

## ANALISIS SENYAWA ALKALOID DAUN TANAMAN JOHAR (*Cassia siamea* Lmk.) YANG BERPOTENSI SEBAGAI INSEKTISIDA PADA NYAMUK

### The Analyze Alkaloid Compound of Johar Plant Leaf (*Cassia siamea* lmk.) which Potential as Insecticide for Mosquito

\*Topan Setiawan, Sitti Aminah, dan Minarni R. Jura

Pendidikan Kimia/FKIP - Universitas Tadulako, Palu 94118

Recieved 30 June 2013, Revised 26 August 2013, Accepted 27 August 2013

#### Abstract

*Research about alkaloid compound of johar plant leaf (Cassia siamea Lmk.) which potential as insecticide at mosquito. The methods are used is laboratory experiment from johar plant leaf extract. Alkaloid has product from separated extract of johar plant leaf. Maximum wave has product by UV-Vis spectrophotometer is 306 nm. TLC product of johar plant leaf extracts are 2 components (Rf 0.89 and 0.91). TLC product of johar plant leaf alkaloid is 1 component (Rf 0.91). The product of HPLC showed 4 components for johar plant leaf and 2 components for alkaloid. The insecticide force of 25 mosquitos did by third for extract and alkaloid. The products are johar leaf extract have insecticide force for each treatment are 14, 10 and 14 mosquitos although alkaloids are 13, 8 and 2 mosquitos.*

Keywords: Alkaloid, Mosquito Insecticide, Johar Plant (*Cassia siamea* Lmk.)

#### Pendahuluan

Manfaat tumbuhan sangat beragam di berbagai bidang, terutama di bidang kesehatan yaitu pemanfaatan tanaman sebagai tanaman obat (Zulnely, 2004). Tanaman obat telah dimanfaatkan turun-temurun dari dulu hingga sekarang dan telah dikembangkan dengan ilmu pengetahuan dan teknologi sehingga diketahui kandungan senyawa kimia yang berperan sebagai obat dalam tanaman tersebut (Siregar, 2005). Selain itu dalam bidang kesehatan, tanaman juga digunakan sebagai pencegah terjadinya suatu penyakit. Salah satunya adalah penyakit Demam Berdarah Dengue (DBD) (Aryani, 2011).

Salah satu daerah dengan tingkat penderita penyakit Demam Berdarah Dengue (DBD) tertinggi adalah Sulawesi Tengah. Penyebab penyakit DBD adalah nyamuk *Aedes* jenis *Aedes Aegypti*. Selain penyakit DBD, masih banyak lagi penyakit yang ditimbulkan oleh

nyamuk dengan spesies yang berbeda-beda, seperti malaria yang disebabkan nyamuk *Anopheles*. Nyamuk *Anopheles* mempunyai ragam jenis yang tersebar di Indonesia. Di Sulawesi, walaupun sering terdapat bersama-sama, jumlah larva *An. subpictus* selalu jauh lebih banyak daripada *An. sundanicus*. Di daerah endemik malaria Lombok dan Sumbawa, Nusa Tenggara Barat, *An. subpictus* merupakan spesies yang dominan sepanjang tahun (Ruben, 2005). Dari banyaknya penyakit yang dibawa oleh nyamuk dengan spesies yang berbeda-beda, untuk itu perlu menghindari gigitan nyamuk. Selain pengendalian vector (agen perantara penularan nyamuk), pola hidup bersih dan gerakan 3M, juga menghindari gigitan nyamuk dengan menggunakan kelambu dan menggunakan obat nyamuk oles, bakar atau elektrik.

Akan tetapi obat anti nyamuk yang ada di masyarakat sekarang ini memiliki kandungan bahan aktif sintesis dari jenis insektisida pembunuh serangga dan kandungan zat aditif tertentu, berupa pewarna, pengawet serta pewangi. Bahan-bahan aditif, seperti

\*Correspondence:

T. Setiawan

Program Studi Pendidikan Kimia, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Tadulako

email: topone\_s08@yahoo.co.id

Published by Universitas Tadulako 2013

zat aktif yang ada dalam obat nyamuk juga dapat merugikan kesehatan (Agus, 2010). Hal itu dibuktikan dalam Penelitian YLKI yang menemukan empat bahan aktif di dalam obat antinyamuk yaitu jenis dichlorvos, propoxur, pyrethroid, dan diethyltoluamide serta bahan kombinasi dari ketiganya (Salam, 2011).

Oleh karena itu, pemanfaatan tumbuhan dapat menjadi solusi untuk membuat sebuah obat nyamuk yang berbahan dasar alami. Salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai obat anti nyamuk adalah tanaman Johar (*Cassia siamea* Lmk.). Sebagian masyarakat Indonesia menggunakan tanaman Johar untuk menanggulangi berbagai macam penyakit, salah satu diantaranya adalah penyakit malaria (Sripeni, 2010). Beberapa kemungkinan tanaman johar dapat menyembuhkan penyakit malaria yaitu kemungkinan daun johar dapat membunuh parasit malaria atau dapat menurunkan demam karena pada penderita malaria mengalami demam atau hanya sekedar meningkatkan daya tahan tubuh untuk mengatasi keadaan berkurangnya daya tahan tubuh pada saat seseorang menderita penyakit malaria (Wahjoedi, 1997).

Dalam pengembangannya, kini daun johar telah dikembangkan menjadi obat anti nyamuk bakar. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Salam (2011), tanaman johar dapat dijadikan obat anti nyamuk bakar dengan membuat daun tanaman tersebut menjadi bubuk dan menambahkan tepung biji durian sebagai perekat dengan perbandingan berat 1:3. Namun permasalahannya adalah belum diketahuinya zat aktif yang berperan sebagai insektisida pada nyamuk. Hal ini sangat penting, karena dengan diketahuinya senyawa aktif yang berperan sebagai insektisida pada nyamuk maka dapat dikembangkan kedepannya menjadi antinyamuk yang lebih ramah lingkungan.

Beberapa senyawa aktif yang telah diketahui berfungsi sebagai insektisida nyamuk berasal dari tanaman. Tanaman tersebut diantaranya adalah lavender, akar wangi, sereh, geranium dan selasih yang mengandung senyawa aktif geraniol dan sitronelol yakni senyawa aktif dari golongan monoterpen (Zabida, 2006). Selain itu, tanaman jenis zodia juga dapat mengusir nyamuk karena mengandung senyawa aktif seperti evodiamine dan rutaecarpine dari golongan alkaloid yang tak disukai serangga (Kardinan, 2003). Daun tanaman Johar mengandung senyawa kimia seperti

antrakinona, antrona, flavona, serta beberapa triterpenoid dimana senyawa aktif sitronelol dan geraniol termasuk dalam golongan tersebut serta alkaloid, termasuk pula kasiadimina (Minarti, 2002) sehingga yang dicurigai senyawa aktif yang berpotensi sebagai insektisida pada nyamuk dalam daun tanaman johar adalah dari golongan terpenoid dan alkaloid.

Salah satu contoh senyawa alkaloid yang telah dikenal yaitu Nikotina yang digunakan sebagai stimulant terhadap sistem saraf pada dosis rendah. Jika dosis tersebut dilakukan terus menerus akan menyebabkan penekanan terhadap system saraf sehingga aktifitasnya akan berlangsung di bawah normal (Zulnely, 2004).

Identifikasi dan pemisahan alkaloid telah banyak dilakukan dengan metode dan pereaksi yang beragam. Pereaksi campuran feriklorida dan asam perklorat digunakan untuk mendeteksi alkaloid Rauwolfia. Alkaloid Cinchona memberikan warna jelas biru fluoresen pada sinar ultra ungu (UV) setelah direaksikan dengan asam format dan fenilalkilamin dapat terlihat dengan ninhidrin. Glikosida steroidal sering dideteksi dengan penyemprotan vanilin-asam fosfat. Pereaksi Oberlin-Zeisel, larutan feri klorida 1-5% dalam asam klorida 0,5 N, sensitif terutama pada inti tripolon alkaloid kolkisin dan sejumlah kecil 1 µg dapat terdeteksi (Jimmi, 2005). Pemisahan alkaloid dapat dilakukan dengan metode kromatografi, baik kromatografi lapis tipis, kromatografi kolom maupun kromatografi cair kinerja tinggi atau High Performance Liquid Chromatografi (HPLC) yang juga biasa digunakan dalam analisis komponen senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid dan senyawa metabolit sekunder yang lain (Idroes, 2009).

### Metode

Daun johar tua diperoleh dari sekitar kampus Universitas Tadulako yang sampelnya di ambil secara acak. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kimia FKIP UNTAD dan Balai Litbang Pengendalian Penyakit Bersumber Binatang (P2B2) di Desa Labuan Kabupaten Donggala, Sulawesi Tengah. Waktu pelaksanaan penelitian yakni bulan April-Mei 2013.

Sampel daun johar tua dipilih yang masih segar dari berbagai pohon dan di ambil pada pagi hari. Daun Johar dicuci dan dikeringkan

dengan cara diangin-anginkan, lalu dirajang kecil-kecil kemudian diblender sampai halus. Sampel yang telah dihaluskan sebanyak 300 g diekstrak dengan metode maserasi sebanyak 2 kali yakni merendam sampel dalam pelarut etanol 70% sebanyak 1 L pada tabung atau toples berdiameter 8.5 cm selama 24 jam. Kemudian dipisahkan antara residu dan filtratnya. Setelah itu filtrat dipekatkan dengan menggunakan rotari evaporator (Taofik, 2010). Beberapa milliliter ekstrak pekat hasil ekstraksi ditambahkan 2-3 tetes reagen Dragendorff. Jika terbentuk endapan coklat hingga jingga maka menunjukkan adanya alkaloid.

Untuk memisahkan alkaloidnya, beberapa milliliter ekstrak pekat hasil ekstraksi ditambahkan  $H_2SO_4$  0.1 N hingga pH 3 dengan menggunakan pHmeter. Kemudian ditambahkan  $NH_3$  pekat hingga pH 9. Endapan yang terbentuk adalah endapan alkaloid (Sumerta, 1995). Endapan yang diperoleh disaring dan dilarutkan menggunakan aquadest. Larutan di atas diukur spektrum serapannya menggunakan spektrofotometer UV-VIS Genesis seri 110 pada panjang gelombang 250-360 nm.

Ekstrak pekat hasil ekstraksi ditotolkan pada plat TLC silica gel dari sisi bawah (kira-kira 2 cm dari ujung) dengan menggunakan pipa kapiler dan dibiarkan hingga kering. Plat TLC selanjutnya dimasukkan dalam chamber pengembangan yang telah diisi eluen  $CHCl_3$ - $CH_3OH$  dengan perbandingan 5:1. Selanjutnya bejana ditutup rapat dan eluen dikembangkan sampai batas yang sudah ditentukan. Bercak yang terbentuk kemudian disinari di bawah lampu UV. Dilakukan hal yang sama untuk alkaloid yang sudah dipisahkan. Selain itu, ekstrak pekat hasil ekstraksi juga diuji pada HPLC PelkinElmer seri 200 dengan jenis kolom C18 dan fase gerak berupa metanol-air dengan perbandingan 7:3, melakukan hal yang sama untuk alkaloid yang sudah dipisahkan.

Pengujian pada nyamuk dilakukan dengan terlebih dahulu ekstrak pekat hasil ekstraksi dincerkan menggunakan aquadest. Setelah itu diujikan pada 25 ekor nyamuk dengan menggunakan wadah obat nyamuk elektrik dalam sebuah ruang penangkaran nyamuk di Balai Litbang Pengendalian Penyakit Bersumber Binatang (P2B2). Perlakuan yang sama pada pengujian nyamuk oleh alkaloid yang telah dipisahkan dari ekstrak daun

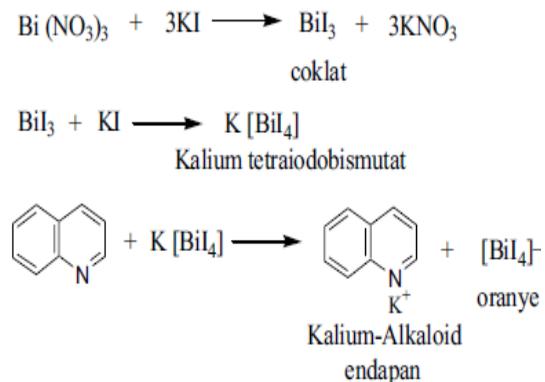
johar. Endapan alkaloid yang terbentuk dari perlakuan sebelumnya, kemudian dilarutkan dalam aquadest.

### Hasil dan Pembahasan

Pemilihan pelarut untuk proses maserasi memberikan efektifitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan senyawa bahan alam pelarut tersebut. Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini yaitu pelarut etanol 70%. Pelarut ini merupakan pelarut yang paling banyak digunakan dalam proses isolasi senyawa organik bahan alam, karena dapat melarutkan seluruh golongan senyawa metabolit sekunder (Taofik, 2010). Ekstrak kasar yang diperoleh dari proses ekstraksi kemudian dipekatkan dengan rotary evaporator.

Ekstrak kasar daun johar ditambahkan dengan 3 tetes reagen Dragendorff. Penambahan tersebut menghasilkan endapan berwarna jingga kecoklatan yang menandakan bahwa dalam ekstrak tersebut mengandung alkaloid. Hasil positif alkaloid pada uji Dragendorff ditandai dengan terbentuknya endapan jingga kecoklatan (Meiske, 2008).

Pada pembuatan pereaksi Dragendorff, bismut nitrat dilarutkan dalam HCl agar tidak terjadi reaksi hidrolisis karena garam-garam bismut mudah terhidrolisis membentuk ion bismutil ( $BiO^+$ ). Agar ion  $Bi^{3+}$  tetap berada dalam larutan, maka larutan itu ditambah asam sehingga kesetimbangan akan bergeser ke arah kiri. Selanjutnya ion  $Bi^{3+}$  dari bismut nitrat bereaksi dengan kalium iodida membentuk endapan hitam Bismut(III) iodida yang kemudian melarut dalam kalium iodida berlebih membentuk kalium tetraiodobismutat. Pada uji alkaloid dengan pereaksi Dragendorff, nitrogen digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan  $K^+$  yang merupakan ion logam (Soerya, 2005). Reaksi alkaloid pada



**Gambar 1** Reaksi Uji Dragendorff (Soerya, 2005)

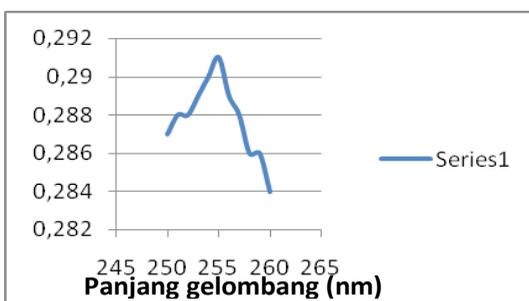
uji Dragendorff ditunjukkan pada Gambar 1.

Bagian kedua dari ekstrak kasar daun johar kemudian digunakan memisahkan alkaloid. Pemisahan dilakukan dengan cara menambahkan  $H_2SO_4$  0.1 N hingga pH 3. Kemudian ditambahkan  $NH_3$  pekat hingga pH 9. Penambahan tersebut menghasilkan endapan berwarna coklat. Endapan berwarna coklat tersebut diambil sedikit untuk kemudian dilarutkan dan diuji kembali dengan reagen Dragendorff. Hasil uji menunjukkan positif alkaloid dengan endapan berwarna jingga kecoklatan hal ini sesuai bahwa Alkaloid memberikan endapan berwarna coklat jika direaksikan dengan reagen Dragendorff (Potassium bismuth iodide solution) (Anmol, 2011). Dengan demikian endapan coklat hasil pemisahan benar menunjukkan alkaloid. Sisa endapan yang diperoleh dari hasil pemisahan kemudian dikeringkan dan dimasukkan ke dalam desikator. Desikator ini dapat menjauhkan endapan dari kelembaban udara sehingga endapan dapat terjaga kekeringannya (Underwood, 1996).

Larutan dari endapan alkaloid yang diperoleh kemudian diukur panjang gelombang maksimumnya dengan menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. Dan diperoleh panjang gelombang maksimum pada 255nm dan 306 nm. Secara umum senyawa bahan alam mempunyai dua panjang gelombang maksimum. Senyawa bahan alam khususnya alkaloid diukur pada panjang gelombang maksimum 254 dan 366 nm (Soerya, 2005). Data panjang gelombang dapat dilihat pada Gambar 2 dan Gambar 3.

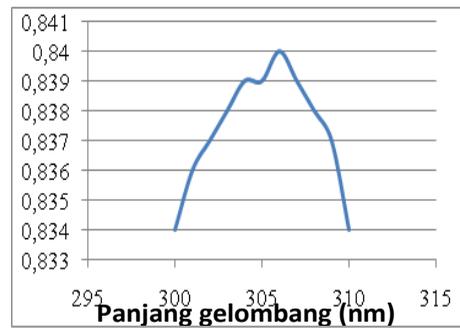
Secara teori suatu senyawa aktif dapat dihitung panjang gelombang maksimum dengan melihat struktur senyawanya (Hendayana, 1994). Dengan demikian, dapat dihitung panjang gelombang maksimum jenis senyawa alkaloid yang diduga ada dalam daun

#### Absorbansi



**Gambar 2** Grafik Hubungan Absorbansi dengan Panjang Gelombang bagian 1

#### Absorbansi



**Gambar 3** Grafik Hubungan Absorbansi dengan Panjang Gelombang bagian 2

Johar. Daun johar dapat membunuh nyamuk sehingga diduga senyawa aktif yang dapat membunuh nyamuk adalah dari golongan alkaloid indol seperti evodiamine seperti yang terdapat pula pada daun Zodia (Kardinan, 2003). Dengan demikian yang dihitung secara teori panjang gelombang maksimum adalah struktur senyawa evodiamine. Hasil perhitungan panjang gelombang maksimum yakni 297 nm. Koreksi dilakukan terhadap hasil pengukuran karena aturan perhitungan panjang gelombang yang digunakan menggunakan standart etanol. Untuk itu, pengukuran dengan menggunakan air terkoreksi dengan mengurangi 8 nm untuk hasil pengukuran sehingga hasil pengukuran sebesar 298 nm. Dengan demikian selisih antara perhitungan dan pengukuran yaitu 1 nm sehingga diduga senyawa alkaloid dalam daun Johar adalah jenis alkaloid evodiamine.

Kromatografi Lapis Tipis dilakukan untuk mengetahui komponen dalam suatu larutan atau zat. Ekstrak kasar dan larutan alkaloid yang diperoleh kemudian dilihat komponennya dengan kromatografi lapis tipis dengan fase gerak berupa  $CHCl_3-CH_3OH$  dengan perbandingan 5:1. Campuran  $CHCl_3-CH_3OH$  dan  $CH_2Cl_2-CH_3OH$  merupakan eluen yang baik digunakan dalam pemisahan komponen alkaloid. (Kholifah, 2008). Sebelum plat KLT digunakan terlebih dahulu plat KLT tersebut dikeringkan dalam oven selama 30 menit untuk menghilangkan kadar air serta mengaktifkan plat tersebut.

Adapun data hasil kromatografi lapis tipis adalah sebagai berikut:

Dari data di atas maka dapat diketahui bahwa dari ekstrak kasar terdapat komponen alkaloid yang memiliki nilai  $R_f$  0.89 karena nilai  $R_f$  tersebut mendekati nilai  $R_f$  dari alkaloid yaitu 0.91. Nilai  $R_f$  alkaloid sendiri yang diketahui adalah 0.937 (Yuhernita, 2011).

Pengujian dengan menggunakan HPLC

**Tabel 1** Data Nilai Rf untuk KLT

No.	Jenis Bahan	Rf
1	Ekstrak Daun Johar	komponen 1 = 0.89 komponen 2 = 0.36
2	Alkaloid	0.91

bertujuan untuk membandingkan hasil pemisahan komponen dengan menggunakan KLT. Pemisahan dengan HPLC mempunyai

mengalami kematian setelah dilihat selama 24 jam. Dan hasilnya menunjukkan bahwa daun johar dan alkaloid dapat membunuh nyamuk atau bersifat toksik bagi nyamuk (Hudzari dkk, 2011). Adapun data daya insektisida terhadap nyamuk dapat dilihat dalam Tabel 2.

Cara kerja ekstrak kasar daun johar dan larutan alkaloid sebagai insektisida adalah cara kerja dari insektisida fumigant. Insektisida fumigant yakni insektisida yang difumigasikan atau diuapkan dalam bentuk gas (Jumar, 1997).

**Tabel 2** Data Tingkat Kematian Nyamuk

No.	JENIS BAHAN	JUMLAH NYAMUK MATI		
		Perlakuan I	Perlakuan II	Perlakuan III
1	Ekstrak Daun Johar	14	10	14
2	Alkaloid Daun Johar	13	8	2

beberapa keuntungan dibandingkan dengan metode konvensional seperti waktu analisis yang cepat, biaya yang rendah dan kemungkinan untuk menganalisis sampel yang tidak stabil (Nurhamidah, 2005). Hasil Pengujian HPLC dengan jenis kolom C18 dan fase gerak metanol-air dengan perbandingan 7:3 menunjukkan perbedaan dengan hasil pada KLT. Untuk HPLC, ekstrak daun johar menunjukkan 4 komponen sedangkan larutan alkaloid menunjukkan 2 komponen.

Ekstrak kasar dan larutan alkaloid hasil pemisahan kemudian diujikan daya berantasnya terhadap nyamuk. Alat yang digunakan adalah alat anti nyamuk elektrik yang terdapat di pasaran meskipun dalam penelitian sebelumnya pengujian daya berantas terhadap nyamuk daun johar dalam bentuk obat anti nyamuk bakar. Obat anti nyamuk bakar ini merupakan kemasan komersial yang sering dijumpai di masyarakat (Suyono dkk, 2012). Alat yang digunakan pada penelitian ini alat anti nyamuk elektrik. Alat ini dapat menguapkan bahan aktif dari ekstrak kasar dan larutan alkaloid daun johar. Dengan demikian ekstrak kasar dan larutan alkaloid akan bekerja sebagai insektisida fumigan atau insektisida yang diuapkan dalam bentuk gas (Jumar, 1997)

Pengujian daya bunuh bahan aktif dilakukan terhadap 25 ekor nyamuk yang dilakukan sebanyak 3 kali. Lama pengujian dilakukan selama 1 jam yang kemudian dilihat keadaan nyamuk. Nyamuk yang mati setelah 1 jam pengujian diperkirakan hanya mengalami pingsan. Nyamuk baru dapat dipastikan

Uap ekstrak kasar daun johar dan larutan alkaloid akan masuk ke dalam tubuh nyamuk melalui sistem pernapasan. Sistem pernapasan nyamuk berupa trakea melalui jaringan kulit kutikula. Bahan aktif dari kedua larutan tersebut akan masuk ke dalam kutikula nyamuk dan bekerja sebagai racun kontak dan ada pula yang masuk dan menyebar ke seluruh tubuh nyamuk termasuk sistem pencernaan melalui sistem pernafasan dan bekerja sebagai racun perut.

Penyerapan insektisida yang mempunyai efek racun kontak sebagian besar terjadi pada kutikula. Senyawa aktif akan memberikan penetrasi ke dalam tubuh nyamuk melalui bagian yang dilapisi oleh kutikula yang tipis, seperti selaput antar ruas, selaput persendian pada pangkal embelan dan kemoreseptor pada tarsus. Senyawa aktif diduga mampu berdifusi dari lapisan kutikula terluar melalui lapisan yang lebih dalam menuju hemolimpa, kemudian mengikuti aliran hemolimpa dan disebarkan ke seluruh bagian tubuh nyamuk sehingga lama kelamaan tubuh nyamuk akan kehilangan cairan secara terus menerus dan akhirnya mengalami kematian (Priyono, 1994).

Sebagai racun perut, penyerapan insektisida yang mempunyai efek racun perut sebagian besar berlangsung dalam mesenteron (saluran pencernaan bagian tengah). Dinding mesenteron tersusun dari sel-sel epitelium yang terdiri dari dua lapis, yaitu senyawa lipida dan protein yang tersebar pada bagian-bagian tertentu dari lapisan lipida tersebut. Apabila senyawa ini kontak atau masuk ke dalam tubuh

maka akan menghalangi ikatan enzim NADH dengan sitokrom c-reduktase dan sitokrom kompleks sub unit I yang berada di dalam mitokondria serangga. Akibatnya sel kehilangan energi dan pernafasan sel akan terhenti sehingga akan mengakibatkan kematian pada nyamuk (Fikri, 2010).

### Kesimpulan

Pada daun tanaman Johar (*Cassia siamea Lmk.*) terdapat senyawa alkaloid evodiamine yang berpotensi sebagai insektisida pada nyamuk.

### Ucapan Terimah Kasih

Ucapan terima kasih Penulis berikan kepada laboran Laboratorium kimia FKIP Universitas Tadulako yang banyak membantu Penulis untuk menyelesaikan penelitian ini.

### Referensi

- Agus Kardinan, Azmi Dhalimi. (2010). Potensi adas (*Foeniculum vulgare*) sebagai bahan aktif lotion anti nyamuk demam berdarah (*Aedes aegypti*). *Buletin Littro*. 21(1), 61-68.
- Anmol Sharma, Lincy Joseph, Mathew George. 2011. Phytochemical and antimicrobial evaluations of leaf extract of lantana camara. *International Journal of Pharmaceutical & Medicinal Innovations*. 1, 22-31.
- Aryani, P., & Atik, T. (2011). Pengetahuan dan Pengalaman Ibu Rumah Tangga atas Nyamuk Demam Berdarah Dengue. *Makara, Kesehatan*. 15(1), 6-14.
- Fikri, & Mohammad, I. (2010). Identifikasi dan uji toksisitas senyawa sitronelal daun sereh wangi (*Cymbopogon nardus L.*) sebagai anti feedant terhadap hama thrips pada tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas L.*). Malang: UIN Malang.
- Hendayana, Sumar. (1994). *Kimia analitik instrumen*. Semarang: IKIP Semarang Press.
- Hudzari R. M., Somad M. A. H. A., Rizwan Y. M. Asimi M. N. N., Abdullah A. B. C. (2011). Development of automatic alkaloid removal system for dioscorea hispida. *Frontiers in Science*. 1(1), 16-20.
- Idroes, Rinaldi. (2009). Pemanfaatan Deret Homolog alkil benzena untuk penentuan nilai indeks retensi kovats dalam RP-HPLC sistem pelarut metanol/air. *Majalah Farmasi Indonesia*. 20(2), 77-83.
- Jimmi Copriady, Elva Yasmi, Hidayati. (2005). Isolasi dan karakterisasi senyawa kumarin dari kulit buah jeruk purut (*Citrus hystrix DC*). *Jurnal Biogenesis*. 2(1), 13-15.
- Jumar. (1997). *Entomologi pertanian*. Banjarbaru: Rineka Cipta.
- Kholifah, N. (2008). Pengaruh ekstrak kasar senyawa alkaloid dari daun (*Gynura pseudochina L. DC.*) terhadap aktivasi enzim lipase. Malang: Universitas Islam negeri Malang.
- Meiske Sangi, Max R.J. Runtuwene, Herny E.I. Simbala, Veronica M. A. Makang. (2008). Analisis fitokimia tumbuhan obat di kabupaten Minahasa Utara. *Analisis Fitokimia Tumbuhan*. 1(1), 47-53.
- Minarti., Puspa, D. N. L., Kardono, L. B. S., & Bambang, W. (2002). Penapisan Kimia Senyawa Alkaloid dalam Ekstrak Daun Johar (*Cassia siamea Lmk.*). *Prosiding Seminar Tantangan Penelitian Kimia*. 44, 199-205.
- Nurhamidah. (2005). Penentuan kondisi optimum HPLC untuk pemisahan residu pestisida imidaklopid, profenofos dan deltametrin pada cabai (*Capsicum annum*). *Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian Indonesia*. 7(2), 87-93.
- Prijono, D. (1994). *Teknik pemanfaatan insektisida botanis*. Bogor: Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor.
- Ruben, D., Darukutni., Satimin, H., & Adi, P. (2005). Variasi isozim dan morfologi pada anopheles subpictus grassi vektor dan nonvektor malaria. *Biodiversitas*. 6(4), 229-232.
- Salam., Armida, A., Topan, S., & Siti, F. (2011). Pemanfaatan daun tanaman johar (*Casia siamea*) sebagai obat anti nyamuk bakar dengan perekat tepung biji durian. (tidak diterbitkan).
- Siregar, P. H. (2005). Isolasi senyawa alkaloid dari ekstrak metanol daun tumbuhan jambu

- keling. *Jurnal Sains Kimia*. 9, 82-84.
- Soerya, D. M., Venty, S., & Suyono. (2005). Skrining fitokimia dan analisis kromatografi lapis tipis komponen kimia buah labu siam (*Sechium edule Jacq. Swartz.*) dalam ekstrak etanol. *Jurnal Biofarmasi*. 3(1), 26-31.
- Sripeni, F., Supriyatna., Ajeng, D., & Abdul Muis. (2010). Aktivitas anti plasmodium ekstrak etanol beberapa tanaman obat terhadap mencit yang diinfeksi plasmodium berghei. *Prosiding SNaPP3010 Edisi Eksakta*. 1, 1-13.
- Sumerta, I. G. (1995). Isolasi alkaloid jenis quinina dalam batang kayu kuning (*Acanthisia Flavemerr*). Palu: Universitas Tadulako (tidak diterbitkan).
- Suyono., Din, S., & Didik, S. (2012). Distribusi resistensi nyamuk aedes aegypti terhadap insektisida sipermetrin di semarang. *Seminar Hasil-Hasil Penelitian*. 6, 263-269.
- Taofik, M. (2010). Isolasi dan identifikasi senyawa aktif ekstrak daun [*Thitonia diversifolia*] sebagai bahan insektisida botani untuk pengendalian hama tungau (*Eriophyidae*). Malang: Universitas Negeri Malang.
- Underwood, A. L. (1996). *Analisis kimia kuantitatif*. Jakarta: Erlangga.
- Wahjoedi B., Yuni, N. B., & Nuratmi, B. (1997). Efek antipiretik ekstrak etanol daun johar (*Cassia siamea Lmk.*) pada tikus putih. *Buletin Penelitian Kesehatan*. 25, 34-38.
- Yuhernita, J. (2011). Analisis senyawa metabolit sekunder dari ekstrak metanol daun surian yang berpotensi sebagai antioksidan. *Makara, Sains*. 15(1), 48-52
- Zabida, L. (2006). Uji daya repellent minyak atsiri zodia (*Evodia suaveolens, Scheff*), selasih (*Ocimum, sp.*) dan lavender (*Lavandula latifolia, Chaix*) pada nyamuk. Malang: Universitas Islam Negeri Malang.
- Zulnely, E. S., Sumadiwangsa., Erik, D., & Umi, K. (2004). Komponen aktif dua puluh jenis tumbuhan obat di taman nasional gunung Halimun. *Jurnal Penelitian Hasil Hutan*. 22(1), 43-50