

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA AKTIF LARVASIDA
DARI BIJI MIMBA (*Azadirachta indica* A. Juss) TERHADAP
LARVA NYAMUK DEMAM BERDARAH (*Aedes aegypti*)**

I W. Suirta, N. M. Puspawati, dan N. K. Gumiasi

Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana, Bukit Jimbaran

ABSTRAK

Isolasi dan identifikasi senyawa aktif larvasida terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* dari biji mimba (*Azadirachta indica* A.Juss) telah dilakukan. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol. Hasil maserasi 1 Kg serbuk kering Biji Mimba diperoleh 30 g ekstrak kental etanol. Ekstrak kental etanol tersebut disuspensikan ke dalam campuran metanol air (7:3), kemudian dipartisi berturut-turut dengan n-heksana, kloroform, dan etilasetat. Penguapan pelarut dari masing-masing ekstrak tersebut diperoleh 6,52 g ekstrak n-heksana, 1,20 g ekstrak kloroform dan 0,89 g ekstrak etilasetat. Hasil uji aktifitas larvasida terhadap ketiga ekstrak kental tersebut ternyata ekstrak kental n-heksana memiliki paling tinggi dengan nilai LC₅₀ 143, 97 ppm. Pemisahan dengan kromatografi kolom, diperoleh 0,19 g isolat aktif anti larvasida (F₁) yang berwarna coklat kekuningan. Hasil uji fitokimia menunjukkan fraksi F₁ tidak mengandung metabolit sekunder tetapi termasuk golongan asam karboksilat dengan karakteristik gugus fungsi C-H stretching alifatik, C-H bending alifatik, dan gugus karbonil (C=O), serta menyerap sinar UV-vis pada λ_{\max} 290,1 nm yang kemungkinan disebabkan karena adanya transisi n- π^* . Identifikasi dengan GC-MS menunjukkan adanya 7 puncak senyawa dengan waktu retensi relatif berdekatan dimana ke-7 puncak senyawa tersebut merupakan golongan asam-asam lemak yaitu asam palmitat, asam stearat, asam oleat, etil oleat, asam oktadekanoat, etil ester oktadekanoat, ester dioktil heksadioat.

Kata kunci : isolasi, identifikasi, *Aedes aegypti*, *Azadirachta indica* A. Juss, Meliaceae

ABSTRACT

Isolation and identification of larvicidal active compounds towards *Aedes aegypti* from Mimba seed have been conducted. One kilogram dry powder of Mimba seed was extracted with ethanol at room temperature. Evaporation of ethanol gave 30 g of crude ethanol extract which showed activity against *Aedes aegypti* (LC₅₀ 282.29). This extract was dissolved into methanol-water (7:3) and was then partitioned with n-hexane, chloroform and ethyl acetate respectively. The three extracts obtained i.e. n-hexane, chloroform and ethyl acetate were showed their activity against *Aedes aegypti* in which the n-hexane extract was the most active with LC₅₀ of 143.97. Therefore the n-hexane extract was further purified using silica gel column chromatography with chloroform:n-hexane (9:1) as eluent. Three fractions was obtained i.e. F₁, F₂ and F₃ and they were all active against *Aedes aegypti* with LC₅₀ 78.45, LC₅₀ 113.54 and LC₅₀ 58.70 respectively. It can be seen that F₃ was the most active fractions but from TLC result, F₁ showed the relatively pure compounds since it only gave one spot. Therefore F₁ was further identified using phytochemical testing, UV-Vis, infrared and GC-MS. It was found that the larvicidal active compounds F₁ was belong to carboxylic acids groups, with λ_{\max} 290.1 having functional groups such as methyl, methylene and carbonil. Identification using GC-MS indicated that the larvicidal active compounds F₁ was assumed to be a combination of 7 compounds derived from carboxylic acids including hexa-decanoic acid, etil-hexadecanoate, oleic acid, etyl-oleate ester, octadecanoic acid, etyl-octadecanoate and dioctyl-hexadioate.

Keywords : insolation, identification, *Aegypti Aedes*, *Azadirachta Indika* A. Juss, Meliaceae.

PENDAHULUAN

Dewasa ini berbagai macam penyakit tropis ditularkan oleh nyamuk. Penyakit malaria misalnya ditularkan oleh nyamuk *Anoples* dan demam berdarah ditularkan oleh nyamuk *Aedes aegypti*. Penyakit-penyakit ini masih merupakan endemik di lebih 100 negara dan setengah dari populasi dunia terancam olehnya (Manuel, 1992).

Di Indonesia masalah besar yang dihadapi akhir-akhir ini adalah banyaknya warga yang terjangkit virus demam berdarah. Awal tahun 2005, tercatat 28.224 kasus demam berdarah terjadi di seluruh Indonesia, dengan jumlah kematian 348 orang. Kasus ini meningkat hingga awal Oktober 2005, dimana di 33 provinsi kasus ini mencapai 50.196 kasus, dengan 701 diantaranya meninggal dunia. Daerah yang terkena demam berdarah terbesar di Indonesia adalah DKI Jakarta (14.200 kasus) sementara kasus kematian tertinggi terjadi di Jawa Barat (147 orang) (Rukmana, 2002). Akhir tahun 2006 hingga awal tahun 2007 kasus demam berdarah terjadi lagi di beberapa daerah di Indonesia.

Banyaknya kasus deman berdarah ini seiring dengan datangnya musim hujan yang menyebabkan banyaknya genangan air. Deman berdarah ditularkan oleh nyamuk *Aedes aegypti* yang telah terjangkit virus. Berbagai alternatif sudah dilakukan untuk mengatasi penyakit deman 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, namun cara ini kurang efektif karena hanya bertahan beberapa minggu dan

harganya cukup mahal. Untuk mengatasi gangguan nyamuk dapat juga dilakukan dengan cara *fogging* yang bertujuan membasmi nyamuk dewasa dan dapat juga dilakukan dengan menyemprotkan obat anti nyamuk disekitar rumah atau dengan mengoleskan lotion anti nyamuk pada badan.

Pencarian metode-metode baru untuk membasmi sumber penularan penyakit demam berdarah sangat penting dan mendesak, karena penyakit ini telah menulari 200 juta orang dan membunuh 1 juta orang tiap tahun diseluruh dunia. Metode yang dikembangkan oleh WHO untuk memerangi penyakit demam berdarah adalah sama seperti metode yang digunakan untuk memerangi penyakit malaria yaitu dengan membasmi sumber penularannya yaitu larva nyamuk (Manuel, 1992). Penelitian senyawa aktif bahan alam yang dapat digunakan sebagai agen larvasida belum banyak dilakukan. Krause, F., dkk (1992) telah mengisolasi senyawa aktif agen larvasida golongan poliasetilen dari tanaman *artemesia borealis* yang termasuk famili astereaceae. Kemungkinan juga terdapat golongan senyawa lainnya yang aktif sebagai agen larvasida dari tanaman ini namun belum dilakukan penelitian lebih lanjut. (Manuel, 1992)

Indonesia merupakan salah satu negara berkembang yang mempunyai cukup sumber daya alam diantaranya sumber daya alam hayati. Kondisi alam Indonesia yang cukup subur disebabkan letak geografis yang dilewati oleh garis khatulistiwa, dan memiliki iklim tropis yang sangat cocok bagi tumbuh dan berkembangnya berbagai tanaman. Banyak tanaman saat ini yang tidak dikenal secara luas ternyata memiliki manfaat dan nilai ekonomis yang cukup tinggi, khususnya tanaman-tanaman yang memiliki khasiat, baik sebagai obat tradisional maupun sebagai insektisida alami (Fornswort, 1966).

Salah satu tanaman yang sangat potensial untuk dikembangkan sebagai agen larvasida adalah tanaman mimba. Tanaman mimba banyak dijumpai di Bali dan manfaatnya sangat banyak bagi kehidupan manusia. Manfaat tanaman mimba antara lain; mengembalikan kesuburan tanah yang terdegradasi, sebagai pakan ternak, pestisida alami, obat anti nyamuk, pupuk, obat diabetes, dan pasta gigi. Minyak mimba telah digunakan secara turun-temurun oleh masyarakat di daerah tropis untuk mengobati penyakit kulit seperti eksim, bisul, luka bakar, dan jerawat (Wiryowidagdo, 2002).

Bahan aktif biji mimba bermanfaat untuk mengusir serangga pengganggu, mencegah hama pemakan tanaman, menghalau larva dan serangga dewasa, mencegah terjadinya pergantian kulit larva, menurunkan produksi telur pada serangga betina, dan mencegah serangga betina meletakkan telur. Senyawa-senyawa yang diyakini sebagai bahan aktif insektisida adalah nimbin (nimbinen), nimbidin, meliantriol, azadirachtin dan salanin yang merupakan senyawa kimia dari kelompok terpena. Ekstrak yang dibuat dari biji mimba dapat digunakan untuk mengendalikan berbagai jenis hama seperti *Helopeltis sp.*, ulat jengkal, *Aphis sp.*, *Nilavata sp.*, dan *Sitophilus sp.* (Wiryowidagdo, 2002).

Biji mimba mengandung 60 % minyak atau lemak dari asam stearat, palmitat, oleat, linoleat, laurat, butirir dan sejumlah kecil minyak atsiri (Wiryowidagdo, 2002). Kandungan senyawa lain yang diketahui dari biji mimba adalah fenol, kuinon, alkaloid, triterpenoid dan flavonoid. Residu dari biji mimba mudah terurai menjadi senyawa tidak beracun, sehingga ramah dan aman bagi lingkungan (Eugene, 1992).

Dalam rangka mencari senyawa-senyawa alam baru sebagai agen larvasida telah dilakukan uji pendahuluan untuk mengetahui aktivitas biologi ekstrak etanol

biji mimba terhadap larva nyamuk demam berdarah *Aedes aegypti* dan juga uji pendahuluan fitokimia.

Hasil uji pendahuluan menunjukkan ekstrak etanol biji mimba aktif sebagai agen larvasida dengan nilai LC_{50} 282,29 ppm. Hasil uji fitokimia menyatakan ekstrak etanol biji mimba mengandung senyawa-senyawa metabolit sekunder golongan triterpenoid, flavonoid dan alkaloid.

Berdasarkan latar belakang dan pemanfaatan secara tradisional serta dari uji pendahuluan, maka perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui senyawa aktif agen larvasida dari biji mimba dengan menggunakan larva nyamuk demam berdarah *Aedes aegypti* sebagai bioindikator

MATERI DAN METODE

Bahan

Bahan-bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol, metanol, kloroform, butanol, asam sulfat pekat, etil asetat, natrium hidroksida, aluminium klorida, kalium bromida, plat silika gel GF₂₅₄ dan silika gel 60, n-heksana, asam asetat, dimetilsulfoksida, biji mimba, larva nyamuk *Aedes aegypti*.

Peralatan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah ; pisau, blender, neraca analitik, gelas beker, corong, erlenmeyer, pipet mikro, penguap putar vakum, desikator, pipet tetes, tabung reaksi, gelas arloji, seperangkat alat kromatografi lapis tipis (KLT), seperangkat alat kromatografi kolom (KK), lampu UV 254 dan 366 nm, spektrofotometer ultra violet-visible (UV-vis), spektrofotometer inframerah (IR) (PERKIN ELMER FT/IR-5300), pelet KBr, dan spektrometer GC-MS.

Prosedur Kerja

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji tanaman mimba yang sudah tua (*Azadirachta indica* A. Juus) yang dikumpulkan dari Desa Kubu Karangasem. Penyiapan bahan penelitian yang dilakukan diantaranya determinasi tanaman, pengumpulan bahan, pembersihan, pengeringan bahan dengan cara diangin-anginkan (tidak dibawah matahari langsung) dan penggilingan sampai menjadi serbuk dengan menggunakan blender.

Sebanyak 1000 g serbuk biji mimba diekstraksi dengan cara maserasi dengan menggunakan \pm 20 L etanol teknis sampai semua komponen habis terekstraksi. Ekstrak etanol yang diperoleh diuapkan dengan penguap putar vakum sampai kental. Ekstrak kental etanol dilarutkan dengan 100 mL etanol-air dengan perbandingan (7:3). Ekstrak etanol air kemudian dipartisi dengan n-heksana (10 x 50 mL) sehingga didapatkan ekstrak etanol-air dan ekstrak n-heksana. Ekstrak etanol-air diuapkan sampai semua etanol habis menguap kemudian ekstrak air yang tersisa dipartisi berturut-turut dengan kloroform (7 x 50 mL), dan etil asetat (5 x 50 mL). Masing-masing ekstrak yang diperoleh yaitu ekstrak n-heksana, kloroform, dan etil asetat, diuji aktivitas biologisnya terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*, sedangkan ekstrak airnya tidak dilakukan uji aktivitas biologisnya terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*. Fraksi yang paling toksik kemudian dimurnikan dengan kromatografi lapis tipis dan kromatografi kolom. Hasil fraksi yang didapatkan dari pemisahan dengan kromatografi kolom selanjutnya digabungkan dengan menggunakan KLT penggabungan. Fraksi yang didapatkan selanjutnya dilakukan uji toksisitas terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*.

Media larva nyamuk *Aedes aegypti* dibuat dengan mengisi ember dengan air. Telur dari larva nyamuk *Aedes aegypti*

tersebut disimpan pada tempat yang lembab sampai telur dari larva nyamuk tersebut menetas dan siap digunakan dalam pengujian. Sepuluh botol kecil disiapkan untuk pengujian, dimana untuk masing-masing sampel dibutuhkan sembilan botol kecil dan satu botol sebagai kontrol. Ditimbang ekstrak pekat sebanyak 0.0200 g yang dilarutkan dengan 2 mL etanol. Larutan dipipet sebanyak 500; 50; 5 μ L. Masing-masing dimasukkan ke dalam botol kecil, pelarutnya diuapkan selama 24 jam. Kedalam botol dimasukkan 2 mL air, 50 μ L dimetilsulfoksida, 10 ekor larva nyamuk *Aedes aegypti*. Kemudian larutan ekstrak ditambahkan air sampai volumenya menjadi 5 mL dalam konsentrasi 10; 100; 1000 ppm.

Untuk kontrol, ke dalam botol kecil dimasukkan 2 mL air, 50 μ L dimetilsulfoksida, 10 ekor larva nyamuk *Aedes aegypti* kemudian ditambahkan air sampai volumenya 5 mL. Pengamatan dilakukan setelah 24 jam terhadap kematian larva nyamuk. Analisis data dilakukan untuk mencari konsentrasi kematian (LC_{50}).

Setelah proses pemisahan dan pemurnian terhadap isolat murni yang paling toksik dilakukan maka dilanjutkan dengan identifikasi dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-vis, spektrofotometri IR dan spektroskopi GC-MS.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi

Hasil ekstraksi 1000 g biji mimba dengan cara maserasi menggunakan \pm 20 L etanol didapatkan ekstrak kental etanol yang berwarna coklat kehitaman sebanyak 30 g.

Fraksinasi

Ekstrak kental etanol selanjutnya dilarutkan dengan 100 mL etanol-air dengan perbandingan 7:3. Setelah campuran ini dipartisi berturut-turut menggunakan pelarut

n-heksana, kloroform dan etil asetat masing-masing diperoleh ekstrak kental n-heksana yang berwarna hijau kekuningan sebanyak 6,52 g, ekstrak kental kloroform yang berwarna orange sebanyak 1,20 g, dan ekstrak kental etil asetat yang berwarna coklat kekuningan sebanyak 0,89 g. Ketiga ekstrak hasil partisi di atas kemudian diuji toksisitasnya. Uji toksisitas masing-masing ekstrak menunjukkan bahwa ekstrak n-heksana yang paling bersifat toksik terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* dengan nilai LC_{50} 143,97 ppm.

Pemisahan dan Pemurnian

Pemisahan dan pemurnian komponen-komponen kimia pada ekstrak n-heksana dilakukan dengan teknik kromatografi kolom. Sebelum dilakukan pemisahan dengan kromatografi kolom, terlebih dahulu dilakukan pemilihan eluen yang mampu memisahkan senyawa yang terdapat dalam ekstrak n-heksana dengan menggunakan KLT. Beberapa campuran eluen dengan polaritas yang berbeda telah dicoba dalam KLT, untuk memisahkan komponen-komponen kimia pada ekstrak n-heksana. Eluen yang digunakan antara lain; kloroform, n-heksana (1:1), kloroform : n-heksana (7:3), kloroform : n-heksana (8:2), kloroform : etil asetat (7:3), kloroform : n-heksana (9:1). Penotolan cuplikan pada plat KLT dilakukan dengan menggunakan pipet mikro dan diusahakan diameter totolan sekecil mungkin karena jika diameter totolan besar itu akan mengakibatkan terjadinya penyebaran noda-noda dan timbulnya noda berekor. Dengan mengamati jumlah noda/spot terbanyak dan jarak pemisahan antar noda cukup terpisah maka dapat digunakan sebagai dasar pemilihan campuran eluen terbaik yang akan diterapkan dalam pemisahan campuran senyawa menggunakan kromatografi kolom. Eluen kloroform : n-heksana (9:1) memberikan pola pemisahan terbaik karena

mampu memisahkan enam senyawa yang terkandung pada ekstrak kental n-heksana dengan jarak pemisahan cukup jauh, sehingga dapat digunakan dalam pemisahan menggunakan kromatografi kolom.

Seberat 2,50 g ekstrak kental n-heksana dipisahkan dengan kromatografi kolom, menggunakan sebanyak 100 g silika gel 60, dan fase gerak campuran kloroform : n-heksana (9:1). Kecepatan alir fase gerak yang digunakan adalah kira-kira 1 mL/1 menit. Eluat ditampung disetiap 3 mL sampai menghasilkan 151 fraksi. Keseratus lima puluh satu botol eluat tersebut, dikromatografi lapis tipis. Berdasarkan pola noda hasil analisis KLT, ke-151 eluat tersebut dapat digabungkan dan dikelompokkan menjadi tiga kelompok fraksi.

Ketiga kelompok fraksi tersebut masing-masing diuji toksisitasnya terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*. Berdasarkan hasil uji toksisitas didapat ketiga fraksi, bersifat toksik terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*. Ketiga fraksi tersebut fraksi F_3 memiliki aktivitas paling toksik terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* dengan $LC_{50} = 58,70$ ppm, namun fraksi F_1 yang paling memungkinkan untuk dilanjutkan pada tahap analisis berikutnya. Mengingat syarat isolat dapat diidentifikasi lebih lanjut dengan metode spektroskopi itu harus relatif murni secara KLT, yaitu paling tidak memiliki satu noda. Sedangkan fraksi F_3 pada saat KLT penggabungan memiliki tiga noda artinya belum murni secara KLT, selain juga jumlah fraksi F_3 sedikit, sehingga tidak memungkinkan untuk dilakukan pemisahan lebih lanjut. Jadi dalam penelitian ini yang dilanjutkan untuk diidentifikasi lebih lanjut adalah fraksi F_1 , karena fraksi F_1 relatif cukup toksik dengan $LC_{50} = 78,45$ ppm.

Fraksi F_1 yang bersifat toksik dan relatif murni dari hasil uji toksisitas terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* selanjutnya diuji kemurniannya menggunakan

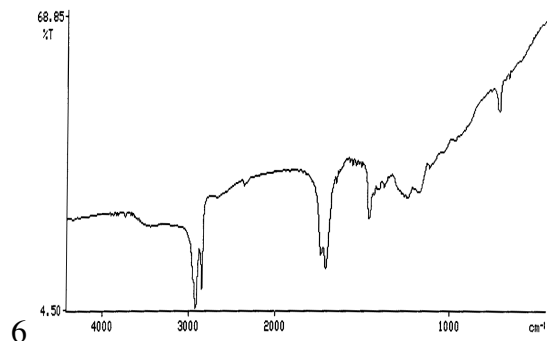
kromatografi lapis tipis dengan beberapa pelarut pengembang atau eluen yang memiliki tingkat kepolaran yang berbeda-beda.

Pemurnian

Sebelum dilakukan uji kemurnian, terlebih dahulu dilakukan pencucian dengan menggunakan akuades, dilanjutkan dengan uji kemurnian secara KLT menggunakan beberapa campuran eluen diantaranya kloroform : etil asetat (1:1); metanol : kloroform (7:3); kloroform : metanol (2:8); kloroform : eter (7:3) dengan polaritas yang berbeda-beda. Hasil uji kemurnian menunjukkan bahwa fraksi F_1 hanya mengandung satu senyawa, yang ditunjukkan dengan timbulnya satu noda dengan berbagai campuran eluen yang digunakan. Hal ini menyatakan bahwa fraksi F_1 relatif murni secara KLT. Uji fitokimia menunjukkan bahwa fraksi F_1 tidak mengandung metabolit sekunder melainkan hanya mengandung asam-asam lemak.

Data spektrofotometri IR

Spektrum serapan hasil analisis spektrofotometer inframerah dari isolat aktif menggunakan pelet KBr dipaparkan pada Gambar 1.

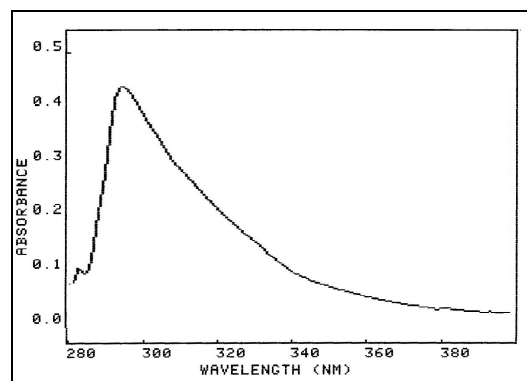


Gambar 1. Spektrum inframerah dari isolat aktif

Data spektrum inframerah isolat menunjukkan adanya serapan tajam pada daerah bilangan gelombang $2921,5\text{ cm}^{-1}$ dan $2821,0$ yang diduga adalah serapan dari gugus C-H stretching alifatik, yang diperkuat oleh adanya serapan pada daerah bilangan gelombang $1464,4\text{ cm}^{-1}$. Adanya gugus fungsi karbonil (C=O) diindikasikan dengan munculnya serapan pada daerah bilangan gelombang $1712,4\text{ cm}^{-1}$. Serta munculnya serapan pada daerah bilangan gelombang $720,1\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya gugus fungsi C-H bending (luar bidang). Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa isolat aktif anti larvasida merupakan senyawa golongan asam karboksilat yang mempunyai karakteristik gugus fungsi C-H stretching alifatik, C-H bending dan gugus karbonil (C=O). Gugus-gugus fungsi di atas menunjukkan ester dari asam lemak.

Data spektrofotometri UV-vis

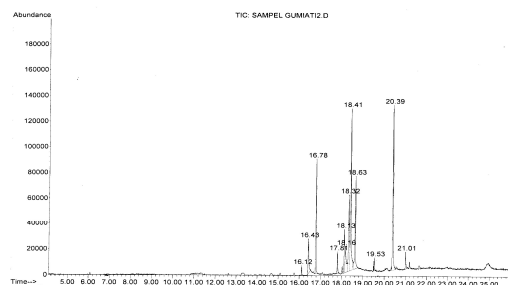
Hasil analisis isolat menggunakan spektrofotometer UV-vis memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang $290,1\text{ nm}$. Serapan pada panjang gelombang $290,1\text{ nm}$ diduga akibat adanya transisi $n-\pi^*$ oleh suatu kromofor C=O. Dugaan ini didukung dengan adanya puncak yang muncul dengan intensitas tajam pada bilangan gelombang $1712,4\text{ cm}^{-1}$ pada spektra IR.



Gambar 2. Spektrum Ultra violet - Visibel

Spektroskopi GC-MS

Kromatogram isolat F_1 menunjukkan 7 puncak dengan intensitas relatif cukup besar seperti puncak senyawa dengan waktu retensi (tr) berturut-turut 16,43; 16,78; 18,13; 18,32; 18,41; 18,63; 20,39 menit, dimana ke-7 puncak tersebut menunjukkan asam-asam organik yaitu asam palmitat, asam stearat, asam oleat, ester oleat, asam oktadekanoat, etil ester oktadekanoat, ester dioktil heksadioat. Dari 7 puncak kromatogram yang dihasilkan mengindikasikan bahwa isolat relatif belum murni.



Gambar 3. Kromatogram gas isolat Fraksi F_1

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

1. Hasil uji fitokimia menunjukkan fraksi F_1 yang bersifat toksik terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* dari biji mimba tidak mengandung senyawa metabolit sekunder.
2. Isolat aktif larvasida dari fraksi F_1 memiliki karakteristik gugus fungsi C-H stretching alifatik, C-H bending dan gugus karbonil C=O serta menyerap sinar UV-vis pada λ_{\max} 290,1 nm yang

kemungkinan disebabkan karena adanya transisi $n-\pi^*$.

3. Identifikasi isolat aktif anti larvasida secara GC-MS mengandung 7 komponen senyawa yang merupakan asam-asam organik yaitu asam heksadekanoat, asam stearat, asam oleat, etil oleat, asam oktadekanoat, etil oktadekanoat, dioktil heksadioat. Diduga senyawa-senyawa di atas bersifat antilarvasida terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*.

Saran

1. Perlu dilakukan pemisahan identifikasi lebih lanjut pada isolat aktif anti larvasida khususnya larva nyamuk *Aedes aegypti* untuk fraksi F_1 dengan menggunakan teknik spektroskopi yang lain seperti ^{13}C -NMR dan ^1H -NMR.
2. Perlu dilakukan pemisahan, pemurnian dan identifikasi komponen-komponen senyawa yang terdapat dalam fraksi F_2 dan F_3 dengan menggunakan teknik kromatografi dan spektrofotometri IR, UV-vis, dan spektrometri GC-MS dan teknik spektroskopi lainnya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada Ir. I Gusti Ayu Kunti Sri Panca Dewi, M.Si., Drs. I Made Siaka, M.Sc.(Hons), dan Ni Luh Rustini, S.Si., M.Si. atas masukan-masukannya sehingga penelitian sampai penulisan dapat dikerjakan dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Eugene B. and Shultz, J. R., 1992, *Neem A Tree for Solving Global Problems*, National Academy Press, Washington, D.C.

- Fornswort, N. R., 1966, *Biological and Phytomical Screening of Plant*, J., Pharm. Sci, 55,3, 225-276.
- Harborne. J. B., 1987, *Metode Fitokimia*, Terbitan Kedua, Penerbit ITB, Bandung.
- Manuel, F. B. and Douglas, K. A., 1992, *Human Medicinal Agent From Plant*, American Chemical Society, Washington.D.C.
- .Robinson, T., 1995, *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*, Penerbit ITB, Bandung.
- Rukmana, R. and Oesman Yuniarsih, Y., 2002, *Nimba Tanaman Penghasil Pesticida Alami*, Kanisius, Yogyakarta
- Sudjadi, 1985, *Penentuan Struktur Senyawa Organik*, Penerbit Gholia, Jakarta.
- Wiryowidagdo, 2002, *Kimia dan Farmakologi Bahan Alam*, Universitas Indonesia, Jakarta.