

**AKTIVITAS LARVASIDA FRAKSI NONPOLAR EKSTRAK
ETANOL DAUN INGGU (*Ruta angustifolia* L.) TERHADAP
LARVA NYAMUK *Anopheles aconitus* DAN *Anopheles maculatus*
BESERTA PROFIL KROMATOGRAFINYA**

NASKAH PUBLIKASI



Oleh:

**FANIA PUTRI LUHURNINGTYAS
K 100 090 037**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA
SURAKARTA
2013**

PENGESAHAN NASKAH PUBLIKASI

Berjudul:
AKTIVITAS LARVASIDA FRAKSI NONPOLAR EKSTRAK
ETANOL DAUN INGGU (*Ruta angustifolia* L.) TERHADAP
LARVA NYAMUK *Anopheles aconitus* DAN *Anopheles maculatus*
BESERTA PROFIL KROMATOGRAFINYA

Oleh:

FANIA PUTRI LUHURNINGTYAS
K 100 090 037

Tanggal : 16 Januari 2013

Mengetahui
Fakultas Farmasi
Universitas Muhammadiyah Surakarta
Dekan,



Dr. Muhammad Da'i, M.Si., Apt.

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping

Dr. Haryoto, M.Sc.

Rima Munawaroh, M.Sc., Apt.

Penguji

1. Dr. Muhtadi, M.Si.
2. Ika Trisharyanti DK, M.Farm., Apt.
3. Dr. Haryoto, M.Sc.
4. Rima Munawaroh, M.Sc., Apt.

1.

2.

3.

2. *Dr. Haryoto*

4.

**AKTIVITAS LARVASIDA FRAKSI NONPOLAR EKSTRAK ETANOL
DAUN INGGU (*Ruta angustifolia* L.) TERHADAP LARVA NYAMUK
Anopheles aconitus DAN *Anopheles maculatus* BESERTA PROFIL
KROMATOGRAFINYA**

***LARVICIDAL ACTIVITY NONPOLAR FRACTION OF ETHANOLIC
EXTRACTS LEAVES OF *Ruta angustifolia* L. AGAINST MOSQUITO
LARVAE *Anopheles aconitus* AND *Anopheles maculatus* AND PROFILE OF
CHROMATOGRAM***

Haryoto*, Fania Putri Luhurningtyas, dan Rima Munawaroh

Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta
Jl. A. Yani Tromol Pos I, Pabelan Kartasura Surakarta 57102

*Email: haryo62@gmail.com

ABSTRAK

Tanaman inggu (*Ruta angustifolia* L.) secara tradisional digunakan untuk obat hipertensi, sakit kepala dan insektisida. Kandungan tanaman inggu adalah alkaloid, furokumarin, flavonoid, tanin, minyak atsiri dan sterol. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui aktivitas larvasida fraksi nonpolar ekstrak etanol daun inggu terhadap larva nyamuk *Anopheles aconitus* dan *Anopheles maculatus*. Daun inggu dimaserasi etanol 96%, lalu difraksinasi dengan KVC, dan didapatkan fraksi nonpolar daun inggu. Analisis senyawa menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan fase diam silika dan fase gerak heksan:etil asetat (9:1) v/v. Hasil analisis KLT menunjukkan adanya alkaloid, kumarin, flavonoid dan terpenoid. Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi nonpolar ekstrak etanol daun inggu memiliki aktivitas larvasida terhadap larva nyamuk *Anopheles aconitus* dan *Anopheles maculatus* dengan LC₅₀ sebesar 61,90 ppm dan 95,03 ppm.

Kata kunci: *Ruta angustifolia*, Larvasida, Nonpolar, *Anopheles* spp

ABSTRACT

Ruta angustifolia L. is useful as traditional drug to treat hypertension, headache, and insecticides. Ruta plant contain alkaloids, furokumarin, flavonoids, tannins, essential oils, and sterols. The study aims to determine the larvacide activity of the nonpolar fraction ruta leaves ethanol extract against mosquito larvae of *Anopheles aconitus* and *Anopheles maculatus*. The leaves macerated with 96% ethanol, and fractionated using vacuum column chromatography to obtain the polar fraction of ethanol extract of leaves ruta. Test compounds performed by Thin Layer Chromatography (TLC) with silica stationary phase and mobile phase ratio of hexane:ethyl acetate (9:1) v/v. TLC analysis results indicate the presence of alkaloid, coumarin, flavonoid and terpenoid. The result showed that the ethanol extract of leaves of nonpolar fraction inggu have larvacide

activity against mosquito larvae Anopheles aconitus and Anopheles maculatus with LC₅₀ of 61,90 ppm and 95,03 ppm.

Keywords: *Ruta angustifolia, Larvicidal, Nonpolar, Anopheles spp*

PENDAHULUAN

Malaria merupakan penyakit yang disebabkan *protozoa* dari genus *plasmodium* melalui gigitan nyamuk *Anopheles* betina. Penyakit malaria ditandai dengan demam, *anemia* dan *splenomegali* (Fujioka & Aikawa, 2002). Wilayah Jepara, Magelang, Kebumen, Purworejo, dan Wonosobo merupakan beberapa wilayah daerah endemis malaria di Jawa Tengah. Vektor malaria di daerah sekitar persawahan di Jawa Tengah adalah *Anopheles aconitus* dan vektor malaria di daerah pantai selatan Jawa Tengah adalah *Anopheles maculatus* (Widiarti *et al.*, 2005).

Usaha pemberantasan malaria selain pengobatan penderita, dilakukan juga pengendalian terhadap vektor malaria, yaitu dengan menurunkan populasi nyamuk atau memutus siklus hidup nyamuk. Salah satu cara dengan menggunakan larvasida sintetik, seperti deltamethrin, temephos, dan berbagai senyawa sintetik lainnya. Penggunaan larvasida sintetik untuk pengendalian nyamuk dapat bermanfaat bila digunakan dalam keadaan tepat. Larvasida sintetik bila digunakan dalam skala yang luas, terus menerus dalam jangka panjang, serta frekuensi yang tinggi, dapat menimbulkan penurunan kerentanan (Tiwary *et al.*, 2007). Menurut penelitian Widiarti *et al.*, (2005) beberapa wilayah di Jawa Tengah dan DIY terjadi penurunan koresistensi *Anopheles aconitus* dan *Anopheles maculatus* terhadap insektisida deltamethrin sebesar 66,0% - 97,5% dan 97% - 97,5%. Penggunaan temephos di beberapa wilayah Surabaya telah menurunkan persentase kematian nyamuk *Aedes aegypti* sebesar 22% - 60% (Mulyatno *et al.*, 2012).

Upaya mengurangi penggunaan larvasida sintetik sangatlah tepat bila mengoptimalkan penggunaan tumbuhan yang mempunyai kemampuan sebagai larvasida nabati. Hal ini karena Indonesia terkenal kaya akan keanekaragaman hayati, termasuk jenis tumbuhan yang mengandung bahan aktif larvasida.

Pemakaian produk alami dari tanaman telah banyak dikembangkan untuk mengatasi kerugian penggunaan larvasida sintetik. Kandungan senyawa metabolit sekunder pada tanaman yang mempunyai aktivitas tertentu, menjadi dasar penggunaannya sebagai larvasida nabati. Keuntungan penggunaan larvasida nabati selain sebagai pengendalian vektor nyamuk, proses degradasinya yang cepat dapat menurunkan resiko residu yang tercemar di lingkungan (Ghayal *et al.*, 2010).

Salah satu bahan alami yang potensial digunakan sebagai agen larvasida alami adalah tanaman inggu (*Ruta angustifolia* L.). Tanaman inggu bermanfaat sebagai obat hipertensi, obat topikal untuk saluran pendengaran, sakit kepala, antiseptik kulit, dan insektisida *repellent* (Emam *et al.*, 2010). Beberapa jenis tanaman yang termasuk dalam genus *Ruta* juga mempunyai aktivitas sebagai larvasida alami. Ekstrak metanol *Ruta chalapensis* telah dilaporkan dapat meningkatkan persentase kematian larva nyamuk *Aedes aegypti* dan *Culex pipiens pallens* sebesar 81,2% dan 87,9%, pada dosis 100 ppm (Kim *et al.*, 2002). Minyak atsiri *Ruta chalapensis* efektif menghambat pertumbuhan larva nyamuk *Aedes albopictus* dengan nilai LC₅₀ sebesar 35,66 ppm (Conti *et al.*, 2012). Minyak atsiri *Ruta graveolens* dapat meningkatkan jumlah kematian larva nyamuk *Aedes aegypti* sebesar 14,37 ppm (Tabanca *et al.*, 2012). Analisis kromatografi minyak atsiri *Ruta montana* mengidentifikasi kandungan keton yang terdapat pada tanaman tersebut, berpotensi sebagai larvasida nabati terhadap nyamuk *Culex pipiens* dengan presentase kematian larva 99% setelah 30 menit pengujian (Boutoumi *et al.*, 2009). Berdasarkan data literatur diatas, maka perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui aktivitas larvasida fraksi nonpolar ekstrak etanol daun inggu (*Ruta angustifolia* L.) terhadap larva nyamuk *Anopheles aconitus* dan *Anopheles maculatus*.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah tabung maserasi, *vacuum rotary evaporator*, *water bath*, cawan porselen, kromatografi kolom vakum,

neraca analitik, mikropipet, *beaker glass*, *blue tips*, *yellow tips*, *white tips*, lampu UV 254 nm dan 366 nm, dan alat-alat gelas lainnya.

Bahan

Bahan yang digunakan adalah daun inggu yang diambil dari daerah kabupaten Karanganyar, etanol 96%, heksana, etil asetat, aseton. Larva nyamuk *Anopheles aconitus* dan *Anopheles maculatus* diperoleh dari Balai Besar Penelitian Dan Pengembangan Vektor Dan Reservoir Penyakit, Salatiga, Jawa Tengah, silika gel (silikagel GF60 Merck), silika impreg (silikagel GF60 Merck), *suspending agent* CMC-Na 1%, pereaksi semprot yaitu KOH etanolik, Sitroborat, Dragendorff-NaNO₂, Anisaldehyd dan silika GF 254.

JALANNYA PENELITIAN

Identifikasi daun inggu

Identifikasi daun inggu dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.

Pembuatan fraksi nonpolar ekstrak etanol daun inggu

Daun inggu kering yang telah diserbuk ditimbang sebanyak 786 g, kemudian ditempatkan dalam bejana kaca untuk dimaserasi. Serbuk direndam dalam 50 Liter etanol 96% sampai simplisia terendam semua. Remaserasi dilakukan selama 2 hari sambil sesekali diaduk, kemudian hasilnya disaring dengan kain flannel bersih sehingga didapatkan filtrat etanol. Filtrat yang diperoleh diuapkan dengan *vacuum rotary evaporator*, dilanjutkan menggunakan *water bath* untuk memperoleh ekstrak kental. Hasil ekstrak etanol daun inggu dari berat awal sebelum diekstraksi sebesar 786,00 gram diperoleh berat akhir sebesar 101,73 gram sehingga diperoleh rendemen sebesar 12,94%.

Fraksi nonpolar ekstrak etanol daun inggu diperoleh dengan metode kromatografi kolom vakum, menggunakan fase diam silika gel dan fase gerak menggunakan pelarut heksana:etil asetat dengan gradien kepolaran yang bertingkat. Sebanyak 10 gram ekstrak diimpregnasi dengan 20 gram silika impreg (silika impreg:ekstrak = 2:1). Kemudian dimasukkan ke dalam kolom berisi silika kolom (90 gram) yang telah dijenuhkan heksana terlebih dahulu. Selanjutnya

dielusi fase gerak heksan:etil asetat dengan gradien solven bertingkat. Hasil fraksinasi ditampung dalam flakon-flakon. Larutan pada flakon ditotolkan pada lempeng KLT dilanjutkan dengan elusi menggunakan campuran pelarut heksana:etil asetat (9,5:0,5) v/v. Lempeng KLT hasil elusi diamati di bawah lampu UV 254 dan 366 nm. Hasil elusi yang mempunyai profil KLT yang sama digabungkan. Penggabungan tersebut diperoleh dari flakon hasil penampungan KCV. Kemudian penggabungan tersebut dikelompokkan menjadi tiga fraksi yaitu fraksi nonpolar, semipolar, dan polar. Larutan fraksi nonpolar dipekatkan dengan menggunakan *vacuum rotary evaporator*. Fraksi nonpolar yang diperoleh sebanyak 3,12 gram dari berat ekstrak awal sebanyak 40 gram, sehingga didapatkan randemen sebesar 5,45%.

Uji aktivitas larvasida fraksi nonpolar ekstrak etanol daun inggu

Pembuatan larutan stok 1%. Fraksi nonpolar ekstrak etanol daun inggu dibuat larutan stok 1%. Sebanyak 500 mg fraksi nonpolar ditimbang, ditambah 2 tetes aseton sebagai pelarut. Kemudian dihomogenkan dengan beberapa tetes suspensi CMC-Na 1% sampai dapat tercampur. Selanjutnya dilarutkan aquadest sampai 50 mL. Pembuatan larutan stok dilakukan 4 kali pengulangan.

Fraksi nonpolar ekstrak etanol daun inggu dibuat seri konsentrasi 50, 100, 200, 300, dan 500 ppm. Stok awal 1% untuk pembuatan seri konsentrasi, masing-masing diambil sebanyak 250 μ L, 500 μ L, 1 mL, 1,5 mL dan 2,5 mL. Kemudian masing-masing langsung dimasukkan ke dalam wadah percobaan. Kontrol positif yang digunakan adalah Abate[®] dan *suspending agent* CMC-Na 1% sebagai kontrol negatif.

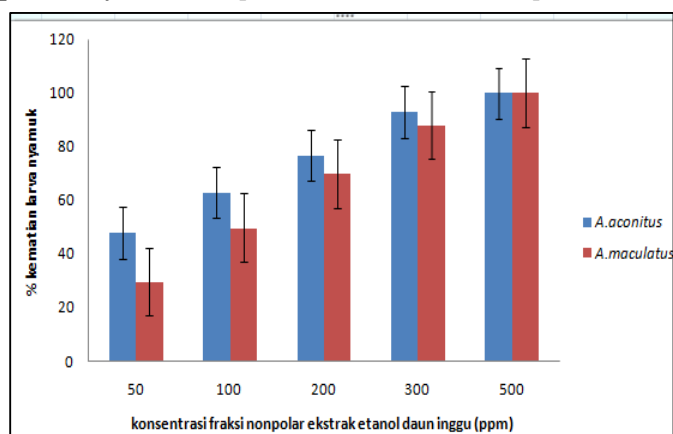
Uji larvasida. Ke dalam masing-masing wadah percobaan dimasukkan 25 ekor larva nyamuk yang berisi 100 mL air. Dimasukkan seri konsentrasi fraksi nonpolar, masing-masing ke dalam wadah eksperimen. Untuk kelompok kontrol negatif dimasukkan *suspending agent* CMC-Na 1% ke dalam wadah eksperimen, dan kelompok kontrol positif dimasukkan stok Abate[®]. Dilakukan pengamatan dan pencatatan jumlah kematian larva selama 24 jam. Diukur pH dan suhu media selama penelitian berlangsung. Percobaan dilakukan selama 4 kali pengulangan.

Kromatografi Lapis Tipis

Fraksi nonpolar ekstrak etanol daun inggu dilarutkan dengan aseton kemudian ditotolkan pada silika gel GF 254, lalu totolan tersebut dielusi dengan fase gerak heksan:etil asetat (9:1) v/v dalam bejana yang telah dijenuhkan. Plat tersebut kemudian diangin-anginkan dan diamati di bawah sinar tampak, UV 254 nm, UV 366 nm serta menggunakan pereaksi semprot Sitroborat, Dragendorff-NaNO₂, Anisaldehyd, KOH untuk mengidentifikasi golongan senyawa dalam fraksi nonpolar.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Aktivitas Larvasida. Aktivitas larvasida fraksi nonpolar ekstrak etanol daun inggu diuji terhadap larva nyamuk *Anopheles aconitus* dan *Anopheles maculatus* instar III. Berdasarkan hasil uji, kelompok kontrol *suspending agent* CMC-Na tidak ditemukan adanya kematian larva *Anopheles aconitus* dan *Anopheles maculatus*, sehingga *suspending agent* CMC-Na tidak memberikan aktivitas larvasida terhadap larva nyamuk *Anopheles aconitus* dan *Anopheles maculatus*. Sedangkan kelompok kontrol Abate[®] mempunyai aktivitas larvasida 100% terhadap larva nyamuk *Anopheles aconitus* dan *Anopheles maculatus*.



Gambar 1. Histogram pengaruh konsentrasi fraksi nonpolar ekstrak etanol daun inggu terhadap persentase kematian larva *Anopheles aconitus* dan *Anopheles maculatus*

Jumlah kematian larva nyamuk *Anopheles aconitus* dan *Anopheles maculatus* semakin meningkat sesuai dengan kenaikan konsentrasi fraksi nonpolar ekstrak etanol daun inggu (Gambar 1). Sehingga peningkatan konsentrasi fraksi

nonpolar yang digunakan mempengaruhi kenaikan jumlah kematian larva nyamuk *Anopheles aconitus* dan *Anopheles maculatus*, ditunjukkan pada analisis regresi linear dengan nilai p value t statistik sebesar 0,00 (p value kurang dari 0,05).

Menurut WHO (2009), tingkat aktivitas larvasida fraksi nonpolar ekstrak etanol daun inggu dapat ditentukan dengan melihat harga LC_{50} . Suatu senyawa dikatakan aktif pada uji larvasida jika nilai LC_{50} yang diperoleh kurang dari 100 ppm. Hubungan ini berkaitan dengan efektifitas larvasida, korelasi besarnya nilai LC_{50} dengan konsentrasi ekstrak adalah semakin kecil LC_{50} maka semakin kecil konsentrasi ekstrak yang diperlukan untuk membunuh larva nyamuk sehingga semakin bagus efektifitas larvasida ekstrak tersebut (Susilowati et al., 2009).

Hasil pengujian aktifitas larvasida fraksi nonpolar ekstrak etanol daun inggu menunjukkan nilai LC_{50} sebesar 61,90 ppm terhadap larva nyamuk *Anopheles aconitus* dan nilai LC_{50} sebesar 95,03 ppm terhadap larva nyamuk *Anopheles maculatus*. Nilai LC_{50} fraksi nonpolar ekstrak etanol daun inggu kurang dari 500 ppm, sehingga fraksi tersebut memiliki aktivitas larvasida terhadap larva nyamuk *Anopheles aconitus* dan *Anopheles maculatus*.

Aktivitas larvasida fraksi nonpolar ekstrak etanol daun inggu terhadap larva *Anopheles aconitus* dan *Anopheles maculatus* memberikan nilai LC_{50} sebesar 61,90 ppm dan 95,03 ppm. Aktivitas larvasida ekstrak etanol daun inggu terhadap larva *Anopheles aconitus* dan *Anopheles maculatus* diperoleh nilai LC_{50} sebesar 122,01 ppm dan 141,57 ppm (Rakhmany, 2012). Hasil penelitian menunjukkan aktivitas larvasida fraksi nonpolar ekstrak etanol daun inggu lebih poten dibandingkan ekstrak etanol daun inggu dan proses fraksinasi perlu dilakukan pada ekstrak etanol daun inggu untuk mendapatkan aktivitas larvasida yang lebih efektif. Fraksi polar ekstrak etanol daun inggu menunjukkan aktivitas larvasida dengan LC_{50} sebesar 466,97 ppm dan 421,63 ppm (Nisa, 2013). Fraksi semipolar ekstrak etanol daun inggu menunjukkan aktivitas larvasida dengan LC_{50} sebesar 527,82 ppm dan 858,10 ppm (Marisa, 2013). Hasil LC_{50} tersebut dapat diketahui bahwa fraksi nonpolar paling poten menghambat aktivitas larva *Anopheles aconitus* dan *Anopheles maculatus* karena banyaknya kandungan senyawa aktif yang berperan sebagai zat toksik bagi larva nyamuk.

Beberapa tanaman yang masih satu genus dengan tanaman inggu (famili Rutaceae) juga mempunyai aktivitas larvasida terhadap larva nyamuk. Ekstrak metanol *Ruta chalapensis* telah dilaporkan dapat meningkatkan persentase kematian larva nyamuk *Aedes aegypti* dan *Culex pipiens pallens* sebesar 81,2% dan 87,9%, pada dosis 100 ppm (Kim *et al.*, 2002). Minyak atsiri *Ruta chalapensis* efektif menghambat pertumbuhan larva nyamuk *Aedes albopictus* dengan nilai LC₅₀ sebesar 35,66 ppm (Conti *et al.*, 2012). Minyak atsiri *Ruta graveolens* dapat meningkatkan jumlah kematian larva nyamuk *Aedes aegypti* sebesar 14,37 ppm (Tabanca *et al.*, 2012). Hal ini menunjukkan beberapa tanaman dari genus *Ruta* poten menghambat pertumbuhan larva nyamuk, dengan LC₅₀ kurang dari 100 ppm.

Analisis Hasil Kromatografi Lapis Tipis. Studi fitokimia pada bagian tanaman inggu menunjukkan bahwa herba tersebut mengandung senyawa utama alkaloid, furokumarin dan senyawa-senyawa lain seperti flavonoid, tanin, minyak atsiri, sterol, dan triterpenoid (Gunaydin *et al.*, 2003). Fraksi nonpolar dilarutkan dalam aseton. Larutan tersebut kemudian ditotolkan pada lempeng KLT dan dielusi dengan fase gerak hasil optimasi yaitu heksan:etil asetat (9:1) v/v. Hasil KLT fraksi nonpolar ekstrak etanol daun inggu menunjukkan adanya senyawa alkaloid, flavonoid, kumarin dan terpenoid (Tabel 1).

Tabel 1. Hasil Analisis KLT Fraksi Nonpolar Ekstrak Etanol Daun Inggu

Rf	Deteksi	Senyawa
0,23	Anisaldehyd (biru muda)	Terpenoid
0,40	KOH (biru muda)	Kumarin
0,42	Sitroborat (kuning)	Flavonoid
0,57	KOH (biru muda)	Kumarin
0,66	Dragendorff (coklat)	Alkaloid
0,74	Sitroborat (kuning)	Flavonoid

Studi fitokimia pada bagian tanaman inggu menunjukkan bahwa herba tersebut mengandung senyawa utama alkaloid, furokumarin dan senyawa-senyawa lain seperti flavonoid, tanin, minyak atsiri, sterol, dan triterpenoid (Gunaydin *et al.*, 2003). Fraksi nonpolar dilarutkan dalam aseton. Larutan tersebut kemudian ditotolkan pada lempeng KLT dan dielusi dengan fase gerak hasil

optimasi yaitu heksana : etil asetat (9:1) v/v. Hasil KLT fraksi nonpolar ekstrak etanol daun inggu menunjukkan adanya senyawa alkaloid, flavonoid, kumarin dan terpenoid.

Bercak yang mempunyai harga Rf 0,4 dan 0,74 pada pengamatan sinar UV 366 nm menunjukkan fluoresensi hijau kekuningan, setelah disemprot sitroborat terlihat warna kuning intensif yang merupakan flavonoid. Flavonoid dalam tanaman digunakan sebagai anti bakteri, antiviral, antifungi dan perlindungan dari serangga (Harborne, 1999). Deteksi UV 366 nm pada Rf 0,40 dan 0,57 menunjukkan fluoresensi biru muda. Setelah disemprot dengan pereaksi KOH etanolik menunjukkan fluoresensi biru muda yang intensif merupakan kumarin. Senyawa alkaloid ditunjukkan dengan deteksi UV 366 nm pada Rf 0,66 dengan warna biru muda, kemudian setelah disemprot Dragendorff berwarna coklat dilihat di sinar tampak. Bercak dengan Rf 0,23 berwarna biru muda diamati pada UV 366 nm. Setelah disemprot Anisaldehyd dan diamati pada sinar tampak menunjukkan biru muda yang intensif merupakan terpenoid.

Menurut hasil penelitian yang telah dilakukan tentang identifikasi senyawa tanaman pada genus *Ruta*, dapat diketahui bahwa genus *Ruta* mengandung senyawa-senyawa golongan alkaloid yaitu alkaloid akridon, kuinolon (Nadia *et al.*, 2009), senyawa flavonoid yaitu lupinifolin (Abiy *et al.*, 2009), senyawa kumarin yaitu bergapten, furokumarin 3-2-2-dimetil butenil-3-hidroksi dihidrofuorsoralen, xylostenin, dan helietin (Kiran *et al.*, 2012), dan senyawa terpenoid yaitu bergamoten (Mancebo *et al.*, 2001). Senyawa-senyawa hasil isolasi daun inggu tersebut telah dilaporkan memiliki aktivitas farmakologi sebagai antimalaria dan larvasida. Berdasarkan analisis KLT fraksi nonpolar daun inggu dapat diketahui bahwa senyawa golongan alkaloid dan flavonoid adalah senyawa utama yang paling banyak terdapat dalam fraksi tersebut. Sehingga aktivitas larvasida fraksi nonpolar ekstrak etanol daun inggu dipengaruhi adanya senyawa aktif alkaloid dan flavonoid yang berperan sebagai senyawa toksik terhadap larva nyamuk. Senyawa toksik yang masuk ke dalam tubuh larva menyebabkan kematian larva, karena organ larva tidak mampu mendetoksifikasi dan mengekskresi senyawa tersebut (Tarumingkeng, 1992).

Senyawa toksik berdasarkan cara masuk larvasida ke dalam tubuh (*mode of entry*), yaitu pertama racun lewat sistem respirasi dengan menghambat transport elektron. Hal ini menyebabkan produksi ATP sel terhambat sehingga metabolisme sel terganggu (Rattan, 2010). Kedua, melalui racun kontak (*contact poisoning*) zat toksik akan masuk melalui kulit atau dinding tubuh larva dan menembus sistem syaraf larva. Dinding tubuh larva adalah bagian tubuh serangga yang dapat mengabsorpsi zat yang bersifat toksik dalam jumlah besar (Sastrodiharjo, 1979). Zat toksik lebih mudah masuk kutikula serangga, karena ukuran serangga relatif kecil, sehingga luas permukaan tubuh yang terkena efek lebih besar. Kutikula serangga memiliki sifat hidrofob dan lipofilik, sehingga senyawa aktif dapat mudah menembus, menyebabkan penghambatan pertumbuhan dan kelangsungan hidup larva (Mutsumura, 1976). Ketiga, melalui racun perut yang masuk ke dalam tubuh larva lewat alat pencernaan. Jika racun masuk melalui alat pencernaan, akan menghambat reseptor perasa di daerah dinding mulut larva dan menghambat enzim pencernaan. Efeknya larva tidak mendapat rangsangan rasa dan tidak mampu mendeteksi makanannya (Gandahusada *et al.*, 1992).

Hasil penelitian menunjukkan jumlah kematian terbanyak larva nyamuk *Anopheles aconitus* dan *Anopheles maculatus* terjadi disaat pengamatan jam ketiga. Hasil ini menunjukkan bahwa senyawa toksik mengikat dan menghambat enzim asetilkolin esterase (AChE). Penghambatan aktivitas enzim asetilkolineras (AChE) merupakan hal yang paling penting, karena enzim tersebut bertanggung jawab untuk mengakhiri impuls syaraf lewat jalur sinapsis. Efek yang timbul adalah banyaknya asetikolin yang terakumulasi di jaringan syaraf, sehingga aktivitas syaraf dan keseimbangan kerja otot menjadi tidak terkendali (Senthilnathan *et al.*, 2008).

Menurut penelitian Ambaningrum (1998), senyawa alkaloid dan flavonoid dapat mengurangi kerja enzim protease dan amilase sehingga kemampuan larva mencerna makanan menjadi berkurang. Senyawa kumarin bergapten, kuinolon, alkaloid akridon, dan terpenoid (derivatif bergamoten) yang terdapat di dalam daun inggu dapat menurunkan aktivitas pencernaan pada larva (Mancebo *et al.*,

2001). Hal ini dapat ditunjukkan pada hasil pengamatan pada jam ke-8, pergerakan larva mulai melemah karena larva nyamuk mulai kekurangan energi. Pengikatan enzim pankreas dan lipase menyebabkan kemampuan larva mencerna makanan menjadi berkurang, karena hanya senyawa yang ukurannya sederhana saja yang dapat diserap oleh cairan pencernaan. Sehingga adanya aktivitas larvasida fraksi nonpolar ekstrak etanol daun inggu karena adanya kandungan senyawa alkaloid dan flavonoid yang dapat mengganggu jaringan syaraf dan menurunkan kemampuan pencernaan pada larva nyamuk *Anopheles aconitus* dan *Anopheles maculatus*.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat diambil kesimpulan bahwa fraksi nonpolar ekstrak etanol daun inggu mempunyai aktivitas sebagai larvasida terhadap *Anopheles aconitus* dan *Anopheles maculatus* dengan LC_{50} masing-masing sebesar 61,90 ppm dan 95,03 ppm. Kandungan senyawa fraksi nonpolar ekstrak etanol daun inggu yaitu alkaloid, flavonoid, terpenoid, dan kumarin.

SARAN

Perlu dilakukan uji aktivitas larvasida fraksi nonpolar ekstrak etanol daun inggu terhadap berbagai vektor nyamuk *Anopheles* yang menyebabkan malaria. Selain itu perlu dilakukan pemisahan senyawa aktif yang mempunyai aktivitas larvasida yang terdapat dalam fraksi nonpolar ekstrak etanol daun inggu.

UCAPAN TERIMA KASIH

Bapak Dr. Haryoto, M.Sc. selaku dosen pembimbing pertama dan Ibu Rima Munawaroh, M.Sc, Apt. atas segala bimbingan, arahan, dan ilmu yang bermanfaat. Pihak Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Vektor dan Reservoir Penyakit Salatiga atas bimbingannya dalam melakukan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Alam, M.F., Sadfhi, M.M., Chopra, A.K., & Dua, V.K., 2011, Toxicological Properties of Several Medicines Plants From The Himalayas (India) Against Vectors of Malaria, Filariasis, and Dengue, *Tropical Biomedicine*, 8(2), 343-350.
- Alzoreky, N.S., & Nakahara K., 2003, Antibacterial Activity of Extract from Some Edible Plants Commonly Consumed in Asia, *International Journal Food Microbiol*, 80(3), 223-230.
- Ambaningrum T.B., 1998, Uji Ekstrak Akar dan Daun *Tagetes erects L.* (Dicotiledoneae. : Asteraceae) Sebagai Senyawa Anti Makan Serta Pengaruhnya Terhadap Indeks Nutrisi dan Kesintesan Larva *Spodoptera exigua Hubner* (Lepidoptera : Noctuidae), *J.Agroland*, 16(2), 148-154.
- Arivoli, S., & Tennyson, S., 2011, Studies on The Mosquitocidal Activity of *Murraya koeniggi (L.) Spreng (Rutaceae)* Leaf Extracts Against *Aedes aegypti*, *Anopheles stephensi* and *Culex quinquefasciatus (Diptera: Culicidae)*, *Asian Journal*, 2(4), 721-730.
- Boutoumi, H., Moulay, S., & Khodja, M., 2009, Essential Oil from *Ruta montana L.* (Rutaceae) Chemical Composition, Insecticidal and Larvicidal Activities, *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*, 12(6), 714-721.
- Conti, B., Leonardi, M., Pistelli, L., Profeti, R., Oureghemmi, I., & Benelti, G., 2012, Larvicidal and Repellent Activity of Essential Oils From Wild and Cultivated *Ruta chalapensis L.* (Rutaceae) against *Aedes albopictus* Skuse (Diptera : Culicidae), an Arbovirus Vector, *Parasitol Research Journal*, Springer, 3312-3320.
- Emam, M., Eman, S., & Nadia Y.M., 2009, Furocoumarin and Quinolone Alkaloid with Larvicidal and Antifeedant Activities Isolated from *Ruta chalapensis L.* Leaves, *Journal of Natural Products*, 2, 10-22.
- Fujioka, H., & Masamichi, A., 2002, *Structure and Life Cycle, Malaria Immunology*, 80, 1-26.
- Gandahusada, S., 1998, *Parasitologi Kedokteran*, 234, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta.
- Ghayal, N., Anand, P., & Kondiram, D., 2010, Larvicidal Activity of Invasive Weeds *Cassia uniflora* and *Synedrella nodiflora*, *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 1(3), 1-7.
- Gunaydin, K., & Savci, S., 2003, Phytochemical Studies on *Ruta Chalapensis (LAM.) Lamarck*, *Natural Product Research*, 19(3), 203-210.

- Haborne, J. B., 1996, *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, diterjemahkan oleh Padmawinata, K., & Soediro, I., Edisi Kedua, 188, Institut Teknologi Bandung Press, Bandung.
- Harijanto, 2000, *Malaria Epidemiologi, Patogenesis, Manifestasi Klinis, dan Penanganan*, 23, EGC, Jakarta.
- Kim, Moo-Key., Jang, Y., Ahn, Y.J., & Lee, H.S., 2012, Larvicidal Activity of Australian and Mexican Plant Extracts Against *Aedes aegypti* and *Culex pipiens pallens* (Diptera: Culicidae), *Journal of Asia –Pacific Entomology*, 6(2), 227-231.
- Kiprop, A., Kiprono, P.C., Rajab, M.S., & Kosgei, M. K., 2007, Limonoids as Larvicidal Components Againsts Mosquito Larvae *Aedes aegypti*, *Naturforsch*, 62, 826-628.
- Kiran, R., Vasantha, P., & Reddy, J., 2012, Studies On Mosquito Larvicidal Activity Of *Chloroxylon swietenia* DC, *Journal of Pharmacognosy*, 3(2), 123-125.
- Mancebo, F., Hilje, L., Mora, G.A., Castro, V.H., & Salazar, R., 2001, Biological Activity of *Rua chalapensis* (Rutaceae) and *Sechium pitieri* (Cucurbitaceae) Extracts on *Hypsipla grandella*, *Rev.Biol.Trop.*, 8(2), 501-508.
- Marisa, D., 2013, Aktivitas Larvasida Fraksi Semipolar Ekstrak Etanol Daun Inggu (*Ruta angustifolia*) Terhadap Nyamuk *Anopheles aconitus* dan *Anopheles maculatus* Beserta Profil Kromatografinya, Skripsi, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Mojtaba, S., Parviz. A.A., & Tehranil, S., 2009, Volatile Composition of *Ruta graveolens* L. of North of Iran, *World Applied Sciences Journal*, 7(1), 124-126.
- Mulyatno, K.C., Yamanaka, A., Ngadino, & Konishi, E., 2012, Resistance of *Aedes aegypti* Larvae to Temephos in Surabaya Indonesia, *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, 1(4), 29-33.
- Nadia, Y.M., Ahmed, M.E., & Eman, S.S., 2009, Furocoumarin and Quinolone Alkaloid with Larvicidal and Antifeedant Activities Isolated from *Ruta chalapensis* Leaves, *Journal of Natural Products*, 2, 10-22.
- Nisa, R.A., 2013, Aktivitas Larvasida Fraksi Polar Ekstrak Etanol Daun Inggu (*Ruta angustifolia*) Terhadap Nyamuk *Anopheles aconitus* dan *Anopheles*

maculatus Beserta Profil Kromatografinya, Skripsi, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta.

- Prathibha, K.P., Raghavendra, B.S., & Vijayan, V. A., 2010, Evaluation of Larvicidal Effect of *Euodia ridleyi* Hochr. Leaf Extract Against Three Mosquito Species at Mysore, *Research Journal of Biological Sciences*, 5(6), 452-455.
- Rakhmany, H., 2013, Aktivitas Larvasida Ekstrak Etanol Daun Inggu (*Ruta angustifolia*) Terhadap Nyamuk *Anopheles aconitus* dan *Anopheles maculatus* Beserta Profil Kromatografinya, Skripsi, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Rattan, R.S., 2010, *Mechanism of Action of Insecticidal Secondary metabolites of Plant Origin*, *Elsivier*, 29(9), 913-920.
- Senthilnathan, S., Choi, M.Y., Seo, H.Y., Palk, C.H., Kalavani, K., & Kim, J.D., 2008, Effect of Azadirachtin of Acetylcholinesterase (AchE) Activity and Histology of The Brown Planthopper *Nilaparvata lugens* (Stal), *Elsevier*, 70(2), 244-260.
- Sinka, M.E., Michael, J.B., Sylvie, M., Theeraphap, C., Anand, P.P., & William, H.T., 2011, *The Dominant Anopheles Vectors of Human Malaria in The Asia-Pacific Region: Occurrence Data, Disribution Maps and Bionomic*, *Parasites & Vectors Journals*, 4(89), 1-46.
- Susilowati, D., Rahayu, M.P., & Prastiwi, R., 2009, *Efek Penolak Serangga Larvasida Ekstrak Daun Jeruk Purut (Citrus hystrix D.C.) Terhadap Aedes aegypti*, *Biomedika*, 2(1), 31-39.
- Tabanca, N., Demirci, B., Kiyan, H.T., Ali, A., Bernier, U.R., Wedge, D.E., Khan, I.A., & Baser, K.H.C., 2012, Repellent and Larvicidal Activity of *Ruta graveolens* Essential Oil and its Mayor Individual Constituents Against *Aedes aegypti*, *Planta Med*, 57(2), 231-236.
- Tiwary, M., Naika, T.N., Dhananjay, K., Mittalc, P.K., & Yadavc, S., 2007, Chemical Composition and Larvicidal Activities of The Essential Oil of *Anthoxylum armatum* DC (Rutaceae) Againts Three Mosquito Vectors, *J Vect Borne Dis*, 44(9), 198-204.
- Voight, R., 1995, *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*, 558-560, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Wagner, H & Sabine, B., 1995, *Plant Drug Analysis*, Edisi Kedua, 144-145, Springer, Fraud.

- Warikoo,R., Ankita, R., Kaur, S., Roopa, S., Naim, W., & Sarita, K., 2012, Larvicidal and Irritant Activities of Hexane Leaf Extracts of *Citrus Sinensis* Against Dengue Vector *Aedes aegypti* L., *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 152-155.
- WHO, 2009, *The WHO Recommended Classification of Pesticides by Hazard*, Chapter 5: Acute Toxicity, 1-19, International Programme of Chemical Safety, Stuttgart.
- Widiarti, Boewono, D.T., Barodjil, & Mujiyono, 2005, Uji Kerentanan *Anopheles aconitus* dan *Anopheles maculatus* Terhadap Insektisida Sintetik Pyrethroid di Jawa Tengah dan DIY, *Jurnal Ekologi Kesehatan*, 4(2), 227-232.