian juga kematian larva berkurang. Hal ini disebabkan karena senyawa aktif yang terkandung pada ekstrak fraksi V sangat kuat untuk menghambat keinginan larva makan daun kubis.

Brotowali memiliki lebih dari 65 jenis senyawa seperti: alkaloids, flavonoids, flavone glikosida, triterpenes, diterpenes dan diterpene glikosida, cis clerodane-typefurano diterpenoids, lactones, sterols, lignans, dan nukleosida (Ahmad *et al.*, 2016). Lebih lanjut Darmayasa dan Parwanayoni (2014) melaporkan bahwa ekstrak kasar daun brotowali memiliki

beberapa golongan senyawa aktif seperti: steroid, terpenoid, saponin dan fenolik, alkaloid, damar lunak, pati, glikosida pikroretosid, zat pahit pikroretin, harsa, berberin dan palmatin sedangkan akarnya mengandung alkaloid berberin dan kolumbin. Senyawa aktif yang terkandung pada tanaman brotowali diantaranya: alkaloid, tinokrisposid, glikosida tidak disukai oleh serangga (Dumeva *et al.*, 2016).

UJI FORMULASI EKSTRAK DAUN BROTOWALI DI LAPANGAN

Persentase tanamam kubis yang menghasilkan krop dan berat krop yang dihasilkan pada perlakuan kontrol sangat rendah akibat tingginya populasi larva dan intensitas kerusakan daun kubis. Kerusakan tanaman kubis akibat serangan hama *Plutella xylostella* mengakibatkan pertumbuhan tanaman menjadi lambat dan akan berdampak terhadap pembentukan krop yang kecil dan gosong (kurang padat). Hasil analisis statistika menunjukkan persentase tanaman kubis menghasilkan krop berbeda sangat nyata antara perlakuan ekstrak daun brotowali dengan perlakuan kontrol ($P < 0,01$) (Tabel 5) dan berat krop tanaman kubis yang dihasilkan disajikan pada Tabel 6).

Tabel 5. Persentase tanaman kubis menghasilkan krop dengan berbagai perlakuan konsentrasi ekstrak kasar daun brotowali

Konsentrasi ekstrak (%)	Rata-rata tanaman kubis menghasilkan krop (%) saat panen (81 hst)
-------------------------	-------------------------------------------------------------------

WIDYA BIOLOGI

0,0	22,5 a
0,1	92,5 b
0,3	87,5 b
0,5	97,5 b
0,7	97,5 b
1,0	100,0 b

Keterangan: huruf yang sama di belakang nilai rata-rata menunjukkan perbedaan tidak nyata pada taraf uji DMRT 5%.

Tabel 6. Berat krop yang dihasilkan tanaman kubis saat panen (81 hst) dengan berbagai perlakuan konsentrasi ekstrak kasar daun brotowali

Konsentrasi ekstrak (%)	Rata-rata berat krop/tanaman kubis (g)	Rata-rata berat krop/ha (ton)	Pengurangan kehilangan hasil (%)
0,0	264,167 a	8,805	0,000 a
0,1	754,222 b	25,141	185,531 b
0,3	1.012,500 bc	33,749	283,119 bc
0,5	1.186,750 c	39,558	349,063 c
0,7	1.199,640 c	39,988	353,945 c
1,0	1.219,890 c	40,663	361,607 c

Keterangan: huruf yang sama di belakang nilai rata-rata menunjukkan perbedaan tidak nyata pada taraf uji DMRT 5%.

Pengamatan populasi larva *P. xylostella* dilapangan dimulai pada saat tanaman kubis berumur 21 hari dengan populasi 0,5 larva/tanaman kubis dan dikategorikan telah melebihi nilai ambang batas populasi yaitu 0,33 larva/tanaman. Populasi larva mengalami peningkatan terus pada perlakuan kontrol yaitu 35,50 larva/tanaman dan populasi maksimum terjadi pada tanaman umur 69 hari setelah tanam (hst). Populasi larva mengalami penurunan seiring dengan kepadatan krop kubis yaitu tanaman umur 81 hst. Hasil pengamatan di lapangan intensitas kerusakan daun kubis mengalami peningkatan dari umur 27 hst yaitu 8,067%

dan intensitas kerusakan meningkat terus dan maksimum terjadi saat tanaman kubis berumur 69 hst, setelah itu menurun hingga tanaman berumur 81 hst. Intensitas kerusakan daun kubis pada perlakuan kontrol mengalami peningkatan terus hingga 95,913% saat tanaman berumur 81 hst. Pada perlakuan formulasi ekstrak daun brotowali konsentrasi 1,0% yaitu 8,067% (umur 27 hst) dan maksimum terjadi saat tanaman umur 69 hst yaitu sebesar 38,809%, selanjutnya intensitas kerusakan tanaman umur 81 hst mengalami penurunan akibat semakin padatnya krop kubis.

Pengamatan berat krop dilakukan dengan melakukan pencabutan 10 tanaman

WIDYA BIOLOGI

kubis disetiap perlakuan pada saat tanaman berumur 63 hst; 69 hst, 75 hst dan 81 hst, dan

krop yang didapat ditimbang untuk mengetahui beratnya (Gambar 3).



Gambar 3. Krop yang dihasilkan tanaman kubis perlakuan ekstrak daun brotowali: A = perlakuan kontrol; B = perlakuan konsentrasi 1,0% pada umur 63 hst; C= membuka krop untuk menghitung larva; D = penimbangan krop kubis dan E= Tanaman Kubis di lapangan

Berat krop pada Tabel 6 menunjukkan bahwa peningkatan formulasi ekstrak daun brotowali yang diaplikasikan pada tanaman kubis menyebabkan rata-rata berat krop berbeda nyata dengan perlakuan kontrol, namun perlakuan ekstrak konsentrasi 0,1% dan 0,3% rata-rata berat krop kubis masih rendah dan tidak berbeda nyata. Hal ini mungkin disebabkan senyawa

aktif ekstrak daun brotowali pada konsentrasi 0,1% dan 0,3% belum memiliki efek mengurangi nafsu makan pada larva. Pada perlakuan ekstrak daun brotowali konsentrasasi 0,5%; 0,7% dan 1,0% sudah mampu membentuk krop dengan baik dan berat krop kubis sudah meningkat. Kondisi ini disebabkan oleh senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak daun brotowali

WIDYA BIOLOGI

yang diaplikasikan pada tanam kubis 2 kali seminggu mampu mengurangi kedatangan imago hama *P. xylostella* dan larvanya tidak suka memakan daun kubis yang dilapisi ekstrak daun brotowali. Semakin banyaknya partikel metabolit sekunder dari ekstrak daun brotowali yang terakumulasi pada daun dan krop kubis akan menyebabkan aktivitas insektisidanya semakin kuat. Brotowali mengandung alkaloid yang berperan sebagai *antifidan* dan anti serangga (Grainge dan Ahmed, 1987). Lebih lanjut Wiratno, *et al.* (2019) melaporkan brotowali dapat dimanfaatkan untuk mengendalikan serangga diantaranya: tungau, *Spodoptera exigua*, *Nephotettix* spp, *Nilaparvata lugens*, *Phyllotera sinuata* Ateph, *Scirtothrips dorsalis* Hood, *Phyllocnistis citrella* Stainton dan larva nyamuk *Culex quinquefasciatus* (vektor penyakit filariasis) dengan nilai efektivitas diatas 50% dan brotowali dapat digunakan sebagai bahan untuk campuran pestisida organik.

Sukadana *et al.* (2007) melaporkan brotowali mengandung senyawa terpenoid memiliki fungsi sebagai zat antimakan (*antifeedant*) karena rasanya yang pahit sehingga serangga menolak untuk makan. Terpenoid merupakan senyawa yang memiliki rasa yang kelat dan berfungsi sebagai *antifeedant* terhadap serangga (Anggriani, *et al.*, 2013). *Antifeedan* adalah senyawa kimia yang dapat menghambat atau

menghentikan nafsu makan yang sifatnya sementara atau permanen tergantung pada kekuatan senyawa tersebut dalam memberikan aktivitasnya (Dadang dan Prijono, 2008). Huner dan Hopkins (2009) menyatakan bahwa alkaloid, terpenoid, dan fenolik, memiliki sifat sebagai antimakan (*antifeedant*), sedangkan steroid memiliki fungsi dalam mengganggu proses perubahan bentuk serangga (*molting cycle*) apabila terhirup oleh serangga.

KESIMPULAN

1. Ekstrak daun brotowali memiliki aktivitas mengurangi berat daun kubis yang dimakan larva *P. xylostella* dengan nilai EC_{50} sebesar 2,186%.
2. Hasil fraksinasi ekstrak daun brotowali mendapatkan 14 fraksi dan fraksi V paling efektif yang memiliki nilai Rf: 0,62 dan 0,86 serta nilai EC_{50} sebesar 0,054%.
3. Ekstrak daun brotowali dan fraksinasi yang dihasilkan memiliki aktivitas *antifidan* terhadap larva *P. xylostella* secara *in vitro*.
4. Formulasi ekstrak daun brotowali yang diaplikasikan pada tanaman kubis di lapangan mampu menghambat populasi larva *P. xylostella* sebesar 55,47%-84,63%; mengurangi intensitas kerusakan daun 33,62%-64,78% dan mampu menyelamatkan hasil krop kubis sebesar 185,53% -361,61%.

WIDYA BIOLOGI

UCAPAN TERIMAKASIH

Pada penelitian ini kami banyak dimotivasi dan dibantu oleh para pihak, dalam kesempatan ini di haturkan terimakasih kepada yang terhormat: 1). Kepala Laboratorium Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Udayana; 2). Bapak Dr. Drs. Ida Bagus Gede Darmayasa, M.Si, yang telah banyak membantu proses penelitian ini; 3). Bapak I Ketut Suparta, dan Kelompok Tani Kembang Merta Desa Candikuning yang telah membantu penelitian lapangan di Desa Candikuning, Kabupaten Tabanan-Bali.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, W; Jantan, I. dan Bukhari, S.N.A. 2016. *Tinospora crispa* (L). Hook.f. & Thomson: A Review of its ethnobotanical, phytochemical and pharmacological aspects. *Frontiers in Pharmacology*. 7(59): 1-19.
- Anggriani; Sumarmin R dan Widiana R. 2013. Pengaruh *Antifeedant* Ekstraksi Kulit Batang Angsana (*Pterocarpus indicus* Willd.) terhadap Feeding Strategy Wereng Coklat (*Nilaparvata lugens* Steal.). [online] <http://ejournals1.stkip-pgri-sumbar.ac.id> diunduh tanggal 24 Maret 2017.
- Adnan, A.Z. dan P. Pachaly. 1992. Tinokrisposid, Diterpenglykosida, *Tinospora crispa* L. Miers. *Arch. Pharm (Wheinheim)*. 325: 707-708.
- BPS Provinsi Bali 2020. Statistik Hortikultura 2019. Denpasar
- Belmain, S.R; Amoah, B.A; Nyirenda, S.P.; Kamanula, J.F. dan Stevenson, P.C. 2012. Highly variable insect control efficacy of *Tephrosia vogelii* chemotypes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 60(40). ACS Publications, 10055-10063.
- Dweek, A.C dan Cavin, J.P. 2016. Andawali (*Tinospora crispa*) – a review. Retrieved January 20, 2017 from http://www.dweekdata.com/publish-ed_papers/Tinospora_crispa.pdf.
- Dumeva, A; Syarifah dan Fitriah, S. 2016. Pengaruh ekstrak batang brotowali (*Tinospora crispa*) terhadap kematian larva nyamuk *Aedes aegypti*. *Jurnal Biota*. 2(2): 166–172.
- Darmayasa, I.B.G. & Parwanayoni, N.M.S. 2014. Potensi ekstrak daun brotowali (*Tinospora crispa* (L) Miers) sebagai Fungisida Nabati terhadap Penyakit Layu Fusarium pada Tanaman Cabai (*Capsicum annum* L.) In: Aryanta, I., Pangkahila, A., Marina Silalahi, M., Adiputra, I. dan Nyoman Arsana, I. (eds.) Integrasi Keanekaragaman Hayati dan Kebudayaan Dalam Pembangunan Berkelanjutan. Denpasar, FMIPA, Universitas Hindu Indonesia, pp.197–205.
- Direktorat Jendral Prasarana dan Sarana Direktorat Pupuk dan Pestisida Kementerian Pertanian 2011. Pedoman Pembinaan Penggunaan Pestisida.
- Dadang dan Prijono, 2008. Insektisida Nabati: Prinsip, Pemanfaatan, dan Pengembangan. Departemen Proteksi Tanaman. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Dwi, A.S dan Subiyakto. 2006. Pengaruh ekstrak limbah tanaman tembakau

WIDYA BIOLOGI

- terhadap mortalitas dan reproduksi *Myzus persicae* (Sulzer) (Homoptera; Aphididae) Jurnal Agritek: 14(4).
- Grainge, M. and S. Ahmed. 1987. Handbook of Plants with Pest Control Properties. A Willey Interscience Publication. New York. 470 p.
- Huner, N.P.A dan Hopkins, W. 2009. Introduction to Plant Physiology. John Wiley & Sons, NY. 4th edition. New York.
- Ihwan, R.M. dan Fitri, L.E. 2014. Antiplasmodial test of *Tinospora crispa* stem extract against *Plasmodium falciparum* 3D7 strain in vitro. Jurnal Kedokteran Brawijaya, 28(2): 91-96.
- Khater, H.F. 2012. Prospect of botanical biopesticides in insect pest management. *Pharmacologica*. 3(12): 641-656.
- Kardinan, A. 2011. Penggunaan pestisida nabati sebagai kearifan lokal dalam pengendalian hama tanaman menuju sistem pertanian organik. Pengembangan Inovasi Pertanian 04(4): 262-278.
- Kumar LP, Panneerselvam N. 2008. Toxic Effects of Pesticides: A Review on Cytogenetic Biomonitoring Studies. *Medicine and Biology*. 15(2): 46-50.
- Kresnady, B dan T. Lentera. 2003. Khasiat dan Manfaat Brotowali, Sipahit yang Menyembuhkan. Agromedia Pustaka.
- Kardinan, A.; M. Iskandar dan Hernani. 1998. Pengaruh Ekstrak Batang Brotowali terhadap Aktivitas Biologi Serangga *Tribolium castaneum* Hbst. Warta Tumbuhan Obat Indonesia. Vol. 4(2):13-15.
- Muharni, Elfita dan Masyita. 2015. Isolasi senyawa metabolit sekunder dari ekstrak n-heksana batang tumbuhan brotowali. *Molekul*, 10(1): 38-44.
- Permadi, M.S.D dan H. Fitrihidajati. 2019. Pengaruh Pemberian Ekstrak Batang Brotowali (*Tinospora crispa*) terhadap Mortalitas Kutu Daun (*Aphis gossypii*). *LenteraBio*: 8(2): 101-106.
- Satria, A. B. 2014. Pengembangan Potensi Daun dan Batang Brotowali (*Tinospora crispa* L.) Sebagai Insektisida Alami Untuk Pengendalian Hama Wereng Coklat (*Nilaparvata lugens* S.) Pada Tanaman Padi (*Oryza sativa* L.). Skripsi. Program Studi Biologi FMIPA Universitas Semarang.
- Sulastri, L; Syamsudin dan P. Simanjuntak. 2018. Karakterisasi Senyawa Penghambat Polimerasi Heme dari Batang Brotowali (*Tinospora crispa* (L.)). *Jurnal Biopropal Industri*: 9(2): 79-86.
- Suanda, I.W dan N.M.D. Resiani. 2020. The Activity of Nimba Leaves (*Azadirachta indica* A. Juss.) Extract Insecticide as Vegetative Pesticide on Rice Weevil (*Sitophilus oryzae* L.) (Coleoptera: Curculionidae). *Jurnal SEAS (Sustainable Environment Agricultural Science)*: 04 (01) : 10-17.
URL: [http://download.garuda.ristekdikti.go.id/article.php?article=1635996&val=13806&title=THE%20ACTIVITY%20OF%20NIMBA%20LEAVE%20AZADIRACHTA%](http://download.garuda.ristekdikti.go.id/article.php?article=1635996&val=13806&title=THE%20ACTIVITY%20OF%20NIMBA%20LEAVE%20AZADIRACHTA%20)
- Suanda, I.W. dan I.B.G. Darmayasa. 2007. Uji Aktivitas Fungisida Ekstrak Sembung Delan (*Sphaeranthus indicus* L.) terhadap *Phytophthora*

WIDYA BIOLOGI

infestans Penyebab Penyakit Hawar daun pada Tanaman Kentang di Desa Pancasari Kabupaten Buleleng. Majalah Ilmiah Widwasrama Universitas Dwijendra Denpasar, Periode Oktober, hal. 35-42. ISSN 0852-7768.

URL:

<http://repository.ikipgribali.ac.id/27/1/MAJALAHILMIAH UNDWI.pdf>

Suanda, I.W. 2007. Pelestarian Keanekaragaman Hayati Tumbuhan sebagai Bahan Pestisida Ramah Lingkungan. Program Studi Biologi FPMIPA IKIP PGRI Bali, Prosiding Seminar Nasional Prodi Biologi FMIPA UNHI ISBN:978-602-9138-68-9.

URL:http://digilib.mercubuana.ac.id/manager/t!@file_artikel_abstrak/Isi_Artikel_314585297113.pdf

Suanda, I.W. 2002. Aktivitas Insektisida Ekstrak Daun Brotowali (*Tinospora crispa* L.) Terhadap larva *Plutella xylostella* L. Tesis. P.S. Bioteknologi Pertanian Program Pascasarjana Universitas Udayana.

URL:

<http://repo.ikipgribali.ac.id/id/eprint/55/1/TESES%20HKI.pdf>

Sukadana I.M; Wiwik, S.R dan Frida, R.K. 2007. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Antimakan dari Batang Tumbuhan Brotowali. Jurnal Kimia: 1(1): 55-61.

Sinulingga, 2006. Telaah residu organoklor pada wortel *Daucus Carota* L. Dikawasan sentra Kab.Karo Sumatra Utara. Jurnal Sistem Teknik Industri, 7(1): 92-97.

Wiratno; H. Nurhayati dan Sujianto. 2019. The utilization of bitter grape (*Tinospora crispa* (L.) Hook.f & Thomson) as botanical pesticide. Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat. Jurnal Perspektif: 18(1): 28- 39.

Wiratno, M.R dan I W. Loba. 2011. Potensi Ekstrak Tanaman Obat dan Aromatik sebagai Pengendali Keong Mas. Buletin Litro 22(1): 54-64