

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pengendalian hama merupakan salah satu tantangan utama dalam pertanian, terutama dalam menghadapi serangan dan organisme pengganggu tanaman. Pestisida sintesis telah lama menjadi solusi utama dalam pengendalian hama karena kemampuannya dalam menekan populasi hama secara cepat dan efektif (Rajak et al., 2023). Namun, penggunaan pestisida yang tidak bijaksana dapat menyebabkan resistensi hama dan kematian serangga predator. Selain itu, konsumen produk pertanian juga mulai meninggalkan penggunaan pestisida karena alasan kesehatan (Aktar et al., 2009; Bernardes et al., 2015).

Salah satu alternatif yang tengah dikembangkan adalah penggunaan senyawa alami dari tumbuhan sebagai agen pengendalian hama. Senyawa bioaktif yang berasal dari tanaman aromatik dan tanaman obat, telah menjadi pilihan yang semakin populer (Awad et al., 2024) dan telah digunakan dalam berbagai formulasi pengendalian hama. Kelompok tanaman aromatik diantaranya famili botani, seperti Annonaceae, Asteraceae, Canellaceae, Lamiaceae, Malvaceae, Meliaceae, Rutaceae, Myrtaceae, dan Polygonaceae mengandung senyawa yang bersifat toksik terhadap serangga hama (Bakkali et al., 2008; Bedini et al., 2024).

Pengembangan senyawa asal tanaman dapat mengatur perilaku serangga, seperti penghambat makan, penghambat oviposisi, dan repelen yang dianggap lebih efektif dibandingkan dengan pengembangan senyawa yang hanya membunuh serangga hama seperti insektisida sintetik (Lengai et al., 2020). Minyak atsiri yang diekstrak dari rimpang *Zingiber nimmonii* telah dilaporkan memiliki senyawa insektisida yang efektif terhadap vektor penyakit, seperti *Anopheles stephensi* (vektor malaria), *Aedes aegypti* (vektor demam berdarah), dan *Culex quinquefasciatus* (vektor filariasis limfatik) (Govindarajan et al., 2016).

Berbagai penelitian telah dilakukan mengenai sifat repelen dari tanaman sebagai agen pengendalian hama pertanian. Keunggulan senyawa repelen asal tanaman dibandingkan pestisida sintetik adalah bahwa repelen tidak membunuh hama secara langsung, tetapi mengusir hama dari lokasi yang telah diberi perlakuan, sehingga mengurangi aktivitas makan, kawin, atau bertelur di area tersebut (Hikal et al., 2017). Mekanisme ini membantu menekan populasi hama tanpa memberikan tekanan selektif yang dapat

menyebabkan resistensi. Senyawa repelen yang berasal dari tumbuhan telah menunjukkan hasil yang menjanjikan dalam mengusir berbagai jenis hama pertanian, seperti kutu daun, thrips, dan lalat putih, yang menyebabkan kerusakan signifikan pada tanaman (Conboy et al., 2020). Selain itu, senyawa repelen dari tumbuhan menawarkan alternatif yang ramah lingkungan karena memiliki tingkat toksisitas yang lebih rendah terhadap organisme non-target, termasuk serangga penyerbuk seperti lebah (Souto et al., 2021).

Senyawa repelen dapat bervariasi tergantung pada faktor seperti spesies tanaman, metode ekstraksi, dan kondisi lingkungan (Luker et al., 2023). Beberapa senyawa bioaktif dalam minyak atsiri, seperti monoterpen, seskuiterpen, dan fenilpropanoid, telah terbukti memiliki aktivitas repelen yang kuat terhadap serangga hama (Ayllón-Gutiérrez et al., 2024). Sebagai contoh, minyak citronella yang diperoleh dari spesies *Cymbopogon* telah dikenal luas karena sifat repelen-nya dan sering digunakan dalam formulasi komersial untuk pengendalian nyamuk (Tibenda et al., 2022). Demikian pula, minyak atsiri dari spesies *Ocimum*, seperti basil (*Ocimum basilicum*), telah menunjukkan potensi sebagai bio-repelen terhadap hama pertanian (Rodríguez-González et al., 2019). Namun, penelitian mengenai senyawa repelen masih lebih banyak difokuskan pada serangga penghisap dan pengunyah, seperti kutu daun (Aphididae), thrips (Thripidae), dan lepidoptera perusak daun (Smagghe et al., 2023). Sementara itu, isopoda sebagai kelompok krustasea darat sering kali diabaikan dalam strategi pengelolaan hama meskipun mereka dapat menyebabkan kerusakan signifikan pada tanaman muda dan bibit. Dalam klasifikasi Arthropoda, isopoda termasuk dalam subfilum Crustacea, yang umumnya terdiri atas organisme akuatik seperti udang dan kepiting, namun juga mencakup sekitar 3.700 spesies terestrial (Sfendourakis & Taiti, 2015). Banyak spesies isopoda darat yang berkontribusi terhadap keanekaragaman hayati tanah sebagai dekomposer (Souty-Grosset & Faberi, 2018). Selain itu, mereka juga berperan dalam penyebaran benih tanaman (Saska, 2008), yang memperkuat kontribusinya dalam perkembangan vegetasi dan kesuburan tanah. Namun demikian, meskipun memiliki manfaat ekologis, beberapa spesies seperti *Armadillidium vulgare* atau pillbug dapat berperilaku sebagai hama jika populasi mereka berlebihan dan dapat menyebabkan kerusakan langsung pada tanaman budidaya dengan memakan jaringan lunak, akar, dan batang muda (Souty-Grosset & Faberi, 2018; van Gestel et al., 2018).

Saat ini, metode pengendalian *A. vulgare* masih bergantung pada teknik mekanis, seperti sanitasi lahan dan penggunaan perangkap, serta

aplikasi pestisida sintetis. Namun, pendekatan ini memiliki keterbatasan, terutama dalam hal efektivitas jangka panjang dan dampak lingkungan yang ditimbulkan. Oleh karena itu, diperlukan eksplorasi terhadap alternatif repelen berbasis tumbuhan yang lebih aman dan efektif untuk mengendalikan isopoda di lahan pertanian.



Gambar 1. Pillbug (*Armadillidium vulgare*)

Persicaria chinensis (Polygonaceae) atau Chinese knotweed merupakan tumbuhan yang dikenal memiliki berbagai senyawa bioaktif dengan aktivitas farmakologis, seperti antioksidan, antiinflamasi, antibakteri, dan antifungal (Idoudi et al., 2024). Beberapa penelitian telah mengungkapkan bahwa ekstrak dari *P. chinensis* mengandung flavonoid, tanin, dan saponin, yang berpotensi memiliki efek repelen terhadap berbagai jenis serangga dan arthropoda lainnya (Kotwal, 2024). Namun, sejauh ini, studi mengenai aktivitas repelen *P. chinensis* terhadap isopoda masih sangat terbatas.



Gambar 2. Chinese knotweed (*Persicaria chinensis*)

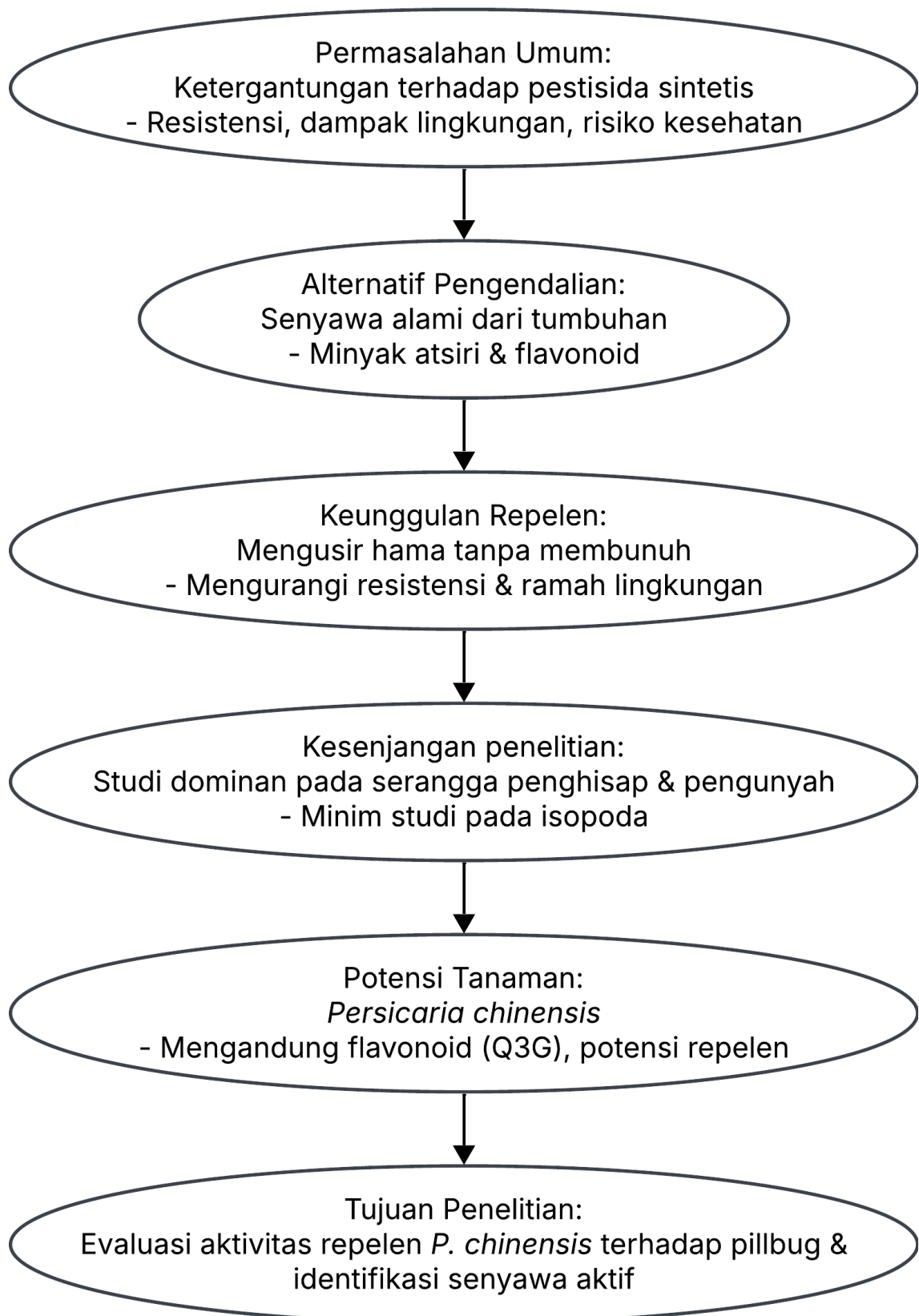
Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi efek senyawa repelen dari *P. chinensis* terhadap isopoda, pillbug (*A. vulgare*). Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa aktif dalam ekstrak *P. chinensis* yang berkontribusi terhadap aktivitas repelen, serta menguji efektivitasnya dalam mengusir *A. vulgare* dari area perlakuan. Dengan demikian, hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan wawasan baru mengenai potensi *P. chinensis* sebagai sumber repelen alami yang dapat digunakan dalam pengelolaan hama pertanian secara berkelanjutan.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah ekstrak dari *P. chinensis* memiliki aktivitas repelen terhadap *A. vulgare*?
2. Senyawa aktif apa yang berperan dalam aktivitas repelen dari ekstrak *P. chinensis*?
3. Seberapa besar pengaruh senyawa aktif tersebut sebagai repelen terhadap *A. vulgare*?

1.3 Tujuan dan Manfaat Penelitian

1. Mengetahui aktivitas repelen ekstrak *P. chinensis* terhadap *A. vulgare* serta mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa aktif yang berperan dalam aktivitas repelen tersebut.
2. Mengevaluasi efektivitas senyawa aktif yang diisolasi sebagai repelen terhadap *A. vulgare*, sehingga dapat memberikan alternatif pengendalian hama yang lebih ramah lingkungan dibandingkan insektisida sintetis.
3. Menyediakan informasi ilmiah mengenai potensi *P. chinensis* sebagai sumber repelen alami, yang dapat menjadi dasar bagi penelitian lanjutan dalam pengembangan formulasi repelen berbasis senyawa alami untuk aplikasi pertanian.



Gambar 3. Flowchart kerangka pikir penelitian

BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari hingga Desember 2024 di laboratorium Biologi Kimia, Kochi University, Jepang. Pengambilan sampel tanaman (*P. chinensis*) dan pillbug (*A. vulgare*) dilakukan di lingkungan kampus Kochi University, kampus Monobe serta area sekitar hutan Universitas (Pusat Pendidikan dan Penelitian Lapangan Reihoku).

2.2 Alat dan Bahan

2.2.1 Alat

- High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) Shimadzu LC-20
- Preparatif HPLC Shimadzu LC-6AD
- Spektrometer Massa Thermo Fisher Vanquish HPLC-Orbitrap Exploris 120
- Spektrometer Resonansi Magnetik Nuklir (NMR) JNM-ECA 500
- Kolom kromatografi silika gel dan fase terbalik ODS (octadecyl-bonded silica)
- Nampan plastik uji repelen (23 cm × 30 cm)
- Kertas saring (diameter 70 mm, #2; Advance, Toyo Roshi Kaisha, Ltd, Tokyo, Jepang)
- Evaporator vakum RE201 Yamato Scientific Co, Ltd.
- Mikropipet dan peralatan laboratorium lainnya

2.2.2 Bahan

- Sampel tanaman *Persicaria chinensis*
- Pillbug (*A. vulgare*) stadium dewasa
- Pelarut: n-heksana, dietil eter, etil asetat, metanol, asetonitril, air, dan asam asetat
- Larutan standar untuk analisis kromatografi

2.3 Metode Penelitian

2.3.1 Uji Repelensi Ekstrak *P. chinensis* terhadap *A. vulgare*

Aktivitas repelen diuji menggunakan metode uji pilihan berdasarkan (Morisawa et al., 2002) dengan modifikasi. Larutan uji (1 g berat segar tanaman setara/mL: g eq/mL) diaplikasikan pada seperempat bagian kertas

saring (*filter paper*) berbentuk lingkaran dan dikeringkan pada suhu 25°C. Kertas saring perlakuan dan kontrol ditempatkan di empat sudut nampan plastik secara berselang-seling.

Sebanyak 20 ekor *A. vulgare* ditempatkan di tengah nampan dalam kondisi pencahayaan redup selama 30 menit. Jumlah isopoda yang berada pada kertas perlakuan dan kontrol dihitung, dan uji dilakukan sebanyak lima kali. Analisis statistik dilakukan menggunakan uji t-test di Microsoft Excel 2019 dengan tingkat signifikansi $P < 0,05$.

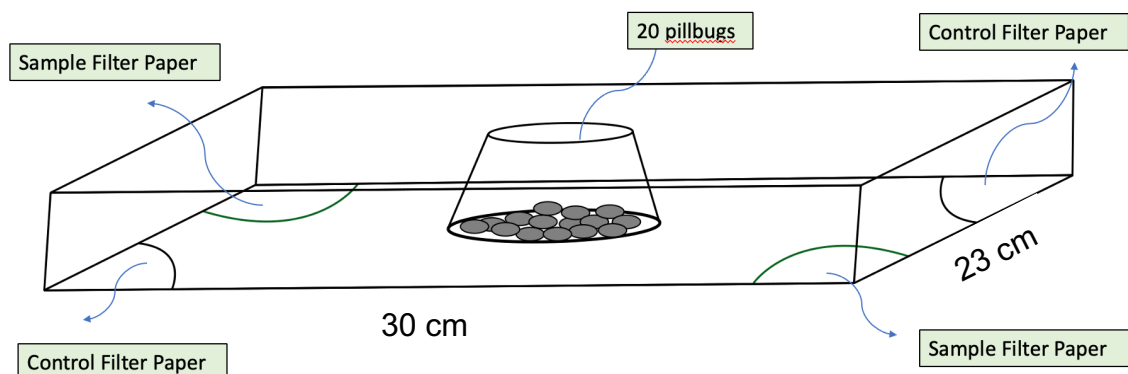
Tingkat repelensi dihitung menggunakan rumus:

$$RR: \text{Repellency rate (\%)} = ARS (\%) - ARC (\%)$$

$$\begin{aligned} ARS & (\text{Arresting rate of the sample treatment (\%)}) \\ &= S / (S + C) \times 100 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} ARC & (\text{Arresting rate of the control treatment (\%)}) \\ &= C / (S + C) \times 100 \end{aligned}$$

Di mana S dan C masing-masing merupakan jumlah isopoda yang ditemukan pada kertas saring yang telah diberi perlakuan dan kontrol. Setiap sampel diuji sebanyak lima kali. Jika nilai $P < 0,05$, maka hasil RR dikategorikan menjadi tiga tingkatan: ++ ($\geq 90\%$ / sangat aktif), + (antara 70% dan $< 90\%$ / aktif), serta $\pm$ ($< 70\%$ / kurang aktif). Sebaliknya, jika nilai $P \geq 0,05$, maka aktivitas repelen dianggap tidak ada (-) meskipun nilai RR menunjukkan efek tertentu.



Gambar 4. Ilustrasi metode uji repelen terhadap *A. vulgare*

2.3.2 Skrining Aktivitas Repelen Ekstrak *P. chinensis* terhadap *A. vulgare*

Bahan tanaman *P. chinensis* untuk uji skrining dikumpulkan dari kampus Universitas Kochi Monobe, Hutan Universitas (Pusat Pendidikan dan Penelitian Lapangan Reihoku untuk Ilmu Lapangan Subtropis), serta sepanjang bantaran sungai Monobe di Kota Nankoku, Prefektur Kochi, Jepang. Setelah dipisahkan menjadi bagian tunas dan akar, tanaman segar yang dikumpulkan segera direndam dalam larutan campuran air:metanol (10:90, v/v) dengan volume 10 kali lipat dari berat tanaman. Ekstraksi dilakukan pada suhu 5°C selama lebih dari satu minggu.

Setelah proses filtrasi, setiap ekstrak dikonsentrasikan menggunakan penguapan vakum hingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 1 g eq/mL. Larutan uji kemudian disimpan pada suhu 5°C hingga digunakan untuk pengujian lebih lanjut.

2.3.3 Pemurnian Senyawa Repelen

1. Preparasi Sampel

Sampel tanaman berupa bagian pucuk (shoots) diekstraksi menggunakan metode partisi cair-cair untuk memisahkan fraksi berdasarkan kepolarannya.

2. Fraksinasi Ekstrak Kasar

Ekstrak kasar (1000 g eq) dipartisi menggunakan pelarut bertingkat:

- Lapisan n-heksana
- Lapisan etil eter
- Lapisan etil asetat
- Lapisan air

Dari fraksi-fraksi tersebut dilakukan bioassay dan dipilih yang mengandung komponen bioaktif dominan untuk pemurnian lebih lanjut.

3. Kromatografi Kolom Silika Gel

Fraksi EtOAc (950 g eq) difraksinasi menggunakan kromatografi kolom silika dengan eluen bertingkat:

- 20% EtOAc/n-heksana
- 50% EtOAc/n-heksana
- 100% EtOAc
- 10% metanol (MeOH)/EtOAc
- 50% MeOH/EtOAc
- 100% MeOH

Dari fraksi-fraksi tersebut dilakukan bioassay dan dipilih yang mengandung komponen bioaktif dominan untuk pemurnian lebih lanjut dengan kromatografi kolom silika tahap kedua dengan eluen bertingkat:

- 60% EtOAc/n-heksana
- 70% EtOAc/n-heksana
- 80% EtOAc/n-heksana
- 90% EtOAc/n-heksana
- 100% EtOAc

Dari fraksi-fraksi tersebut dilakukan bioassay dan dipilih yang mengandung komponen bioaktif dominan untuk pemurnian lebih lanjut.

4. Kromatografi Kolom Fasa Terbalik

Fraksi terpilih (700 g eq) dimurnikan dengan kromatografi fasa terbalik dengan kolom ODS (octadecyl-bonded silica) menggunakan eluen bertingkat:

- 10% MeOH/H₂O
- 20% MeOH/H₂O
- 30% MeOH/H₂O
- 50% MeOH/H₂O
- 1st 100% MeOH/H₂O
- 2nd 100% MeOH/H₂O

Dari fraksi-fraksi tersebut dilakukan bioassay dan dipilih yang mengandung komponen bioaktif dominan untuk pemurnian lebih lanjut.

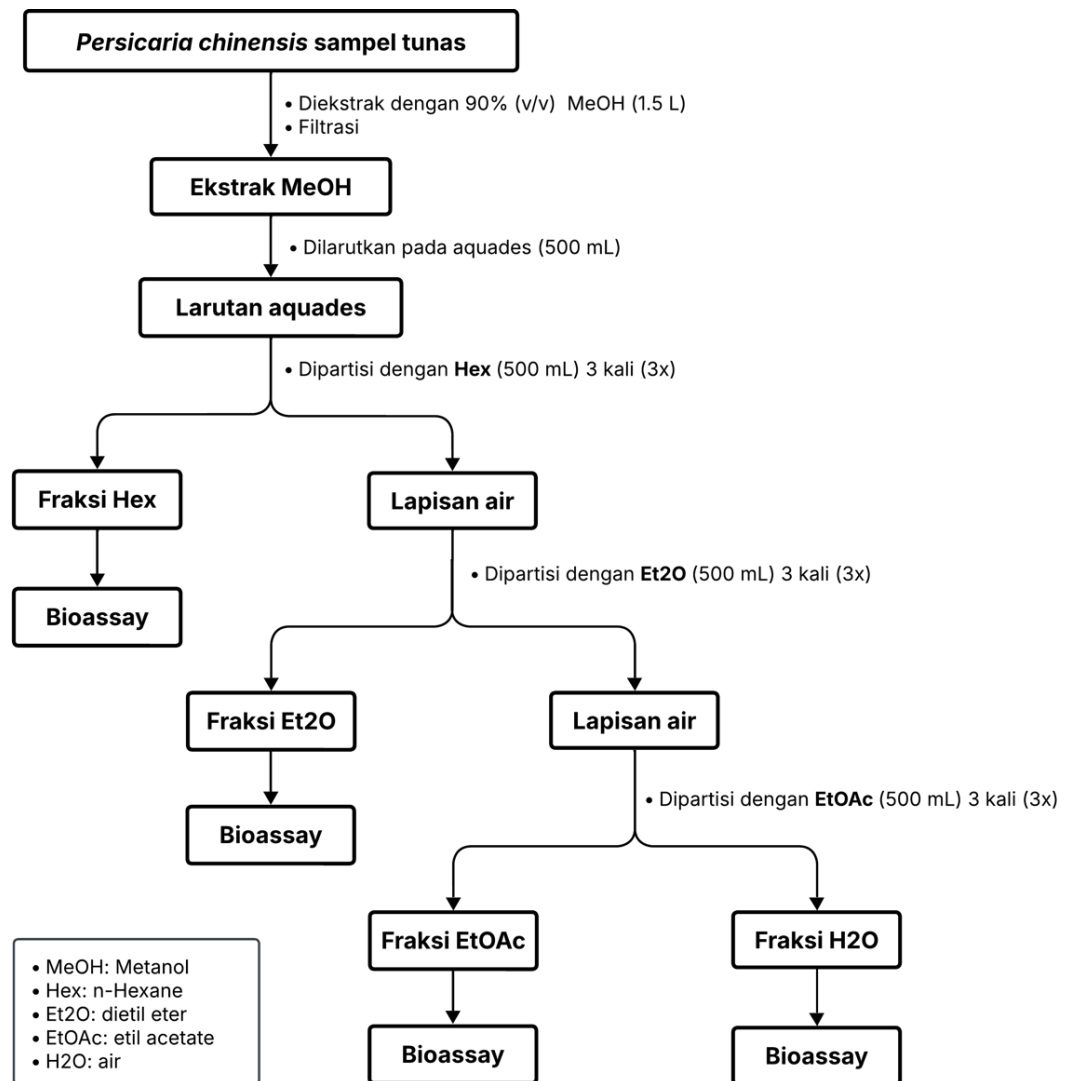
5. Pemisahan Preparatif

Fraksi yang diperoleh dari kromatografi fasa terbalik (500 g eq) dipisahkan lebih lanjut menjadi beberapa fraksi:

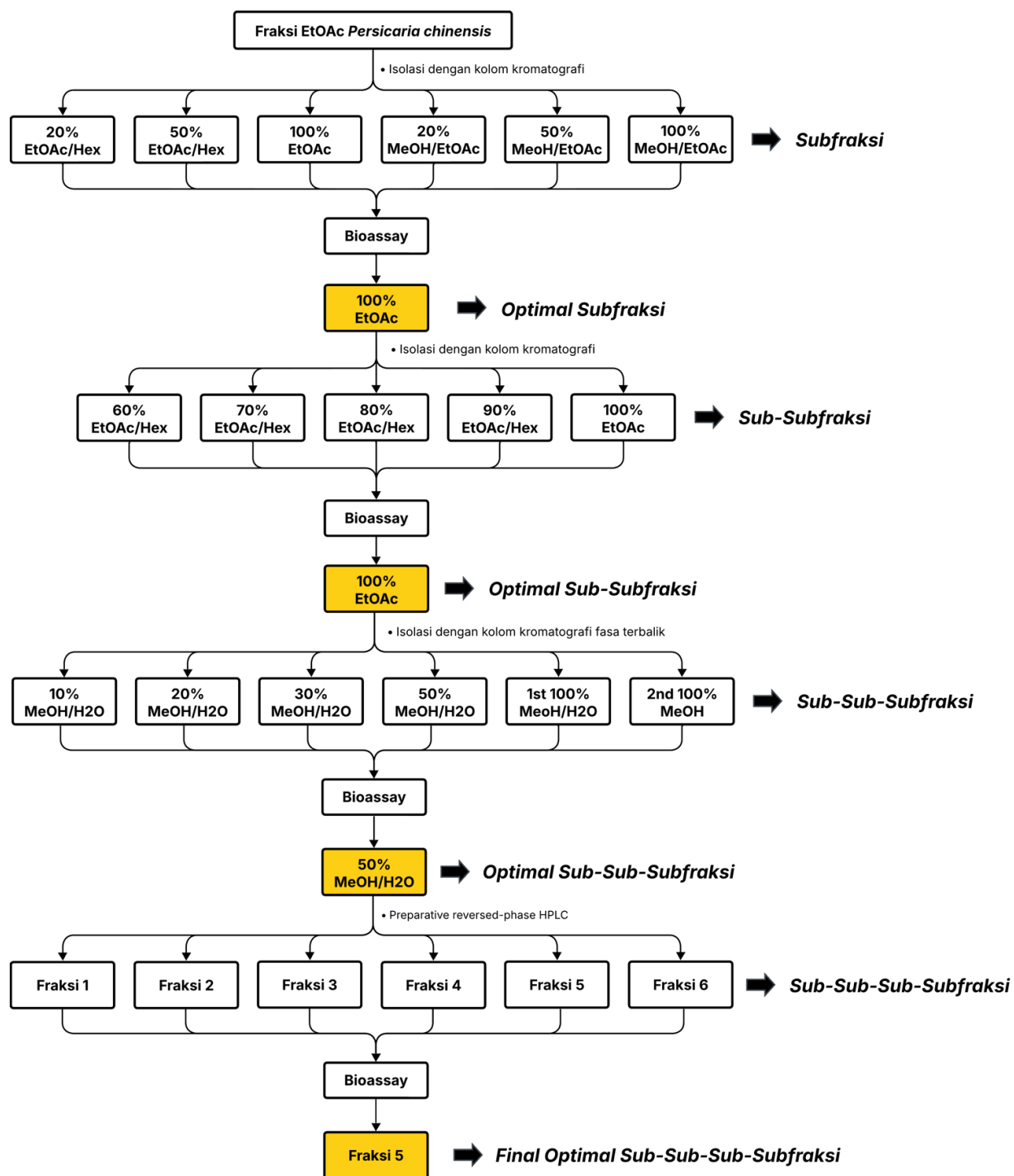
- Fraksi 1
- Fraksi 2
- Fraksi 3
- Fraksi 4
- Fraksi 5
- Fraksi 6

Dari fraksi-fraksi tersebut dilakukan bioassay dan dipilih yang mengandung komponen bioaktif dominan untuk identifikasi.

Alur penelitian tahap partisi cair-cair disajikan pada Gambar 5 dan alur isolasi pada Gambar 6.



Gambar 5. Diagram alur partisi cair-cair bertahap dari ekstrak tanaman obat dan bioassay.



Gambar 6. Diagram alur prosedur isolasi langkah demi langkah dari fraksi Etil acetate dari ekstrak *P. chinensis*.

Keterangan:



: Kotak kuning menunjukkan subfraksi atau subfraksi optimal dengan aktivitas repelen serangga terkuat terhadap *A. vulgare*.

2.3.4 Identifikasi Senyawa Repelen

1. Analisis HPLC

Analisis kromatografi cair kinerja tinggi (High-performance liquid chromatography, HPLC) dilakukan menggunakan sistem HPLC Shimadzu LC-20 (Shimadzu Corp., Kyoto, Jepang), yang terdiri atas dua pompa (LC-20AD XR), autosampler (SIL-20AC XR), detektor array dioda (SPD-M20A) dengan mikrocell, oven kolom (CTO-20A), serta pengontrol (CBM-20A). Operasi dikendalikan dengan perangkat lunak Lab Solution ver. 5.80, dan dilakukan dengan kondisi berikut:

- Kolom: Mightysil RP-18 GP (150 mm × 4,6 mm, 3 µm; Kanto Chemical Co., Inc., Tokyo, Jepang)
- Gradien linear: 15% B selama 1 menit, kemudian 15%-98% B selama 16 menit
- Fase gerak:
 - A = air:asam asetat (99:1, v/v)
 - B = asetronitril:asam asetat (99:1, v/v)
 - Laju aliran: 0,8 mL/menit
 - Suhu oven kolom: 40°C

HPLC preparatif dilakukan dengan menggunakan sistem HPLC Shimadzu LC-6AD, yang terdiri dari beberapa pompa (LC-6AD), autosampler surveyor (SIL-10ADvp), detektor larik dioda (SPD-M10Avp), oven kolom (CTO-10Avp), pengumpul fraksi (FRC-10A), dan pengontrol (SCL-10Avp). Sistem HPLC dioperasikan menggunakan perangkat lunak Lab Solution (ver. 5.80) sesuai dengan kondisi yang dijelaskan dalam metode pemurnian.

2. Analisis LC-ESI-MS

Analisis LC-ESI-MS dilakukan menggunakan sistem Thermo Fisher Vanquish HPLC yang dikombinasikan dengan spektrometer massa Orbitrap Exploris 120. Parameter yang digunakan meliputi:

- Kolom: Thermo Fisher Hypersil GOLD C18 (150 mm × 2,1 mm, 3 µm)
- Laju aliran: 0,3 mL/menit
- Suhu kolom: 35°C
- Fase gerak:
 - A = 0,1% asam format dalam air
 - B = 0,1% asam format dalam asetronitril
- Mode ionisasi: ESI positif dan negative
- Tegangan semprotan: 3,5 kV
- Suhu kapiler: 325°C

3. Analisis NMR

Spektrum resonansi magnetik nuklir (Nuclear Magnetic Resonance, NMR) direkam menggunakan instrumen JNM-ECA 500 (JEOL Ltd, Tokyo, Jepang) dengan pelarut dimetil sulfoksida-d6 (DMSO-d6). Pergeseran kimia dinyatakan dalam satuan δ , dan jenis sinyal diklasifikasikan sebagai singlet (s), doublet (d), serta triplet (t).

2.4 Analisis Data

Data hasil uji repelensi dianalisis menggunakan uji t-test dengan SPSS versi 29. Tingkat signifikansi ditetapkan pada $P < 0,05$.