

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 LATAR BELAKANG

Nyamuk adalah salah satu jenis serangga yang menjadi vektor penyakit di dunia, tak terkecuali di Indonesia yang merupakan negara beriklim tropis. Daerah beriklim tropis merupakan tempat yang cocok untuk nyamuk berkembang biak. Penyakit yang disebarkan oleh nyamuk pada manusia antara lain adalah filariasis dan *encephalitis* oleh nyamuk *Culex*, malaria oleh nyamuk *Anopheles*, dan demam berdarah oleh nyamuk *Aedes* (Depkes, 2002).

Nyamuk genus *Aedes sp.* terutama *Aedes aegypti* yang sering disebut sebagai *Tiger Mosquito* dapat menularkan virus *Dengue* melalui gigitannya, karena gigitannya dapat mengandung virus *Dengue* yang terkandung pada kelenjar ludahnya setelah menghisap darah penderita *Dengue*. Virus *Dengue* merupakan virus RNA yang menyebabkan penyakit dengan manifestasi klinis berupa Demam *Dengue*, Demam Berdarah *Dengue*, dan *Dengue Shock Syndrome*. Demam berdarah (DB) atau demam berdarah *dengue* (DBD) adalah penyakit febris akut yang ditemukan di daerah tropis, dengan penyebaran geografis yang mirip dengan malaria. Penyakit ini disebabkan oleh virus dari empat serotipe virus genus *Flavivirus*, famili *Flaviviridae*. (Cahyati, 2006).

Berbagai upaya dapat dilakukan untuk mencegah penularan dan gigitan nyamuk ini dengan tujuan utama adalah menurunkan gigitan nyamuk *Aedes aegypti* dan angka wabah penyakit *Dengue* ini sampai serendah – rendahnya, dan sehingga kemampuan sebagai vektor akan menghilang dengan cara kimiawi dan biologi terhadap telur, larva, pupa, dewasa maupun terhadap tempat perindukannya.

Produk pencegah gigitan nyamuk dalam bentuk oles (misalnya *Autan*), spray (misalnya *Soffel*) banyak beredar di pasaran dan digunakan oleh masyarakat. Produk ini terbuat dari berbagai senyawa kimiawi antara lain *N,N-diethyl-m-toluamide* (DEET) adalah salah satu contoh *repellent* yang tidak berbau dan berbahaya bagi kesehatan. Untuk menghindari efek negatif dari

penggunaan anti nyamuk yang berasal dari bahan-bahan kimia tersebut, dilakukan penelitian yang menggunakan senyawa alami yang berasal dari tanaman (ekstrak) yang dapat berperan sebagai penghalau nyamuk (*repellent*), misalnya penelitian yang telah dilakukan oleh Manurung (2013) di Sumatra terhadap pengaruh daya tolak ekstrak etanol zodia (*Evodia suaveolens*) terhadap gigitan nyamuk *Aedes* sp. (Tawatsin *et al*, 2001).

Zodia (*Evodia suaveolens*) yang termasuk ke dalam keluarga *Rutaceae*, dikatakan mengandung *evodiamine* dan *rutacaerpine* . Dari beberapa literatur, tanaman ini bermanfaat sebagai antikanker. Menurut hasil analisa yang dilakukan di Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (Balittro) dengan gas kromatografi, minyak yang disuling dari daun tanaman ini mengandung *linalool* (46%) dan *a-pinene* (13,26%) dimana *linalool* sudah sangat dikenal sebagai pengusir (*repellent*) nyamuk., (Agus K, 2004).

Beberapa penelitian sebelumnya telah membuktikan efektivitas ekstrak etanol daun zodia sebagai *repellent* . Salah satunya adalah pada penelitian yang dilakukan oleh Husain dkk, (2013), yang membuktikan bahwa ekstrak etanol daun zodia mempunyai efek *repellent* yang dioleskan pada lengan terhadap nyamuk *Aedes aegypti* , namun penelitian ini masih mempunyai kekurangan yaitu tidak meneliti perbedaan pada pengaruh lama waktu perlakuannya.

Dari pengetahuan yang didapatkan, penulis tertarik untuk mengulas lebih jauh tentang potensi *repellent* daun zodia dari segi pengaruh konsentrasi dan lama waktu perlakuan yang diberi . Dalam memperoleh ekstrak, penulis memakai metode maserasi dengan pelarut etanol 96%, yang dimana teknik ekstraksi maserasi mempunyai kelebihan cara pengerjaan dan peralatan sederhana dan mudah dilakukan.

1.2 RUMUSAN MASALAH

Apakah Ekstrak etanol daun zodia memiliki efek *repellent* terhadap nyamuk *Aedes* sp ?

1.3 Tujuan

1.3.1 TujuanUmum

Mengetahui efek ekstrak etanol daun zodia (*Evodia suaveolens*.) sebagai *repellent* terhadap *Aedes*.

1.3.2 Tujuan Khusus

- Untuk mengetahui hubungan antara besar potensi *repellent* terhadap konsentrasi ekstrak etanol daun zodia.
- Untuk mengetahui hubungan antara besar potensi *repellent* terhadap interval waktu perlakuan.

1.4 Manfaat

Dari penelitian ini, diharapkan dapat memberi manfaat :

1. Sebagai alternatif pengendalian hinggapan nyamuk dewasa *Aedes sp* pada manusia dengan bahan tradisional yang bersifat sebagai *repellent* .
2. Sebagai tambahan informasi pada dunia kedokteran dan masyarakat mengenai potensi ekstrak etanol zodia (*Evodia suaveolens*) sebagai *repellent* .
3. Membantu menurunkan penularan penyakit yang diperantarai *Aedes sp*.
4. Memberikan data dasar yang diperlukan untuk penelitian lebih lanjut.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Aedes sp*

2.1.1 Taksonomi Nyamuk *Aedes sp*

Kingdom : *Animalia*

Phylum : *Arthropoda*

Class : *Insecta*

Ordo : *Diptera*

Family : *Culicidae*

Genus : *Aedes*

Subgenus : *Stegomyia*

Spesies : *A. aegypti* (Staff pengajar Parasitology,2004)

2.1.2 Morfologi Nyamuk *Aedes* sp.

2.1.2.1 Telur *Aedes* sp.

Setiap kali bertelur, nyamuk betina dapat mengeluarkan sekitar 100 butir telur dengan ukuran sekitar 0,7 mm per butir. Ketika pertama kali dikeluarkan oleh induk nyamuk, telur *Aedes aegypti* berwarna putih dan lunak. Telur tersebut kemudian menjadi berwarna hitam dan keras.

Telur tersebut berbentuk ovoid yang meruncing dan selalu diletakkan satu per satu, seperti dapat dilihat pada gambar 2.1. Telur-telur *Aedes aegypti* dapat berkembang pada habitat kontainer kecil yang rentan terhadap kekeringan. Bertahan dalam kekeringan dan kemampuan telur *Aedes aegypti* untuk menetas dapat menimbulkan masalah dalam pengendalian tahap immatur.

Telur *Aedes aegypti* paling banyak diletakkan pada ketinggian 1,5 cm diatas permukaan air, dan semakin tinggi dari permukaan air atau semakin mendekati permukaan air jumlahnya semakin sedikit.

Telur *Aedes* sp. tidak mempunyai pelampung dan diletakkan satu persatu di atas permukaan air. Dibungkus dalam kulit yang berlapis tiga dan mempunyai saluran berupa corong untuk masuknya spermatozoa. Telur *Aedes aegypti* dalam keadaan kering dapat tahan bertahun – tahun lamanya. Telur berbentuk elips dan mempunyai permukaan yang polygonal. Telurnya tidak akan menetas sebelum tanah digenangi air dan telur akan menetas dalam waktu satu sampai tiga hari pada suhu 30°C tetapi membutuhkan tujuh hari pada suhu 16°C (Neva FA and Brown HW, 1994).



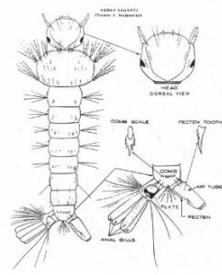
Gambar. 2.1 Telur *Aedes sp.*

2.1.2.2. Larva *Aedes Aegypti*

Larva *Aedes aegypti* memiliki sifon yang pendek, dan hanya ada sepasang sisik subsentral yang jaraknya lebih dari $\frac{1}{4}$ bagian dari pangkal sifon. Ciri-ciri tambahan yang membedakan larva *Aedes aegypti* dengan genus lain adalah sekurang-kurangnya ada tiga pasang setae pada sirip ventral, antena tidak melekat penuh dan tidak ada setae yang besar pada toraks. Ciri ini dapat membedakan larva *Aedes aegypti* dari umumnya genus Culicine, kecuali *Haemagogus* dari Amerika Selatan.

Larva *Aedes aegypti*. bergerak aktif, mengambil oksigen dari permukaan air dan makan pada dasar tempat perindukan. Larva memiliki kepala yang cukup besar serta thorax dan abdomen yang cukup jelas. Larva menggantungkan dirinya pada permukaan air untuk mendapatkan oksigen dari udara.

Larva menyaring mikroorganisme dan partikel-partikel lainnya dalam air. Larva biasanya melakukan pergantian kulit sebanyak empat kali dan berubah menjadi pupa sesudah tujuh hari (Harwood RF and James MT, 1979).



Gambar. 2.2 Larva *Aedes sp.*

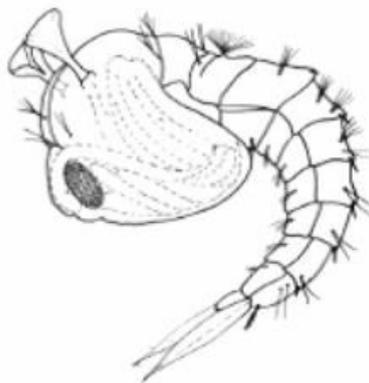
2.1.2.3 Pupa *Aedes aegypti*

Pupa biasanya mengapung pada permukaan air di sudut atau tepi-tepi tempat perindukan.

Gambar 2.3 merupakan gambar pupa *Aedes aegypti*. Ketika pertama kali muncul, pupa *Aedes aegypti* berwarna putih, akan tetapi dalam waktu singkat pigmennya berubah. Pupa *Aedes aegypti* berbentuk koma dan juga dikenal dengan istilah “*tumblers*”.

Pupa berbentuk agak pendek, tidak makan tetapi tetap aktif bergerak dalam air terutama bila terganggu. Pupa akan berenang naik turun dari bagian dasar ke permukaan air.

Dalam waktu dua atau tiga hari perkembangan pupa sudah sempurna, maka kulit pupa pecah dan nyamuk dewasa muda segera keluar dan terbang (Sembel DT, 2009).



Gambar. 2.3 Pupa *Aedes sp.*

2.1.2.4 *Aedes aegypti* Dewasa

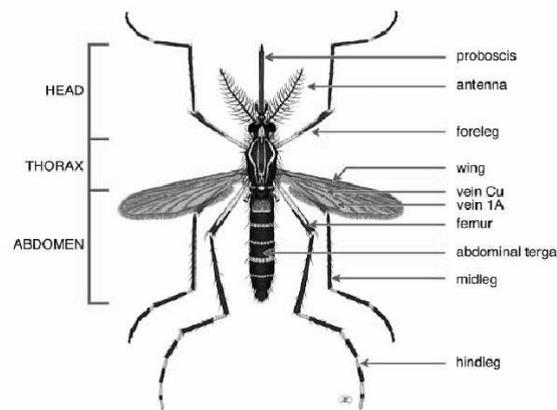
Nyamuk ini dikenal juga sebagai *Tiger mosquito* atau *Black White Mosquito* karena tubuhnya mempunyai ciri khas berupa adanya garis – garis dan bercak bercak putih keperakan di atas dasar warna hitam. Dua garis melengkung berwarna putih keperakan di kedua sisi lateral serta dua buah garis putih sejajar di garis median dari punggungnya yang berwarna dasar hitam. (James MT and Harwood RF, 1969).

Nyamuk dewasa *Aedes albopictus* mudah dibedakan dengan *Aedes aegypti* karena garis thorax hanya berupa dua garis lurus di tengah thorax (Soedarto, 2008). Mulut nyamuk termasuk

tipe menusuk dan mengisap (*rasping – sucking*) , mempunyai enam stilet yaitu gabungan antara mandibula, maxilla yang bergerak naik turun menusuk jaringan sampai menemukan pembuluh darah kapiler dan mengeluarkan ludah yang berfungsi sebagai cairan racun dan antikoagulan (Sembel DT, 2009).

Pada keadaan istirahat nyamuk dewasa hinggap dalam keadaan sejajar dengan permukaan. Nyamuk *Aedes* betina mempunyai abdomen yang berujung lancip dan mempunyai cerci yang panjang. Hanya nyamuk betina yang mengisap darah dan kebiasaan mengisap darah pada *Aedes aegypti* umumnya pada waktu siang hari sampai sore hari.

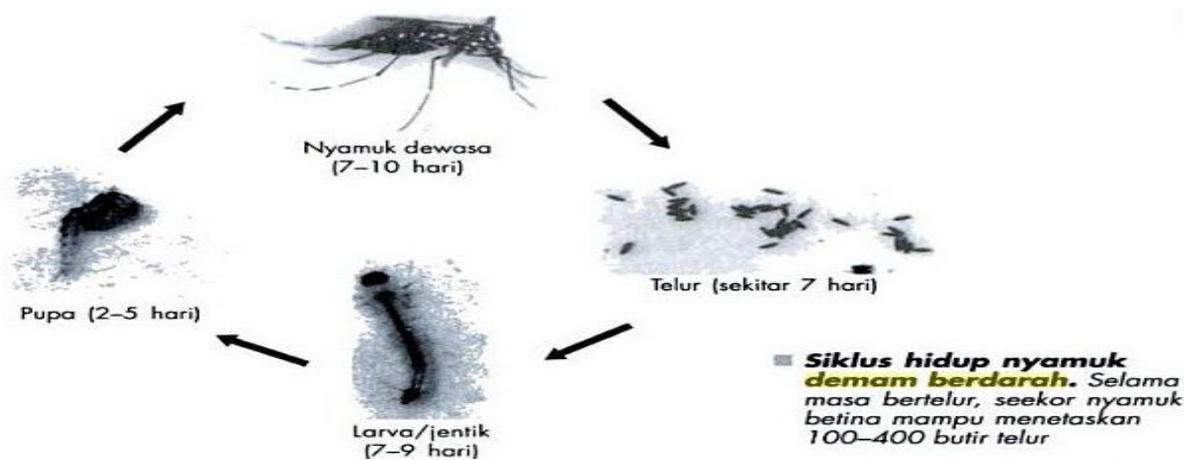
Lazimnya yang betina tidak dapat membuat telur yang dibuahi tanpa makan darah yang diperlukan untuk membentuk hormone gonadotropik yang diperlukan untuk ovulasi. Hormon ini berasal dari corpora allata yaitu pituitary pada otak insecta, dapat dirangsang oleh serotonin dan adrenalin dari darah korbannya. Demikian pula irama serangan sehari-hari dapat berubah menurut musim dan suhu. Kopulasi didahului oleh pengeriapan nyamuk jantan yang terbang bergerombol mengerumuni nyamuk betina. *Aedes* memilih tanah teduh yang secara periodik di genangi air. Jumlah telur yang diletakkan satu kali maksimum berjumlah seratus sampai empat ratus butir (Neva FA and Brown HW, 1994).



Gambar. 2.4 Dewasa *Aedes sp.*

2.1.3 Siklus Hidup

Aedes aegypti mengalami metamorfosis lengkap / metamorfosis sempurna (holometabola) yaitu dengan bentuk siklus hidup berupa Telur, Larva (beberapa instar), Pupa dan Dewasa (James MT and Harwood RF, 1969).



Gambar. 2.5 Siklus Hidup *Aedes* sp.

2.1.4 Tempat Perkembangbiakan dan Sifat Nyamuk

Aedes aegypti lebih menyukai tempat di dalam rumah penduduk, berbeda dengan *Aedes albopictus* yang lebih menyukai tempat di luar rumah penduduk, yaitu hidup di pohon atau kebun atau kawasan pinggir hutan. Di dalam rumah *Aedes aegypti* seringkali hinggap pada pakaian yang digantung untuk beristirahat dan bersembunyi, menantikan saat tepat inang datang untuk mengisap darah. Informasi tentang habitat dan kebiasaan hidup nyamuk tersebut sangat penting untuk mempelajari dan memetakan keberadaan populasinya untuk tujuan pengendaliannya baik secara fisik-mekanik, biologis maupun kimiawi. Dengan demikian, sarang telur *Aedes aegypti* paling banyak ditemukan di wadah air rumah tangga buatan manusia.

Nyamuk *Aedes aegypti* betina yang sudah dibuahi akan menghisap darah dalam waktu 24 - 36 jam. Darah merupakan sumber protein yang penting untuk mematangkan telur nyamuk. Nyamuk *Aedes aegypti* sangat antropofilik, walaupun ia juga bisa makan dari hewan berdarah panas lainnya. Sebagai hewan diurnal, nyamuk betina memiliki dua periode aktivitas menggigit. Pertama di pagi hari selama beberapa jam setelah matahari terbit, dan kedua, di sore hari selama beberapa jam sebelum gelap. Puncak aktivitas menggigit yang sebenarnya dapat beragam bergantung lokasi dan musim. Jika masa makannya terganggu, *Aedes aegypti* dapat menggigit

lebih dari satu orang. Perilaku ini semakin memperbesar proses penyebaran epidemi. Dengan demikian, bukan hal yang luar biasa jika beberapa anggota keluarga yang sama mengalami penyakit ini yang terjadi dalam 24 jam, memperlihatkan bahwa mereka terinfeksi nyamuk infeksi yang sama. *Aedes aegypti* biasanya tidak menggigit di malam hari, tetapi akan menggigit saat malam di kamar yang terang.

2.1.5 Cara Nyamuk Mengenali Mangsanya (manusia)

Nyamuk mengenali lokasi host dengan menggunakan stimulus visual, termal, dan olfaktori (pembauan). Stimulus visual penting untuk mengenali host dari jarak jauh, sedangkan stimulus olfaktori menjadi lebih penting saat nyamuk telah mendekati host. Karbon dioksida (CO_2) dan asam laktat serta beberapa asam amino dari kulit dan nafas host merupakan atraktan utama bagi nyamuk. CO_2 dapat menarik nyamuk dari jarak 100 kaki ($\pm 30\text{m}$). Suhu dan kelembapan tubuh berfungsi sebagai atraktan pada jarak dekat. Komponen volatile yang berasal dari kelenjar sebum dan kelenjar keringat yang bereaksi dengan bakteri di kulit dapat menjadi chemoattractans (Brown and Neva, 1994 ; Fradin, 2007).

2.1.6 Proses Penciuman (*olfactory process*) Nyamuk

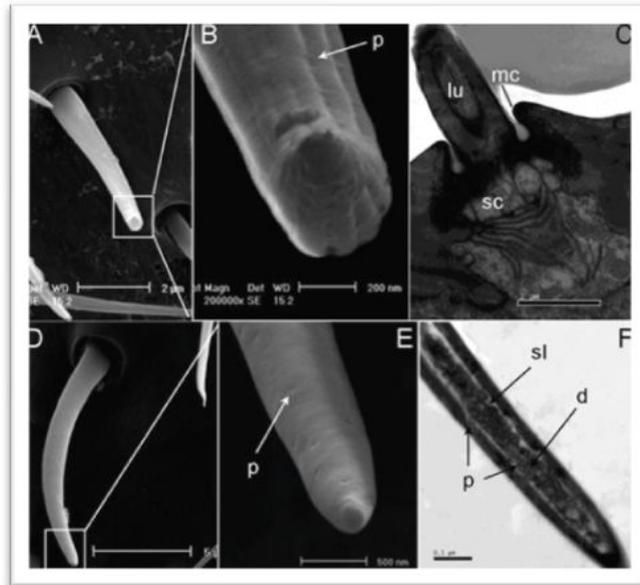
Proses penciuman (*olfactory process*) pada nyamuk memegang peran penting dalam mekanisme kerja *repellent*. Proses penciuman secara umum berawal dari adanya pesan kimia berupa bau yang diterima oleh reseptor kimia (*chemoreseptor*) yang terdapat pada antena, dan diproses oleh otak untuk menentukan respon perilaku-fisiologis. Antena tersusun dari unit morfofungsional, disebut sensilla, yang terdiri dari satu atau beberapa ORNs bipolar. ORNs khusus yang mendekati rangsangan kimia terletak pada akhir dendrit dan pada ujung akson berfungsi untuk memberikan sinyal neuronal. Neuron sensori yang khusus ini mentransduksi sinyal kimia menjadi respon elektrik dan membawa informasi dari perifer menuju lobus antenal (ALs), yang merupakan tempat penghentian pertama dalam otak. Dendrit neuron olfaktori terendam dalam cairan *lymph* yang menjaga agar tetap lembab dan basah (Jacquin-Joly and Christine, 2004). Sinyal bau kemudian mengalami beberapa proses ekstraseluler yang berbeda, proses tersebut disebut " *periceptor event* " atau proses awal olfaktorius. Proses ini diawali dari

penangkapan stimulus bau sampai aktivitas reseptor neuron. Tiga unsur protein yang terlibat dalam proses ini yaitu :

- OBPs (*Odorant-Binding Proteins*)
- ODEs (*Odor-Degrading Enzymes*)
- Ors (*Olfactory receptors*)
- ORNs (*Olfactory Receptor Neurons*)

Setelah masuk dalam sensillum melalui pori-pori kutikula, molekul bau melewati cairan getah bening sehingga mencapai dendrit neuron olfaktorius. Seperti kebanyakan molekul bau, molekul ini juga bersifat mudah menguap (volatile) dan hidrofobik, dalam tahap ini, molekul tersebut berikatan dengan OBPs. OBPs tidak hanya berperan sebagai pembawa yang fungsional tetapi juga berfungsi sebagai pengencer dan penyeleksi rangsang bau. Saat molekul bau OBPs kompleks tiba di membran dendritik, bau mencapai reseptor, yang kemudian berikatan dengan bau itu saja atau kompleks itu yang terikat dengan reseptor tersebut (Jacquin-Joly and Christine, 2004).

Kemudian Ors menjalankan dua peran, yang pertama adalah pemisahan beberapa jenis bau yang berbeda, sehingga hanya reseptor tertentu yang akan berespon terhadap bau tertentu. Yang kedua adalah menghantarkan pesan kimia dari ekstrasel menuju intrasel melalui membran dan berikatan dengan ligan (atau agonist). Fenomena ini menimbulkan aliran di sepanjang neuron. Sinyal elektrik diteruskan ke pusat otak di mana sinyal-sinyal tersebut diintegrasikan dan dikontribusikan untuk menimbulkan respon perilaku yang sesuai . Proses ini melibatkan ODEs, cairan ekstraseluler yang mirip dengan ikatan membran intraseluler dan enzim sitosoli, yang berperan dalam degraasi ligand setelah interaksinya dengan reseptor (Jacquin-Joly and Christine, 2004).



Gambar 2.6 Struktur Sensila (*Int J Biol Sci* , 2011).

2.1.7 Kepentingan Medis *Aedes sp*

Nyamuk sebagai vektor dapat terinfeksi jika ia mengisap darah manusia yang mengandung virus. Pada kasus DD/DBD, veraemia virus DEN-1, DEN-2, DEN-3, dan DEN-4, dalam tubuh manusia dapat terjadi 1 – 2 hari sebelum mulai demam dan berlangsung kurang lebih selama lima hari setelah mulai demam. Setelah masa inkubasi instrinsik selama 10 – 12 hari, virus berkembang menembus usus halus untuk menginfeksi jaringan lain di dalam tubuh nyamuk, termasuk kelenjar ludah nyamuk. Jika nyamuk itu menggigit orang yang rentan lainnya setelah kelenjar ludahnya terinfeksi, nyamuk itu akan menularkan virus *Dengue* ke orang tersebut melalui suntikan air ludahnya.

2.1.7.1 Demam Dengue

Gambaran klinik demam berdarah dengue sering kali tergantung dari umur penderita. Pada bayi dan anak biasanya didapatkan demam dengan ruam makulopapular saja. Pada anak besar dan dewasa mungkin hanya didapatkan demam ringan, atau gambaran klinis lengkap dengan panas tinggi mendadak, sakit kepala hebat, sakit bagian belakang kepala, nyeri otot dan sendi serta ruam. Tidak jarang ditemukan pendarahan kulit, biasanya didapatkan lekopeni dan

kadang-kadang trombositopeni. Pada waktu wabah tidak jarang Demam Dengue dapat disertai pendarah hebat. Yang membedakan Demam Dengue disertai pendarahan dan DBD adalah kebocoran plasma yang terdapat pada DBD dan tidak pada Demam Dengue (Soegijanto, 2006). Orang yang terinfeksi virus *Dengue* untuk pertama kali, umumnya hanya menderita demam dengue (DD) atau demam yang ringan dengan gejala dan tanda yang tidak spesifik atau bahkan tidak memperlihatkan tanda-tanda sakit sama sekali (asimtomatis). Penderita DD biasanya akan sembuh sendiri dalam waktu 5 hari pengobatan (Depkes, 2005).

DBD terjadi bilamana pasien mengidap virus *Dengue* sesudah terjadi infeksi sebelumnya oleh tipe virus *Dengue* yang lain. Jadi, imunitas sebelumnya terhadap tipe virus *Dengue* yang lain adalah penting dalam menghasilkan penyakit DBD yang parah. Infeksi oleh salah satu serotipe ini tidak menimbulkan imunitas dengan protektif-silang sehingga seseorang yang tinggal di daerah endemik dapat terinfeksi oleh demam dengue selama hidupnya (Sembel, 2009).

Diagnosis klinis DBD ditegakkan berdasarkan kriteria diagnosis menurut WHO terdiri dari:

1. Kriteria klinis.

a. Demam tinggi mendadak, tanpa sebab yang jelas, berlangsung terus menerus selama 2-7 hari.

b. Terdapat manifestasi perdarahan, sekurang-kurangnya uji Tourniquet (*Rumple Leede*) positif.

c. Pembesaran hati.

d. Syok.

2. Kriteria laboratories.

a. Trombositopenia (jumlah trombosit $\leq 100.000/\mu\text{l}$).

b. Hemokonsentrasi, dapat dilihat dari peningkatan hematokrit $\geq 20\%$.

(Depkes, 2005):

2.1.7.2. Perkembangan Penyakit Demam Berdarah Dengue

Penyakit yang sekarang dikenal sebagai DHF pertama kali dikenali di Filipina pada tahun 1953. Sindromnya secara etiologis berhubungan dengan virus *Dengue* ketika serotipe 2, 3, dan 4 diisolasi dari pasien di Filipina pada tahun 1956. Dua tahun kemudian virus *Dengue* dari berbagai tipe diisolasi dari pasien selama epidemik di Bangkok, Thailand (WHO, 1999). Tahun 1968, Demam Berdarah Dengue dilaporkan untuk pertama kalinya di Indonesia yaitu berupa kejadian luar biasa penyakit Demam Berdarah Dengue di Jakarta dan Surabaya mencatat 58 kasus DBD dengan 24 kematian (CFR= 41,5%). Pada tahun berikutnya kasus DBD menyebar ke lain kota yang berada di wilayah Indonesia dan dilaporkan meningkat setiap tahunnya. Kejadian luar biasa penyakit DBD terjadi di sebagian besar daerah perkotaan dan beberapa daerah pedesaan (Soegijanto, 2006).

2.1.7.3. Penularan Demam Berdarah Dengue

Penyakit Demam Berdarah Dengue ditularkan oleh nyamuk *Aedes aegypti*. Nyamuk ini mendapat virus *Dengue* sewaktu mengigit mengisap darah orang yang sakit demam berdarah dengue atau tidak sakit tetapi didalam darahnya terdapat virus *Dengue*. Seseorang yang didalam darahnya mengandung virus *Dengue* merupakan sumber penularan penyakit demam berdarah. Virus *Dengue* berada dalam darah selama 4-7 hari mulai 1-2 hari sebelum demam (Lestari, 2007).

Bila penderita DBD digigit nyamuk penular, maka virus dalam darah akan ikut terisap masuk ke dalam lambung nyamuk, selanjutnya virus akan memperbanyak diri dan tersebar di berbagai jaringan tubuh nyamuk termasuk di dalam kelenjar liurnya. Kira-kira 1 minggu setelah mengisap darah penderita, nyamuk tersebut siap untuk menularkan kepada orang lain (masa inkubasi ekstrinsik). Oleh karena itu, nyamuk *Aedes. aegypti* yang telah mengisap virus *Dengue* menjadi penular (*infektif*)

sepanjang hidupnya. Penularan ini terjadi karena setiap kali nyamuk menggigit, sebelum mengisap darah akan mengeluarkan air liur melalui saluran alat tusuknya agar darah yang diisap

tidak membeku. Bersama air liur inilah virus *Dengue* dipindahkan dari nyamuk ke orang lain (Depkes, 2005).

2.1.8. Pengendalian Vektor

Tujuan pengendalian vektor utama adalah upaya untuk menurunkan kepadatan populasi nyamuk *Aedes. aegypti* sampai serendah mungkin sehingga kemampuan sebagai vector menghilang. Secara garis besar ada 4 cara pengendalian vektor yaitu dengan cara kimiawi, biologis, mekanik, dan radiasi (Soegijanto, 2006). Pengendalian vektor penyakit sangat diperlukan bagi beberapa macam penyakit karena berbagai alasan:

1. Penyakit tadi belum ada obat ataupun vaksinnya, seperti hampir semua penyakit yang disebabkan oleh virus.
2. Bila ada obat ataupun vaksinnya, tetapi kerja obat tadi belum efektif, terutama untuk penyakit parasit.
3. Berbagai penyakit didapat pada banyak hewan selain manusia sehingga sulit dikendalikan.
4. Sering menimbulkan cacat seperti filariasis dan malaria.
5. Penyakit cepat menjalar, karena vektornya dapat bergerak cepat, seperti insekta yang bersayap.

(Soemirat, 2007)

2.1.8.1. Pengendalian Vektor Secara Kimiawi

1. Insektisida

Insektisida berasal dari bahasa latin *insectum* yang mempunyai arti potongan, keratin, atau segmen tubuh, seperti kita lihat pada bagian tubuh serangga (Soemirat, 2005). Insektisida adalah bahan-bahan kimia yang digunakan untuk memberantas serangga (Soedarto, 1992). Pembagian insektisida berdasarkan cara masuknya ke dalam tubuh insektisida dibedakan menjadi tiga kelompok insektisida, yaitu racun lambung, racun kontak, dan racun pernapasan.

Untuk mengendalikan serangga yang terbang (seperti nyamuk *Aedes aegypti*), insektisida yang digunakan adalah yang mengandung racun lambung atau racun kontak (Djojsumarto, 2000).

2. Larvasida

Saat ini larvasida yang paling luas digunakan untuk mengendalikan larva *Aedes aegypti* adalah *temefos*. Di Indonesia, *temefos* 1% (Abate 1SG) telah digunakan sejak 1976, dan sejak 1980 *abate* telah dipakai secara massal untuk program pemberantasan *Aedes aegypti* di Indonesia (Gafur, 2006). Cara ini biasanya dengan menaburkan *abate* ke dalam bejana tempat penampungan air seperti bak mandi, tempayan, drum, yang dapat mencegah adanya jentik selama 2-3 bulan (Chahaya, 2003).

2.1.8.2. Pengendalian Vektor Secara Biologis/ Hayati

Pengendalian hayati atau sering disebut pengendalian biologis dilakukan dengan menggunakan kelompok hidup, baik dari golongan mikroorganisme, hewan invertebrate atau hewan vertebrata. Sebagai pengendalian hayati, dapat berperan sebagai pathogen, parasit atau pemasangan. Beberapa jenis ikan, seperti ikan kepala timah (*Panchaxpanchax*), ikan gabus (*Gambusia affinis*) adalah pemangsa yang cocok untuk larva nyamuk. Sebagai pathogen, seperti dari golongan virus, bakteri, fungi atau protozoa dapat dikembangkan sebagai pengendali hayati larva nyamuk di tempat perindukannya (Soegijanto, 2006).

Beberapa keuntungan pengendalian hayati adalah:

1. Aman, tidak menimbulkan pencemaran lingkungan, tidak menyebabkan keracunan pada manusia dan ternak.
2. Tidak menyebabkan resistensi terhadap hama.
3. Musuh alami bekerja secara selektif terhadap inang atau mangsanya.
4. Bersifat permanen, untuk jangka panjang dinilai lebih murah apabila keadaan lingkungan telah stabil atau telah terjadi keseimbangan antara hama dengan musuh alaminya (Jumar, 2000).

2.1.8.3. Pengendalian Vektor Secara Mekanik

Pengendalian yang lain adalah dengan cara mekanik, yaitu mencegah gigitan nyamuk dengan menggunakan pakaian yang dapat menutupi seluruh bagian tubuh, kecuali muka dan penggunaan net atau kawat kasa di rumah-rumah (Sembel, 2009). Selain itu, yang sekarang digalakkan oleh pemerintah yaitu gerakan 3M:

1. Menguras tempat-tempat penampungan air dengan menyikat bagian dinding dalam dan dibilas paling sedikit seminggu sekali.
2. Menutup rapat tempat penampungan air sedemikian rupa sehingga tidak dapat diterobos oleh nyamuk dewasa.
3. menanam/ menimbun dalam tanah barang-barang bekas atau sampah yang dapat menampung air hujan (Soegijanto, 2006).

2.2. *Repellent*

Dari pengujian yang dilakukan penulis terhadap nyamuk demam berdarah (*Aedes aegypti*) yang sering membuat heboh masyarakat, yaitu dengan cara menggosokkan daun zodia ke lengan, lalu lengannya dimasukkan ke kotak yang berisi nyamuk demam berdarah dan dibandingkan dengan lengan yang tanpa digosok dengan daun zodia, menunjukkan bahwa daun zodia mampu menghalau nyamuk selama enam jam dengan daya halau (daya proteksi) sebesar lebih dari 70%. Selain itu, lengan yang digigit oleh nyamuk demam berdarah akan cepat sembuh (bentol dan gatal) apabila digosok dengan daun zodia. Hal ini merupakan harapan baru untuk menghalau serangan nyamuk demam berdarah di masa mendatang, yaitu dengan gerakan kembali ke alam dengan memanfaatkan tanaman di sekitar kita untuk memerangi penyakit demam berdarah

Repellent adalah bahan-bahan kimia yang mempunyai kemampuan untuk menjauhkan serangga dari manusia sehingga dapat dihindari gigitan serangga atau gangguan oleh serangga terhadap manusia. *Repellent* digunakan dengan cara menggosokkannya pada tubuh atau

menyempromkannya pada pakaian, oleh karena itu harus memenuhi beberapa syarat yaitu tidak mengganggu pemakainya, tidak melekat atau lengket, baunya menyenangkan pemakainya dan orang sekitarnya, tidak menimbulkan iritasi pada kulit, tidak beracun, tidak merusak pakaian dan daya pengusir terhadap serangga hendaknya bertahan cukup lama. DEET (*N,N-diethyl-m-toluamide*) adalah salah satu contoh *repellent* yang tidak berbau, akan tetapi menimbulkan rasa terbakar jika mengenai mata, luka atau jaringan membranous (Soedarto, 1992). *Repellent* yang berbeda bekerja melawan hama yang berbeda pula. Oleh sebab itu, penting untuk memperhatikan kandungan aktif dari suatu *repellent* pada label produknya. *Repellent* yang mengandung DEET (*N,N-diethyl-m-toluamide*), permethrin, IR3535 (3-[N-butyl-N-acetyl]- *aminopropionic acid*) atau picaridin (KBR 3023) merupakan *repellent* untuk nyamuk. DEET tidak boleh digunakan pada bayi yang berumur di bawah 2 bulan. Anak-anak yang berumur dua bulan atau lebih hanya dapat menggunakan produk dengan konsentrasi DEET 30% atau lebih (MDPH, 2008).

DEET diserap ke dalam tubuh melalui kulit. Penyerapannya melalui kulit tergantung dari konsentrasi dan pelarut dalam formulasi produk *repellent* tersebut. Konsentrasi DEET sebesar 15% dalam etanol akan diserap ke dalam tubuh rata-rata 8,4%. Penyerapannya ke dalam tubuh akan dimulai dalam 2 jam setelah penggunaan. Penyerapan DEET juga tergantung pada umur dan massa tubuh. Bayi yang berumur <2 bulan memiliki rasio luas permukaan tubuh terhadap massa tubuh yang lebih besar sehingga lebih mudah terserap dan mudah mencapai konsentrasi plasma yang tinggi. Kandungan *repellent* seperti DEET merupakan bahan korosif. Walaupun telah ditambahkan dengan zat-zat lain yang berfungsi sebagai pelembab, zat ini tetap berbahaya (POM, 2010). Petunjuk pemakaian *repellent* oleh EPA (*Environmental Protection Agency*), yaitu:

- a. Penggunaan *repellent* hanya di kulit yang terbuka dan/atau di pakaian (seperti petunjuk di label). Jangan digunakan di kulit yang terlindungi pakaian.
- b. Jangan menggunakan *repellent* pada kulit yang terluka atau kulit yang iritasi.

- c. Jangan digunakan di mata atau mulut dan gunakan sesedikit mungkin di sekitar telinga. Ketika menggunakan spray, jangan disemprotkan langsung ke wajah, tapi semprotkan terlebih dahulu ke tangan lalu sapukan ke wajah.
- d. Jangan biarkan anak-anak memegang produk *repellent*. Ketika menggunakan pada anak-anak, letakkan terlebih dahulu pada tangan kita lalu gunakan pada anak.
- e. Gunakan *repellent* secukupnya untuk kulit yang terbuka dan/ atau pakaian. Jika penggunaan *repellent* tadi tidak berpengaruh, maka tambahkan sedikit lagi.
- f. Setelah memasuki ruangan, cuci kulit yang memakai *repellent* dengan sabun dan air atau segera mandi. Ini sangat penting ketika *repellent* digunakan secara berulang pada satu hari atau pada hari yang berurutan. Selain itu, pakaian yang sudah terkena *repellent* juga harus dicuci sebelum dipakai kembali.
- g. Jika kulit mengalami ruam/ kemerahan atau reaksi buruk lainnya akibat penggunaan *repellent*, berhentikan penggunaan *repellent*, bersihkan kulit dengan sabun dan air. Jika pergi ke dokter, bawa *repellent* yang digunakan untuk ditunjukkan pada dokter (CDC, 2008).

2.3. Tanaman-Tanaman yang dapat Dijadikan *Repellent*

Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik telah melakukan serangkaian penelitian terhadap potensi tanaman aromatik sebagai penghalau (*repellent*) nyamuk dan lalat dengan memanfaatkan tanaman aromatik dalam bentuk minyak atsiri (essential oil), antara lain: serai wangi, zodia, cengkeh, geranium, nilam, selasih yang mampu menghalau nyamuk *Aedes aegypti* (Kardinan, 2008).

2.3.1. Gambaran Umum Zodia (*Evodia suaveolens*)

Klasifikasi zodia (*Evodia suaveolens*) dalam klasifikasi tumbuhan adalah sebagai berikut:
Kingdom : Plantae Division : Spermatophyta Sub divisio : Angiospermae Kelas : Dicotyledonae

Ordo : Rurales Family : Rutaceae Genus : Evodia Species : *Evodia suaveolens* (Tjitrosoepoma, 2000). Zodia memiliki nama latin *Evodia suaveolens* , tetapi ada juga yang menyebut dengan *Euodia suaveolens* . Tanaman perdu ini berasal dari keluarga *Rutaceae* . Zodia diduga berasal dari Papua. Namun, saat ini sudah banyak tumbuh di Pulau Jawa, bahkan sering dijumpai ditanam di halaman rumah atau kebun sebagai tanaman hias (Kardinan, 2009).

Zodia mempunyai tinggi antara 50 cm hingga 200 cm (rata-rata 75 cm). Tanaman ini sangat mudah diperbanyak, yaitu melalui biji dan stek ranting. Biasanya apabila kita sudah memiliki tanaman yang sudah berbunga dan berbiji, maka bijinya akan jatuh dan tumbuh disekitar tanaman (Kardinan, 2004). Tanaman ini memiliki daun pipih panjang berwarna hijau kekuningan (Anonymous, 2010). Zodia punya suatu keunikan, yaitu tanaman akan berubah warna daunnya bila ditempatkan di tempat yang mempunyai suhu yang berbeda. Bila ditanam di Bogor misalnya, zodia akan berdaun hijau muda terang. Akan berbeda dengan zodia yang ditanam di Jakarta, yang akan berdaun hijau tua. Untuk penanaman di Bogor, dari biji hingga setinggi 20 cm dibutuhkan waktu sekitar 8-9 bulan. Sedangkan untuk di daerah Jakarta memakan waktu yang lebih lama, biasanya hingga satu tahun. Hal ini dikarenakan udara di Bogor lebih lembab (Anonymous, 2008).



Gambar. 2.7 Tanaman Zodia

2.3.2. Kandungan Aktif

Daun zodia dapat disuling untuk menghasilkan minyak atsiri (*essential oil*) yang mengandung bahan aktif *evodiamine* dan *rutacaerpine* . Diduga, kedua bahan aktif inilah yang membuat nyamuk tidak menyukai tanaman ini (Kardinan, 2009). Menurut hasil analisa yang dilakukan di Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (Balittro) dengan gas kromatografi, minyak yang disuling dari daun tanaman ini mengandung *linalool* (46%) dan *a-pinene* (13,26%) di mana *linalool* dikenal sebagai pengusir (*repellent*) nyamuk (Kardinan, 2004).

Pada skrining fitokimia yang dilakukan pada daun zodia menunjukkan adanya beberapa golongan senyawa yang memberikan hasil yang positif yaitu alkaloida, tannin, flavonoida, steroida/triterpenoida, glikosida, dan minyak atsiri (Ernita, 2009).

2.3.3. Kegunaan Zodia

Daun zodia terasa pahit, kadang-kadang digunakan sebagai obat tradisional, antara lain sebagai tonik untuk menambah stamina tubuh, sementara rebusan batangnya bermanfaat sebagai pereda demam malaria. Oleh masyarakat papua, tanaman ini sudah lama digunakan sebagai penghalau serangga, khususnya nyamuk (Kardinan, 2009). Dari beberapa literatur, tanaman ini bermanfaat sebagai anti-kanker. Selain itu, lengan yang digigit oleh nyamuk demam berdarah akan cepat sembuh (bentol dan gatal) apabila digosok dengan daun zodia (Kardinan, 2004).

2.4. Maserasi

Maserasi adalah sediaan cair yang dibuat dengan cara mengekstraksi bahan nabati yaitu direndam menggunakan pelarut bukan air (pelarut nonpolar) atau setengah air, misalnya etanol encer, selama periode waktu tertentu sesuai dengan aturan dalam buku resmi kefarmasian (Farmakope Indonesia, 1995). Apa yang disebut “bahan nabati”, dalam dunia farmasi lebih dikenal dengan istilah “simplisia nabati”. Langkah kerjanya adalah merendam simplisia dalam suatu wadah menggunakan pelarut penyari tertentu selama beberapa hari sambil sesekali diaduk, lalu disaring dan diambil beningannya. Selama ini dikenal ada beberapa cara untuk mengekstraksi zat aktif dari suatu tanaman ataupun hewan menggunakan pelarut yang cocok. Pelarut-pelarut tersebut ada yang bersifat “bisa campur air” (contohnya air sendiri, disebut pelarut

polar) ada juga pelarut yang bersifat “tidak campur air” (contohnya aseton, etil asetat, disebut pelarut non polar atau pelarut organik). Metode Maserasi umumnya menggunakan pelarut non air atau pelarut non-polar. Teorinya, ketika simplisia yang akan di maserasi direndam dalam pelarut yang dipilih, maka ketika direndam, cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam sel yang penuh dengan zat aktif dan karena ada pertemuan antara zat aktif dan penyari itu terjadi proses pelarutan (zat aktifnya larut dalam penyari) sehingga penyari yang masuk ke dalam sel tersebut akhirnya akan mengandung zat aktif, katakan 100%, sementara penyari yang berada di luar sel belum terisi zat aktif (0%) akibat adanya perbedaan konsentrasi zat aktif di dalam dan di luar sel ini akan muncul gaya difusi

larutan yang terpekat akan didesak menuju keluar berusaha mencapai keseimbangan konsentrasi antara zat aktif di dalam dan di luar sel. Proses keseimbangan ini akan berhenti, setelah terjadi keseimbangan konsentrasi (istilahnya “jenuh”).

Dalam kondisi ini, proses ekstraksi dinyatakan selesai, maka zat aktif di dalam dan di luar sel akan memiliki konsentrasi yang sama, yaitu masing-masing 50%.

Keuntungan dari metode ini :

1. Unit alat yang dipakai sederhana, hanya dibutuhkan bejana perendam
2. Biaya operasionalnya relatif rendah
3. Prosesnya relatif hemat penyari
4. Tanpa pemanasan

Kelemahan dari metode ini :

1. Proses penyariannya tidak sempurna, karena zat aktif hanya mampu terekstraksi sebesar 50% saja
2. Prosesnya lama, butuh waktu beberapa hari.

Cairan penyari yang digunakan dapat berupa air, etanol, air-etanol, atau pelarut lain. Bila cairan penyari digunakan air maka untuk mencegah timbulnya kapang, dapat ditambahkan bahan pengawet, yang diberikan pada awal penyarian.

Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan sederhana dan mudah diusahakan.

Kerugian cara maserasi adalah pengerjaannya lama, dan penyariannya kurang sempurna.

BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Konsep

Keterangan:

- ▶ : Proses tidak langsung
- ▶ : Proses langsung
- : Yang diteliti

Penjelasan :

Zodia (*Evodia suaveolens*) mengandung senyawa *Linalool* yang bersifat mudah menguap dan memiliki bau yang khas sehingga berfungsi sebagai *repellent*. Bau ekstrak etanol Zodia yang dioleskan pada media kapas yang diberi larutan glukosa akan merangsang antena nyamuk, tepatnya di *sensila*, kemudian bau tersebut merangsang ORNs yang merupakan syaraf sensoris untuk mengirimkan informasi ke lobus antena pada otak. Kemudian bau akan berikatan dengan OBPs yang spesifik terhadap bau ekstrak etanol Zodia. Ketika sampai di membran dendrit bau atau kompleks bau-OBPs berikatan dengan reseptor Ors yang spesifik terhadap bau tersebut, menuju impuls syaraf, kemudian diterjemahkan ke dalam otak dan memberi respon berupa nyamuk menghindar atau tidak hinggap pada media kapas. ODEs diduga berperan sebagai

regulator, yaitu dengan meregulasi ikatan kompleks bau-OBPS yang berperan dalam degradasi ligand setelah interaksinya dengan reseptor (Jacquin-Joly and Christine, 2004).

3.2 Hipotesis Penelitian

1. Ekstrak etanol Zodia (*Evodia suaveolens*) memiliki potensi sebagai *repellent* terhadap nyamuk *Aedes sp.* pada media kapas.
2. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol Zodia (*Evodia suaveolens*) semakin besar memiliki potensi sebagai *repellent* terhadap nyamuk *Aedes sp.* pada media kapas.
3. Semakin lama waktu perlakuan, semakin rendah potensi ekstrak etanol (*Evodia suaveolens*) memiliki potensi sebagai *repellent* terhadap nyamuk *Aedes sp.* pada media kapas

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan true *eksperimental-post tes only control group design* yang bertujuan untuk mengetahui potensi ekstrak etanol daun Zodia (*Evodia suaveolens*) sebagai pengusir nyamuk (*repellent*).

4.2 Populasi dan Subjek Penelitian

Populasi penelitian ini adalah nyamuk betina dewasa *Aedes sp.* yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Kriteria inklusi penelitian ini adalah :

- Nyamuk dewasa *Aedes sp.* yang hidup dan aktif.
- Telah berada dalam starvasi minimal 4 jam.

Sedangkan kriteria eksklusi penelitian ini adalah : nyamuk dewasa yang mati selama percobaan. Sampel yang diambil adalah nyamuk dewasa *Aedes sp.* sebanyak 50 ekor perkandang yang memenuhi kriteria inklusi dan telah diseleksi.

Pada penelitian ini diberi empat perlakuan pada kapas :

1. Perlakuan pertama, media kapas diberi aquades sebagai kontrol negatif.
2. Perlakuan kedua, media kapas diberi DEET sebagai pembanding.
3. Perlakuan ketiga, media kapas diberi ekstrak etanol zodia konsentrasi 10 %.
4. Perlakuan keempat, media kapas diberi ekstrak etanol zodia konsentrasi 20%.
5. Perlakuan kelima, media kapas diberi ekstrak etanol zodia konsentrasi 30%.

Penentuan pengulangan eksperimen berdasarkan rumus :

$$p(n-1) \geq 16$$

$$4(n-1) \geq 16$$

$$4n - 4 \geq 16$$

$$4n \geq 20$$

$$n \geq 5$$

Jadi dalam penelitian ini dilakukan pengulangan sebanyak 5 kali.

4.3 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, pada tanggal 13 Januari 2016, mulai pk 10.00 pagi hingga pk 16.00 sore, karena nyamuk *Aedes sp.* aktif mencari makan pada malam hari mulai pk 07.30 hingga pk 17.30 sore.

4.4 Variabel Penelitian

- Variable independent/bebas adalah lamanya paparan *repellent* dan konsentrasi ekstrak etanol Zodia (*Evodia suaveolens*), 10%, 20% dan 30%.
- Variable dependent/tergantung adalah jumlah hinggapan nyamuk pada kapas yang telah diolesi ekstrak etanol Zodia (*Evodia suaveolens*) dengan konsentrasi 10, 20%, 30%.

4.5 Bahan dan Instrumental Penelitian

4.5.1 Bahan Penelitian

4.5.1.1 Bahan Pembuatan Ekstrak Etanol Zodia Dengan Metode Maserasi (*Evodia suaveolens*)

1. Daun tanaman zodia
2. Aquades
3. Etanol 96% (etanol teknis)
4. Aseton

4.5.1.2 Bahan untuk Uji Potensi Ekstrak Etanol Zodia Dengan Metode Maserasi (*Evodia suaveolens*) konsentrasi 30% dan 40% sebagai *Repellent* terhadap Nyamuk *Aedes sp* pada Media Kapas

Bahan-bahan yang digunakan untuk melakukan uji potensi Ekstrak etanol zodia sebagai *repellent* terhadap nyamuk *Aedes sp* pada media kapas terdiri dari :

1. Ekstrak etanol Zodia (*Evodia suaveolens*)
2. Aquades
3. DEET/Autan®
4. Nyamuk *Aedes sp* dewasa sebanyak 200
5. Kapas

4.5.2 Instrumen Penelitian

4.5.2.1 Alat pembuatan Ekstrak etanol Zodia Dengan Metode Maserasi (*Evodia suaveolens*)

1. Oven
2. *Blender*
3. Kertas Saring
4. Botol/tabung untuk merendam bubuk kering zodia yang sudah digerus
5. Neraca Analitik
6. *Freezer*
7. Seperangkat alat evaporasi vakum
 - Rotary Evaporator
 - Pompa Vakum
 - Tabung pendingin dan alat pompa sirkulasi air dingin
 - Bak penampung air dingin
 - Labu penampung hasil evaporasi
 - Labu penampung etanol
 - Batu didih
 - Cawan penguap
 - Alat pemanas aquades (*water bath*)
 - Pipa plastik
 - Klem statis

4.5.2.2 Persiapan untuk memperoleh Nyamuk *Aedes sp*

Segala bentuk persiapan dibantu oleh bapak Huda, selaku staff Lab. Dinas Kesehatan Surabaya.

Entomology dari

4.5.2.3 Alat untuk Persiapan Media Kapas

Alat yang digunakan untuk mempersiapkan media kapas adalah :

1. sarung tangan
2. gunting
3. penggaris

Alat yang digunakan untuk membuat sirup gula

1. 1 cangkir gula (50 gram)
2. 100 cc air panas

4.5.2.4 Alat untuk Uji Potensi Ekstrak Etanol Zodia Dengan Metode Maserasi (*Evodia suaveolens*) konsentrasi 10, 20% dan 30% sebagai *Repellent* terhadap Media Kapas

Alat yang digunakan untuk melakukan uji potensi Ekstrak etanol zodia (*Evodia suaveolens*) sebagai *repellent* terhadap nyamuk *Aedes sp* pada media kapas dari :

1. Kotak Nyamuk 4 buah
2. Sepasang sarung tangan 4 buah
3. Kapas
4. Senter
5. Sduit
6. Gelas plastik
7. Alat pengukur waktu
8. Stiker/label
9. Penutup gelas plastik
10. Tabung reaksi

4.6 Definisi Operasional

- Potensi : Jumlah hinggapan nyamuk yang dikonversikan ke rumus
- Zodia (*Evodia suaveolens*) adalah tanaman zodia yang dibeli di toko tanaman, kemudian daunnya dikeringkan untuk diambil ekstraknya.
- Potensi *repellent* : Kemampuan daya halau hinggapan nyamuk
- *Repellent* : bahan yang digunakan untuk menolak hinggapan nyamuk.
- Nyamuk *Aedes sp.*: nyamuk genus *Aedes sp.* dewasa yang ditangkap pagi atau saat senja sejumlah 50 ekor perkandang, dan telah dibuat starvasi selama minimal 4 jam.
- Kotak nyamuk : sebuah kotak berbentuk kubus dengan ukuran 40 x 40 x 40cm³ yang ditutup papan pada dasarnya, kain kelambu pada seluruh permukaan 5 sisinya, dan pada salah satu sisi kotak dibuat lubang untuk tempat tangan masuk ke kotak tersebut yang ditutupi selembar kain untuk mengindarkan nyamuk keluar keluar dari kotak itu.
- Jumlah hinggapan nyamuk: jumlah hinggapan nyamuk pada media kapas yang telah diberi larutan glukosa fermentasi, dihitung pada pengamatan selama 5 menit, sehingga ada kemungkinan satu nyamuk terhitung 2 kali hinggapan.
- Larutan gula 20% yaitu campuran gula 20 gr yang dilarutkan bersama dengan 100cc air di wadah cawan kecil berukuran luas lingkaran 201cm³.

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Persiapan Penelitian

4.7.1.1 Proses Ekstraksi Dengan Metode Maserasi Zodia

1. Zodia (*Evodia suaveolens*) dikeringkan dengan sinar matahari langsung atau dingin-anginkan kemudian diiris tipis dengan pisau. tidak menggunakan
2. Irisan Zodia dihaluskan dengan *blender* sehingga didapatkan serbuk kering dan ditimbang dengan menggunakan neraca analitik.
3. Serbuk Zodia dibungkus dengan kertas saring, lalu dimasukkan ke dalam tabung untuk direndam dengan etanol selama ± 1 minggu.
4. Selanjutnya dilakukan evaporasi untuk memisahkan ekstrak etanol Zodia dari ethanol.

4.7.1.2 Evaporasi Hasil Ekstraksi Dengan Metode Maserasi Zodia

1. *Evaporator* dipasang pada klem statis agar dapat tergantung dengan kemiringan 30° - 40° terhadap meja percobaan.
2. Hasil rendaman ethanol dipindahkan ke labu pemisah ekstraksi.
3. Labu pemisah ekstraksi dihubungkan dengan *evaporator*.
4. Pendingin spiral dihubungkan pada bagian atas evaporator dan pompa vakum melalui selang plastik. pada
5. *Waterpump* ditempatkan dalam bak sehingga yang berisi aquades dihubungkan dengan sumber listrik sehingga aquades akan memenuhi pendingin spiral secara merata. dan mengalir
6. Satu set *rotary evaporator* diletakkan sehingga sebagian labu ekstraksi terendam aquades pada *waterbath*. pemisah
7. Vakum dan *waterbath* dihubungkan dengan sumber listrik dan *waterbath* dinaikkan sekitar 0° - 10° (sesuai titik didih ethanol). suhu
8. Sirkulasi dibiarkan berjalan sehingga hasil *evaporasi* tersisa dalam labu pemisah ekstraksi selama 2-3 jam.

9. Dilanjutkan dengan pemanasan dalam oven dengan suhu 50 - 60 C selama 1-2 hari, sehingga didapatkan hasil akhir ekstrak etanol zodia 100% sebanyak 50 ml

4.7.2 Penelitian Pendahuluan

Sebelum dilakukan pengumpulan data untuk uji potensi ekstrak etanol zodia konsentrasi 10%, 20%, 30%, dan 40% sebagai *repellent* terhadap nyamuk *Aedes sp.* pada media kapas, peneliti telah melakukan penelitian pendahuluan untuk mencari konsentrasi minimal ekstrak etanol zodia yang mempunyai efek *repellent*.

Ada 2 macam eksplorasi, eksplorasi pertama menggunakan atraktan berupa kapas yang dicelup ke air gula (*sugar-soaked cotton*) 20% sebanyak 2,5cc ditambah 2,5cc ekstrak etanol zodia dengan berbagai konsentrasi. Eksplorasi kedua menggunakan atraktan berupa kapas yang dicelup ke air gula 20% yang ditambah ekstrak etanol zodia dengan berbagai konsentrasi.

Prosedur eksplorasi pertama dilakukan berdasarkan protokol dari MPC India Organization (ICMR<2005), yaitu sebagai berikut.

1. Percobaan dilakukan dengan menggunakan 1 buah kotak nyamuk yang diisi dengan nyamuk *Aedes sp.* sebanyak 50 ekor.
2. Disiapkan 5 buah cawan yang masing-masing diisi kapas dan diberi perlakuan :
 - Perlakuan I: 2,5cc air gula 20% + 2,5cc aquades sebagai kontrol(-)
 - Perlakuan II: 2,5cc air gula 20% + 2,5cc ekstrak etanol zodia 10%
 - Perlakuan III: 2,5cc air gula 20% + 2,5cc ekstrak etanol zodia 20%
 - Perlakuan IV: 2,5cc air gula 20% + 2,5cc ekstrak etanol zodia 30%
 - Perlakuan V: 2,5cc air gula 20% + 2,5cc ekstrak etanol zodia 40%
3. Kemudian kelima cawan tersebut dimasukkan ke dalam kotak nyamuk dihitung jumlah hinggapan nyamuk selama 5 menit pada jam ke-0,1 ,2.

Saat tidak diamati, cawan dikeluarkan dari kotak nyamuk.

Dari hasil eksplorasi pertama tersebut, disiapkan bahwa pada konsentrasi 40% tidak ada nyamuk yang hinggap, sehingga dilakukan dengan menggunakan ekstrak etanol Zodia mulai konsentrasi 10% untuk melakukan eksplorasi lanjutan pada kapas yang dicelup ke air gula.

Cara kerja eksplorasi kedua atau eksplorasi lanjutan :

1. Disiapkan 5 buah kotak nyamuk, masing-masing berisi 50 ekor nyamuk *Aedes sp.* dewasa.
2. Disiapkan kapas yang diberi larutan gula yang diberi wadah dengan wadah cawan kecil berukuran luas lingkaran 154cm^2 , kemudian diberi perlakuan sebagai berikut:
 - Kapas I diolesi dengan aquades
 - Kapas II diolesi dengan ekstrak etanol Zodia 10%
 - Kapas III diolesi dengan ekstrak etanol Zodia 20%
 - Kapas IV diolesi dengan ekstrak etanol Zodia 30%
 - Kapas V diolesi dengan ekstrak etanol Zodia 40%
3. Tiap kapas dimasukkan ke dalam 5 kotak nyamuk yang berbeda dengan menggunakan sarung tangan yang berbeda pula.
4. Dilakukan pengamatan dan dihitung jumlah hinggapan dihitung jumlah hinggapan nyamuk selama 5 menit pada jam ke-0,1 , 2, 4, 6. Saat tidak diamati, cawan dikeluarkan dari kotak nyamuk.

Dari hasil eksplorasi kedua didapatkan bahwa hanya pada kapas yang diolesi zodia konsentrasi 40% tidak terdapat hinggapan nyamuk. Hasil dari eksplorasi lanjutan ini menjadi dasar penentuan konsentrasi pada uji potensi zodia (*Evodia suaveolens*) dengan konsentrasi ,10%, 20%, dan 30% sebagai *repellent* terhadap nyamuk *Aedes sp.* pada kapas.

4.7.3 Cara Kerja Uji Potensi Ekstrak Etanol Zodia Dengan Metode Maserasi (*Evodia suaveolens*) dengan Konsentrasi 10, 20% dan 30% sebagai *Repellent* terhadap Nyamuk *Aedes sp.* Pada Media Kapas.

1. Penelitian dilakukan di dalam ruangan penelitian *arthropoda* Laboratorium Parasitologi lantai 1.
2. Dipersiapkan nyamuk *Aedes sp.* dewasa 50 ekor di dalam tiap kotak berbentuk bujur sangkar dengan ukuran 40x40x40 cm³ yang ditutup mika pada kedua sisinya dan ditutup kain/kelambu pada 4 sisinya. Percobaan memakai 5 kotak.
3. Dipersiapkan ekstrak etanol Zodia (*Evodia suaveolens*) yang telah diencerkan aquades sesuai rumus

Konsentrasi 30% = 1,5 cc ekstrak etanol zodia + 3,5 cc aquades

Konsentrasi 40% = 2 cc ekstrak etanol zodia + 3 cc aquades

4. Disiapkan kapas yang diberi larutan gula yang diberi wadah dengan wadah cawan kecil berukuran luas lingkaran 201 cm³, kemudian dibuat perlakuan sebagai berikut:
 - Kapas I diolesi dengan aquades sebagai kontrol (-)
 - Kapas II diolesi dengan *repellent* yang telah diketahui komposisinya (DEET/Autan® sebagai pembanding kontrol (+))
 - Kapas III diolesi dengan ekstrak etanol Zodia konsentrasi 10%
 - Kapas IV diolesi dengan ekstrak etanol Zodia konsentrasi 20%
 - Kapas V diolesi dengan ekstrak etanol Zodia 30%

5. Kapas yang sudah diberi perlakuan dimasukkan satu persatu selama 5 menit pada kandang yang berbeda, dan menggunakan sarung tangan yang berbeda.
6. Dilakukan pengamatan dan penghitungan jumlah nyamuk yang hinggap pada tiap kapas selama 5 menit, pada jam ke 0, 1, 2 ,4 ,6. Saat tidak diamati, kapas dikeluarkan dari kotak nyamuk.
7. Tes ini dilakukan dengan pengulangan sebanyak 5 kali untuk setiap perlakuan.

4.8 Alur Penelitian

Kontrol negatif	Perlakuan I	Perlakuan II	Perlakuan III	Perlakuan IV
Kapas + aquades	Kapas +DEET	Kapas + ekstrak 10%	Kapas + ekstrak 20%	Kapas + ekstrak 30%

4.9 Pengolahan dan Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan disajikan dalam bentuk tabel yang menunjukkan jumlah hinggapan nyamuk tiap jam pada tiap perlakuan.

Kemudian persentasi potensi ekstrak etanol zodia sebagai *repellent* dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

Sebelum menganalisis data potensi *repellent* dengan uji ANOVA, dilakukan pengujian syarat ANOVA, yaitu :

1. Syarat anova untuk lebih dari 2 kelompok tidak berpasangan harus terpenuhi yaitu sebaran data harus normal, varian data harus identik (homogen).
2. Jika tidak memenuhi syarat, maka diupayakan untuk melakukan transformasi data supaya sebaran menjadi normal dan varian menjadi identik.
3. Jika variabel hasil transformasi tidak berdistribusi normal atau varians tetap tidak identik, maka alternatif dipilih uji nonparametrik *Kruskal-Wallis*.
4. Jika pada uji ANOVA atau *Kruskal-Wallis* menghasilkan nilai $p < 0,05$, maka dilanjutkan dengan melakukan analisis *post hoc* yaitu dengan uji *Tukey HSD* (untuk anova) atau uji *Mann-Whitney* (untuk *Kruskal-Wallis*)

(Budiarto,2006).

Uji *Kruskall-Wallis* digunakan untuk mengetahui adanya perbedaan potensi antar kelompok perlakuan mana yang memiliki perbedaan potensi. Uji korelasi *Spearman* digunakan untuk mengetahui hubungan antara besarnya konsentrasi ekstrak etanol Zodia (*Evodia suaveolens*) dengan potensi *repellent* serta hubungan antara lamanya waktu perlakuan dengan potensi *repellent* .