

**LAPORAN TAHUN TERAKHIR
PENELITIAN TERAPAN UNGGULAN PERGURUAN TINGGI
(PTUPT)**



**KARAKTERISASI DAN IDENTIFIKASI TUMBUHAN YANG
BERPOTENSI SEBAGAI *BREEDING SITE* VEKTOR DEMAM
BERDARAH DENGUE DAN CHIKUNGUNYA**

TAHUN KE 2 DARI RENCANA 2 TAHUN

**Ketua: Dr. Dra. ROSMANIDA, M.Kes (NIDN. 0028125404)
Anggota 1: Dr. Dra. HAMIDAH, M.Kes. (NIDN. 0006106303)
Anggota 2: Drs. SALAMUN M.Kes. (NIDN. 0010116120)**

**DIBIYAI OLEH:
DIREKTORAT RISET DAN PENGABDIAN MASYARAKAT
DIREKTORAT JENDERAL PENGUATAN RISET DAN PENGEMBANGAN
KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
SESUAI DENGAN PERJANJIAN PENDANAAN PENELITIAN DAN PENGABDIAN
KEPADA MASYARAKAT
NOMOR: 122/SP2H/PTNBH/DRPM/2018**

**UNIVERSITAS AIRLANGGA
NOVEMBER 2018**

**LAPORAN TAHUN TERAKHIR
PENELITIAN TERAPAN UNGGULAN PERGURUAN TINGGI
(PTUPT)**



KICC
KK
LP 78/19
Ros
k

**KARAKTERISASI DAN IDENTIFIKASI TUMBUHAN YANG
BERPOTENSI SEBAGAI *BREEDING SITE* VEKTOR DEMAM
BERDARAH DENGUE DAN CHIKUNGUNYA**

TAHUN KE 2 DARI RENCANA 2 TAHUN

**Ketua: Dr. Dra. ROSMANIDA, M.Kes (NIDN. 0028125404)
Anggota 1: Dr. Dra. HAMIDAH, M.Kes. (NIDN. 0006106303)
Anggota 2: Drs. SALAMUN M.Kes. (NIDN. 0010116120)**

**DIBIYAI OLEH:
DIREKTORAT RISET DAN PENGABDIAN MASYARAKAT
DIREKTORAT JENDERAL PENGUATAN RISET DAN PENGEMBANGAN
KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
SESUAI DENGAN PERJANJIAN PENDANAAN PENELITIAN DAN PENGABDIAN
KEPADA MASYARAKAT
NOMOR: 122/SP2H/PTNBH/DRPM/2018**

**UNIVERSITAS AIRLANGGA
NOVEMBER 2018**

i

**MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

HALAMAN PENGESAHAN

Judul : Karakterisasi dan Identifikasi Tumbuhan Yang Berpotensi Sebagai Breeding Site Vektor Demam Berdarah Dengue dan Chikungunya

Peneliti/Pelaksana

Nama Lengkap : Dr. Dra ROSMANIDA, M.Kes
 Perguruan Tinggi : Universitas Airlangga
 NIDN : 0028125404
 Jabatan Fungsional : Lektor Kepala
 Program Studi : Biologi
 Nomor HP : 08123565798
 Alamat surel (e-mail) : rosma@fst.unair.ac.id

Anggota (1)

Nama Lengkap : Dr. Dra HAMIDAH M.Kes
 NIDN : 0006106303
 Perguruan Tinggi : Universitas Airlangga


Anggota (2)

Nama Lengkap : Drs SALAMUN M.Kes
 NIDN : 0010116120
 Perguruan Tinggi : Universitas Airlangga

Institusi Mitra (jika ada)

Nama Institusi Mitra : -
 Alamat : -
 Penanggung Jawab : -
 Tahun Pelaksanaan : Tahun ke 2 dari rencana 2 tahun
 Biaya Tahun Berjalan : Rp 100,000,000
 Biaya Keseluruhan : Rp 190,070,000



Mengetahui,
 Dekan Fakultas Sains dan Teknologi

 (Prof. Dr. Win Darmanto, M.Si., Ph.D)
 NIP/NIK 196106161987011001

Kota Surabaya, 12 - 11 - 2018
 Ketua,

(Dr. Dra ROSMANIDA, M.Kes)
 NIP/NIK 195412281982032001

Menyetujui,
 Ketua Lembaga Penelitian dan Inovasi

(Prof. Dr. Hery Purnobasuki, M.Si., Ph.D)
 NIP/NIK 196705071991021001

MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

RINGKASAN

Penyakit yang ditularkan oleh *Ae. aegypti*, seperti penyakit demam berdarah dengue, chikungunya, dll. masih menjadi masalah kesehatan masyarakat di Indonesia. Tujuan jangka panjang dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan sediaan *repellent* yang diperoleh dari tumbuhan *Bromelia* sp., *Musa paradisiaca*, *Cocos nucifera*, *Pandanus amaryllifolius*, dan *Bambusa* sp., yang efektif sebagai *repellent* nyamuk vektor DBD dan chikungunya namun aman bagi lingkungan, manusia, dan hewan.

Penelitian ini terkait dengan Rencana Induk Penelitian (RIP) Universitas Airlangga, penelitian yang diusulkan sesuai dengan tema riset bidang kesehatan dan obat, khususnya topik penelitian penanggulangan penyakit tropis yang aman dan ramah lingkungan dengan menggunakan bahan yang berasal dari berbagai tumbuhan yang terdapat dari beberapa Kabupaten/ Kota di Jawa Timur (tema riset 2).

Sebagai kelanjutan dari penelitian tahun pertama, target khusus dari penelitian tahun kedua ini adalah melakukan isolasi minyak atsiri dari tumbuhan *Bromelia* sp., *Musa paradisiaca*, *Cocos nucifera*, *Pandanus amaryllifolius*, dan *Bambusa* sp., guna untuk mendapatkan data uji aktivitas minyak atsiri sebagai *repellent* terhadap nyamuk *Ae. aegypti*.

Berdasarkan hasil penelitian tahun pertama: terdapat 15 jenis tumbuhan yang digunakan sebagai *breeding site* *Ae. aegypti*, yaitu: *Dendrocalamus* sp., *Musa paradisiaca*, *Xanthosoma* sp., *Pandanus amaryllifolius*, *Portea petropolitana*, *Alcantarea* sp., *Cocos nucifera*, *Dracaena* sp., *Bambusa* sp., *Bambusa vulgaris*, *Colocasia esculanta*, *Bromelia* sp. 1, *Bromelia* sp. 2, *Bromelia* sp. 3, dan *Bromelia* sp. 4.

Karakter fisiologis yang diteliti adalah ditemukannya zat kimia yang dapat menjadi daya tarik nyamuk untuk meletakkan telurnya. Dipilih lima jenis tumbuhan yang banyak ditemukan larva *Aedes* dan selalu ditemukan di seluruh daerah penelitian. Kelima tumbuhan tersebut adalah *Bromelia* sp., *Musa paradisiaca*, *Cocos nucifera*, *Pandanus amaryllifolius*, dan *Bambusa* sp. yang selanjutnya dianalisis menggunakan *Gas Chromatography-Massa Spectrum* (GC-MS). Hasil analisis diketahui bahwa komponen penyusun minyak atsiri pada tumbuhan dari beberapa Kabupaten/ Kota menunjukkan hasil yang berbeda dari satu spesies tumbuhan dengan spesies yang lain. Perbedaan komponen senyawa minyak atsiri pada spesies yang sama dari lokasi yang berbeda dipengaruhi antara lain oleh faktor fisik-kimia dan biologi tanah.

Karakter lain yang ditemukan adalah: dari analisis molekuler dapat dikatakan bahwa *Pandanus amaryllifolius*, *Bromelia* sp. dan *Musa paradisiaca* merupakan tumbuhan yang

mempunyai DNA polimorfik yang dominan sehingga sering menjadi *breeding site* *Ae. aegypti* dan *Ae. albopictus*.

Selain data di atas, faktor fisik kimia air pada *breeding site* *Ae. aegypti* menunjukkan kualitas yang terdapat dalam kisaran yang sesuai untuk kehidupan larva kedua spesies tersebut. Suhu berkisar antara 26,5-31°C, kekeruhan 0-6 NTU, kadar CO₂ 0,02-0,08 ppm, kadar ammonia 0,00625-0,042 ppm, nitrat 1,26-7,5 ppm, pH 5-7, DO 3,91-8,8 mg/L.

Dari beberapa hasil tersebut di atas, maka tahun kedua diuji pengaruh minyak atsiri dari tumbuhan tersebut dengan uji aktivitas *repellent* dilakukan dengan memaparkan bahan uji dengan berbagai konsentrasi terhadap nyamuk *Ae. aegypti* selama 24 jam. Evaluasi atas hasil uji yaitu waktu proteksi-mutlak (*complete protection time*) dan *effective dose* pada *repellent* terhadap nyamuk *Ae. aegypti* dan dilakukan uji analisis statistik.

Penelitian ini telah berhasil mengisolasi minyak atsiri dari lima jenis tumbuhan phytotelmata, yaitu *Bromelia* sp., *Musa paradisiaca*, *Cocos nucifera*, *Bambusa* sp., dan *Pandanus amaryllifolius*. Rata-rata nilai daya proteksi yang paling rendah adalah senyawa kimia dari *Bromelia* sp. (0%), hal ini menunjukkan bahwa *Ae. aegypti* lebih menyukai *Bromelia* sp. daripada spesies tumbuhan yang lain. Berbanding lurus dengan banyaknya jumlah nyamuk yang tertarik/hinggap, minyak atsiri dari *Bromelia* sp. mampu menarik lebih banyak *Ae. aegypti* pada perlakuan 10.000 ppm. Pada penelitian sebelumnya (tahun pertama) menunjukkan bahwa presentase kandungan senyawa alkana yang paling tinggi adalah *Bromelia* sp. (*Neoregelia spectabilis*) dan diindikasikan senyawa dari golongan alkana inilah yang memiliki sifat *attractant*. *Pandanus amaryllifolius* juga memiliki nilai daya proteksi yang rendah setelah *Bromelia* sp., yaitu sebesar 10%, dengan rata-rata jumlah *Ae. aegypti* yang hinggap sebanyak 19 ekor pada 10.000 ppm dan 16 ekor pada 1.000 ppm. Dilihat dari besarnya nilai daya proteksi dan jumlah *Ae. aegypti* yang hinggap, maka spesies tumbuhan yang paling menarik *Ae. aegypti* adalah *Bromelia* sp., diikuti *Pandanus amaryllifolius*, *Cocos nucifera*, *Musa paradisiaca*, dan *Bambusa* sp. Kelima spesies tersebut dapat dikatakan tumbuhan yang kurang efektif jika digunakan sebagai insektisida yang bersifat *repellent* sebab memiliki nilai daya proteksi yang rendah (<90%).

PRAKATA

Segala puji kehadiran Allah Subhanahu Wa Ta'ala yang telah melimpahkan segala kekuatan, rahmat, dan hidayah-Nya, sehingga laporan penelitian dengan judul Karakterisasi dan Identifikasi Tumbuhan yang Berpotensi sebagai *Breeding Site* Vektor Demam Berdarah Dengue dan Cikungunya telah berjalan cukup lancar. Laporan penelitian ini dibuat sebagai salah satu kewajiban untuk melaksanakan Tri Dharma Perguruan Tinggi, yaitu penelitian dosen. Laporan ini akan digunakan sebagai dasar melakukan monitoring dan evaluasi bagi pihak pemberi dana.

Selama melaksanakan penelitian dan membuat laporan ini, kami menyampaikan ucapan terima kasih kepada kelompok anggota peneliti, tim peneliti, mahasiswa, laboran, dan semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu. Penulis juga menyadari bahwa masih ada kekurangan dalam penyusunan laporan ini, untuk itu kami mengharapkan masukan berupa saran dan kritik yang konstruktif demi perbaikan dan kesempurnaan tulisan ini. Akhir kata, semoga karya ini dapat berguna bagi pengembangan ilmu dan pengetahuan.

Surabaya, November 2018

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
RINGKASAN	iii
PRAKATA	v
DAFTAR ISI	vi
BAB 1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Permasalahan	3
1.3 Urgensi Penelitian	3
1.4 Kesesuaian dengan RIP Universitas Airlangga	3
1.5 Kontribusi terhadap Ilmu Pengetahuan	4
1.6 Rencana Capaian Target	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Jenis Tumbuhan Tempat Perindukan <i>Ae. aegypti</i> dan <i>Ae. albopictus</i>	5
2.2 Aktivitas <i>Acttaractan</i> dan <i>Repellent</i> dari Tumbuhan	6
2.3 Tinjauan <i>Ae. aegypti</i> dan <i>Ae. albopictus</i>	8
2.4 Penelitian Terkait yang Telah Dilakukan oleh Pengusul	9
BAB 3. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	
3.1 Tujuan Penelitian	12
3.2 Manfaat Penelitian	11
BAB 4. METODE PENELITIAN	
4.1 Waktu dan Tempat Penelitian	13
4.2 Bahan dan Alat	13
4.3 Prosedur Penelitian	14
BAB 5. HASIL DAN LUARAN YANG DICAPAI	
5.1 Hasil Penelitian	16
5.2 Pembahasan.....	18
5.3 Luaran yang dicapai.....	18
BAB 6. KESIMPULAN DAN SARAN	
6.1 Kesimpulan	22
6.2 Saran	22
DAFTAR PUSTAKA	23
LAMPIRAN (bukti luaran yang didapatkan)	
- Artikel ilmiah (draft, status, submission atau repair, dll)	
- publikasi	



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan wilayah endemis beragam penyakit tropis, diantaranya adalah penyakit yang ditularkan oleh vektor *Ae. aegypti* dan *Ae. albopictus* yang dapat menularkan penyakit demam berdarah dengue (DBD) dan chikungunya (Tyagi dan Hiriyan, 2004). Penyakit DBD merupakan salah satu penyakit yang menjadi masalah di masyarakat. Nyamuk *Ae. aegypti* dan *Ae. albopictus* merupakan nyamuk yang berperan utama sebagai vektor penyakit DBD. Penyakit demam berdarah sering dikatakan sebagai penyakit yang memiliki nilai resiko yang cukup tinggi bagi negara berkembang maupun negara maju. Gubler & Clark (1996) menyatakan bahwa penyakit demam berdarah merupakan penyakit yang mendunia meliputi benua Asia, Afrika, Amerika, Australia, dan Kepulauan Pasifik serta telah terjangkit kurang lebih di 100 Negara. Menurut Kemenkes RI (2010) WHO mencatat Indonesia sebagai negara dengan kasus DBD tertinggi di Asia Tenggara.

Saat ini pengendalian vektor nyamuk masih mengandalkan penggunaan insektisida. Insektisida yang banyak digunakan adalah zat kimia sintetis seperti *malathion*, *permethrin*, *lambda-cyhalothrin*, dan *pirimiphos methyl*. Penggunaan insektisida ini bagaikan pisau bermata dua. Bila tepat sasaran, tepat dosis, tepat waktu, dan cakupan dapat mengendalikan vektor, namun bila tidak tepat dapat memberikan dampak negatif terhadap lingkungan dan organisme yang bukan sasaran. Di samping itu, penggunaan insektisida sintetis dalam waktu jangka tertentu dapat menimbulkan resistensi vektor (Sukowati, 2010). Oleh karena itu, upaya menemukan *repellent* berbasis bahan alam yang dihasilkan dari tumbuhan diharapkan dapat menjadi solusi untuk masalah ini.

Di dunia, terutama di Indonesia hanya sedikit informasi yang meneliti tentang tempat perindukan *Aedes* spp. pada tumbuhan, terutama nyamuk *Ae. albopictus*. Nyamuk ini biasa bertelur di tempat yang berukuran kecil, badan air rindang dikelilingi oleh vegetasi. Ketiak daun (*plant axiles*) merupakan salah satu tempat perindukan nyamuk *Ae. albopictus*. Beberapa tumbuhan yang mempunyai ketiak daun, misalnya pisang, nanas, *Ravanel*, bromelia, *Nephentes*, dan rumput (Lounibos *et al.*, 1985). Selanjutnya pada ketiak daun nanas (*Ananas comosus*), bromelia (*Guzmania* spp.), pisang (*Musa* spp.), sekrup pinus (*Pandanus odoratissimus*), dan di rachis utama kelapa (*Cocos nucifera*) (Eapen *et al.*, 2010).

Preferensi nyamuk betina dalam memilih media untuk bertelur dipengaruhi oleh faktor internal nyamuk (indera penglihatan dan penciuman), suhu, cahaya, kelembaban, fisik media tempat peletakan telur dan ada tidaknya bakteri (Tilak *et al.*, 2005).

Selain itu, faktor kimia berupa bau yang dihasilkan oleh tumbuhan dapat dirasakan oleh serangga pada jarak dekat, sehingga senyawa yang mudah menguap yang terdapat pada tumbuhan merupakan sinyal mendapatkan inang dan mempengaruhi peletakan telur serangga (Huang *et al.*, 2000). Daya tarik dari bau suatu tumbuhan sudah banyak diamati. Ekstrak dari kacang polong dan *Cajanus cajan* dapat menarik *Helicoverpa armigera* (Hartlieb & Rembold, 1996). Senyawa bunga *Tagetes erecta* juga dapat menarik ngengat betina *Helicoverpa armigera* untuk meletakkan telur-telurnya pada jagung dan tomat (Bruce & Cork, 2001). Senyawa minyak atsiri dari bunga *Gaura* sp. telah terbukti dapat menarik ngengat betina *Helicoverpa armigera* dan ngengat serangga lainnya di Amerika Serikat (Shaver *et al.*, 1997). Zhu *et al.* (1993) menyatakan bahwa tumbuhan berbunga dapat dijadikan sebagai daya tarik bagi *Agrotis ipsilon*, *Pseudaletia unipuncta*, dan *Helicoverpa armigera* pada jagung. Ada beberapa penelitian menunjukkan bahwa ada senyawa minyak atsiri dapat meningkatkan oviposisi (Breedon *et al.*, 1996). Breedon *et al.* (1996) mencatat stimulan oviposisi *Helicoverpa armigera* pada jagung terdiri dari senyawa asam dan alkana dari berbagai macam spesies *Lycopersicon* (Solanaceae). Jallow *et al.* (1999) menyatakan bahwa methanol, etanol, aseton, dan senyawa pentane dari daun dan bunga beberapa kultivar kapas mempengaruhi perilaku oviposisi ngengat betina *Helicoverpa armigera* di laboratorium.

Hasil penelitian tahun pertama tentang kandungan kimia tumbuhan yang digunakan sebagai *breeding site* *Ae. aegypti* dan *Ae. albopictus*, yaitu *Bromelia* sp., *Musa paradisiaca*, *Cocos nucifera*, *Pandanus amaryllifolius*, dan *Bambusa* sp. diketahui mengandung tetracosane yang merupakan komponen dominan dari minyak atsiri.

Berdasarkan uraian di atas dapat disimpulkan nilai penting yang akan diperoleh dari penelitian yang diusulkan adalah: (1) mengidentifikasi tumbuhan yang paling berpotensi sebagai *repellent*. (2) menentukan senyawa *repellent* yang diisolasi dari tumbuhan yang digunakan sebagai *breeding site* *Ae. aegypti*. Data tersebut dapat digunakan sebagai model untuk menentukan cara pengendalian yang

sesuai di suatu wilayah. *Attractant* adalah suatu zat yang dapat menarik hewan tertentu baik sebagai individu maupun sebagai lawan jenis. Sebaliknya, *repellent* adalah suatu zat yang dapat menolak hewan tertentu baik sebagai individu maupun sebagai lawan jenis.

Kegagalan pengendalian vektor selama ini antara lain disebabkan oleh program pengendalian yang tidak berdasarkan data *evidence base*, karena kondisi setiap daerah endemis penyakit DBD dan chikungunya bersifat khusus dan lokal area spesifik. Oleh karena itu, penelitian identifikasi tumbuhan yang berpotensi sebagai *repellent* terhadap nyamuk vektor perlu dilakukan untuk melengkapi data dan mendukung program pengendalian vektor penyakit BDR dan chikungunya di masa mendatang.

1.2 Permasalahan

Berdasarkan latar belakang di atas, dalam penelitian yang diusulkan ini ingin dikembangkan senyawa *repellent* minyak atsiri yang diisolasi dari *Bromelia* sp., *Musa paradisiaco*, *Cocos nucifera*, *Pandanus amaryllifolius*, dan *Bambusa* sp. yang dapat menjadi insektisida nabati yang aman dan efektif, yang dapat diaplikasikan dalam pengendalian nyamuk vektor penyakit DBD dan chikungunya di Indonesia.

1.3 Urgensi (keutamaan) penelitian

Dari aspek kesehatan, tingginya angka kejadian penyakit yang ditimbulkan oleh vektor nyamuk, mengindikasikan kebutuhan yang mendesak untuk ditemukan insektisida yang efektif, aman, dan efisien. Dari aspek ekonomi-lingkungan, pemanfaatan tumbuhan yang bersifat *repellent* juga berpotensi sebagai salah satu cara pengendalian vektor yang mudah didapat (dari bahan alam) dan aman bagi lingkungan.

1.4 Kesesuaian dengan RIP Universitas Airlangga

Kebijakan Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Airlangga dalam pengembangan penelitian dan pengabdian kepada masyarakat yang ada di lingkungannya, diarahkan pada peningkatan kualitas dan kuantitas yang dilandasi oleh kebutuhan regional dan nasional untuk meningkatkan daya saing bangsa dalam menghadapi persaingan global.

Dalam kaitannya dengan Rencana Induk Penelitian (RIP) Universitas Airlangga, penelitian yang diusulkan ini sesuai dengan tema riset bidang kesehatan dan obat, khususnya topik penelitian penanggulangan penyakit tropis yang aman dan ramah lingkungan dengan menggunakan bahan yang berasal dari berbagai tumbuhan yang terdapat dari beberapa Kabupaten/ Kota di Jawa Timur (tema riset 2).

1.5 Kontribusi terhadap ilmu pengetahuan

Gagasan yang mendasar dari penelitian ini terletak pada pengujian *attractant* pada beberapa spesies nyamuk vektor DBD dan chikungunya, serta pembuatan sediaan insektisida *repellent*. Diharapkan dari penelitian ini didapat suatu senyawa *repellent* berbasis bahan alam yang efektif namun aman bagi manusia dan hewan. Diharapkan pula penemuan insektisida ini akan menjadi kontribusi yang berarti bagi upaya pencegahan penularan penyakit-penyakit yang ditularkan oleh nyamuk, seperti Demam Berdarah Dengue, chikungunya, serta zika.

1.6 Rencana Target Capaian Tahunan

No	Jenis Luaran	Indikator Capaian		
		2017	2018	
1	Publikasi ilmiah	Internasional	Submitted	Published, Submitted
		Nasional terakreditasi	-	-
2	Pemakalah dalam temu ilmiah	Internasional	Submitted	Presented, Submitted
		Nasional	-	-
3	<i>Invited speaker</i> dalam temu ilmiah	Internasional	-	-
		Nasional terakreditasi	-	-
4	<i>Visiting Lecturer</i>	Internasional	-	-
5	Hak Kekayaan Intelektual (HKI)	Paten Sederhana	-	-
6	Teknologi tepat guna		-	-
7	Model Purwarupa/Disain/Karya Seni/ Rekayasa Sosial		-	-
8	Buku Ajar (ISBN)		-	Sudah terbit
9	Tingkat Kesiapan Teknologi (TKT)		3	4

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Jenis Tumbuhan Tempat Perindukan *Ae. aegypti*

Pengetahuan ekologi vektor sangat penting untuk menunjang pengendalian vektor dapat berjalan efektif dan efisien. Pada saat membuat perencanaan, pelaksanaan, dan evaluasi program pengendalian vektor, maka pengendalian populasi vektor harus didasarkan data *evidence base*, karena kondisi setiap daerah endemis penyakit DBD dan chikungunya bersifat khusus dan bersifat lokal area spesifik. Telah banyak penelitian yang dilakukan terhadap tempat perindukan nyamuk *Ae. aegypti*, namun belum banyak terungkap tempat perindukan yang disukai *Ae. albopictus* yang merupakan nyamuk yang suka hidup di luar atau di pekarangan rumah yang banyak terdapat tumbuhan sebagai tempat berkembang biak maupun tempat istirahatnya (*resting*).

Tumbuhan yang mampu menampung air pada bagian organ tubuhnya dan dapat dijadikan sebagai habitat bagi berbagai organisme disebut phytotelmata. Genangan air yang dapat tertampung pada bagian tubuh phytotelmata dapat berasal dari air hujan dan dari tumbuhan itu sendiri. Selain itu, jika tumbuhan tersebut ditanam sebagai tanaman hias, maka setiap hari akan terjamin ketersediaannya airnya karena disiram oleh pemiliknya. Rata-rata genangan air yang tertampung pada bagian tumbuhan phytotelmata berasal dari air hujan yang memiliki volume berkisar dari 30 ml sampai dengan 200 ml (Rosa *et al.*, 2012). Menurut Greeney (2001) phytotelmata terbagi dalam beberapa tipe, yaitu ketiak daun, seludang bunga, bagian tumbuhan yang gugur, batang yang membusuk, modifikasi daun (*Pitcher Plant*), lubang buah, dan lubang pohon.

Hanya sedikit informasi hasil penelitian tentang tempat perindukan *Ae.* pada tumbuhan, terutama nyamuk *Ae. albopictus*. Nyamuk yang biasa bertelur di lubang pohon (*treehole*), dan menggunakan tempat-tempat berkembang biak yang berukuran kecil, badan air rindang dikelilingi oleh vegetasi. Ketiak daun (*plant axiles*), yaitu: pisang, nanas, *Ravanela*, bromelia, *Nephenthes*, rumput, dan pot tanaman (Lounibos *et.al.*, 1985). Ketiak daun nanas (*Ananas comosus*), bromelia (*Guzmania* spp.), pisang (*Musa* spp), sekrap pinus (*Pandanus odoratissimus*) dan di rachis utama kelapa (*Cocos nucifera*) (Eapen. *at al.*, 2010).

Penelitian dari berbagai negara menunjukkan bahwa kedua spesies tersebut dapat menyesuaikan tempat berkembang biak alami dan buatan (Tandon dan Ray, 2000; Crans, 2006). Saat KLB chikungunya di Lakshadweep Island India, hanya ditemukan *Ae. albopictus* dan tempat perindukan yang ditemukan mulai dari yang paling banyak berturut-turut adalah batok kelapa, ban, metal kontainer, dan tempat penampungan air plastik.

Namun nyamuk ini juga sangat fleksibel sehingga dapat menjelajahi berbagai situs buatan manusia dan wilayah perkotaan (Eritja *et al.*, 2005). Di Singapura, tempat perindukan *Ae. aegypti* yang paling umum adalah perangkap semut (*ant traps*), guci tanah liat, dan kaleng bekas; setengah tempat perindukan *Ae. albopictus* terdapat di dalam rumah (Chan *et al.*, 1971b). Awalnya *Ae. albopictus* diketahui menyukai kontainer alami, misalnya pelepah daun dan potongan bambu yang berisi air hujan, ditemukan juga di dalam sampah gelas plastik yang berisi air (Khim, 2007).

Keberhasilan pengendalian populasi nyamuk *Ae. aegypti* dan *Ae. albopictus* melalui PSN terkait erat dengan informasi yang rinci tentang preferensi tempat perindukan kedua spesies. Di samping di dalam rumah, tempat perindukan di luar rumah dapat ditemukan pada radius jarak terbang nyamuk betina, rerata 40 meter dan maksimal 100 meter. Jika tidak mendapatkan tempat perindukan yang lebih dekat, nyamuk dapat terbang sampai beberapa kilometer dalam usahanya untuk mencari tempat perindukan untuk meletakkan telurnya. Jarak terbang *Ae. albopictus* relatif dekat (Eritja *et al.*, 2005).

2.2 Aktivitas *attractant* dan *repellent* dari tumbuhan

Identifikasi tumbuhan, karakter morfologi, karakter fisiologi, dan karakter molekuler tumbuhan yang digunakan sebagai *breeding site* *Ae. aegypti* dan *Ae. albopictus* sudah dilakukan pada tahun pertama. Dari segi fisiologi tumbuhan adanya senyawa tetracosane yang ditemukan pada tumbuhan yang digunakan sebagai *breeding site* *Ae. aegypti* dan *Ae. albopictus* diduga dapat menarik *Ae. aegypti* dan *Ae. Albopictus* atau bersifat *attractant*. Organisme hidup mempunyai cara tersendiri dalam mempertahankan hidupnya. Cara interaksi antara organisme di alam akan menentukan keberhasilannya dalam beradaptasi dan bertahan hidup. Ada berbagai macam cara yang dilakukan organisme. Kandungan kimia yang terdapat di dalam tumbuhan tempat perindukan alami *Ae. aegypti* dan *Ae. albopictus* merupakan salah satu daya tarik bagi nyamuk betina untuk meletakkan telurnya. Diduga adanya

senyawa kimia yang terdapat dalam tumbuhan maupun air yang tertampung dalam tumbuhan tersebut, karena tumbuhan memiliki banyak senyawa kimia yang memiliki peran dan fungsi penting bagi pertumbuhan dan perkembangan hidupnya. Salah satu senyawa kimia yang penting bagi tumbuhan sebagai sarana untuk berinteraksi dengan organisme lain adalah senyawa minyak atsiri (*volatile*). Senyawa ini dapat bersifat menarik (*attractant*) dan menolak (*repellent*) yang dalam ilmu pertanian dimanfaatkan untuk pengelolaan hama secara terpadu. Minyak atsiri yang berasal dari tumbuhan dapat mengakibatkan satu atau lebih pengaruh pada beberapa serangga seperti bersifat menolak (*repellent*) dan menarik (*attractant*) (Hasyim *et al.*, 2007), racun kontak (Tariq *et al.*, 2010, Chu *et al.*, 2011, Abramson *et al.*, 2006), racun pernafasan (Huang *et al.* 2000), dan mengurangi nafsu makan (*antifeedant*) (Arivoli & Tennyson, 2013).

Minyak atsiri merupakan salah satu hasil proses metabolisme di dalam tumbuhan dan terbentuk karena reaksi antara berbagai persenyawaan kimia dengan air. Minyak atsiri yang dikenal sebagai minyak eteris atau minyak terbang. Minyak tersebut mudah menguap pada suhu kamar tanpa mengalami dekomposisi, mempunyai rasa getir, berbau wangi sesuai dengan bau tumbuhan penghasilnya, umumnya larut dalam pelarut organik, dan tidak larut dalam air. Minyak tersebut disintesis dalam sel tumbuhan, dapat ditemukan pada organ tumbuhan, misalnya: akar, batang, kulit, daun, bunga, dan pada buah.

Banyak tumbuhan yang melindungi diri terhadap herbivor dengan melepas senyawa *volatile*. Pengetahuan tentang pertahanan tumbuhan ini juga ditunjukkan dengan adanya beberapa tumbuhan seperti pohon pinus, kacang, dan buncis yang mampu menarik parasitoid sebagai musuh alami dari hama tumbuhan tersebut (Meiners & Hillker, 2000; Colazza *et al.*, 2004; dan Cotti *et al.*, 2008). Bau yang dihasilkan oleh tumbuhan bertindak sebagai isyarat, menuntun ngengat parasitoid ke habitat yang diinginkan (Dicke *et al.*, 1990). Betina *Bactrocera oleae* (Rossi) (Diptera: Tephritidae) menunjukkan preferensi peletakan telur pada tumbuhan yang dipengaruhi oleh faktor kimia (Imperato *et al.*, 2012; Kombargi *et al.*, 1998; Spadafora *et al.*, 2008) faktor fisik (Neuenschwander *et al.*, 1985; Rizzo *et al.*, 2012), dan faktor molekuler (Corrado *et al.*, 2012).

Pemanfaatan substansi kimia yang bersifat *attractant* telah banyak membantu dalam mempelajari perilaku beberapa spesies serangga seperti lalat buah dalam perilaku kawin dan perilaku oviposisi. Setiap jenis *attractant* memiliki daya

tarik tersendiri terhadap spesies serangga tertentu. Sebuah penelitian menunjukkan adanya senyawa volatil dan senyawa non-volatil dapat meningkatkan oviposisi (Breedon *et al.*, 1996). Jallow *et al.* (1999) menyatakan bahwa methanol, etanol, aseton, dan senyawa pentane dari daun dan bunga dari genotip beberapa kultivar kapas mempengaruhi perilaku oviposisi ngengat betina *H. armigera* di laboratorium.

Beberapa senyawa yang bersifat *attractant* lain adalah metil eugenol, *cue-lure*, terpenoid, dan turunannya, *trimed-lure* dan lain-lain. Metil eugenol merupakan komponen penyusun minyak esensial daun dan bunga dari beberapa jenis tumbuhan seperti tumbuhan cengkeh dan selasih. Metil eugenol memiliki unsur kimia $C_{12}H_{24}O_2$. Senyawa ini merupakan makanan yang dibutuhkan oleh beberapa serangga seperti lalat buah jantan untuk dikonsumsi dan berguna dalam proses perkawinan. Lalat buah jantan mengkonsumsi metil eugenol di alam, kemudian setelah diproses dalam tubuhnya maka akan menghasilkan feromon seksual yang dapat menarik lalat betina (Kardinan *et al.*, 2009). Metil eugenol merupakan zat yang bersifat *volatile* atau menguap dan melepaskan aroma wangi. Radius aroma *attractant* dari metil eugenol ini mencapai 20 sampai dengan 100 m, tetapi jika di bantu angin jangkauannya akan mencapai 3 Km (Kardinan *et al.*, 2009).

Cue-lure memiliki deskripsi senyawa kimia sebagai 4-(p-acetoxyphenil)-2butanone, meskipun perusahaan kimia menuliskan sebagai 4-(3-oxobutyl)-phenyl acetate (Siwi *et al.*, 2006). *Trimed-lure* memiliki deskripsi senyawa kimia sebagai t-butyl 4chloro-2-methyl chyclohexana carboxylate. *Trimed-lure* menarik lalat buah jantan dari *Ceratitis* spp. dan *Peterandus* spp. (Siwi *et al.*, 2006).

Terpenoid merupakan salah satu dari jenis minyak atsiri yang merupakan senyawa paling melimpah dan berstruktur dan dilepaskan oleh banyak tumbuhan dalam jumlah yang cukup besar (Cheng *et al.*, 2004). (E) -4, 8-dimethyl-1,3,7-nonatriene (DMNT), - β caryophyllene dan (E, E) - α -farnesene adalah senyawa terpenoid yang bersifat *attractant* atau menarik artropoda (Dicke *et al.*, 1990)

2.3 Tinjauan *Ae. aegypti* dan *Ae. albopictus*

Nyamuk *Ae. aegypti* dan *Ae. albopictus* (Ordo Diptera. Famili: Culicidae) merupakan nyamuk yang berperan sebagai vektor utama penyakit Demam Berdarah Dengue dan Chikungunya. di samping sebagai vektor beberapa penyakit *Japanese B encephalitis*, demam kuning, dan Zika virus. Kedua spesies nyamuk dapat melangsungkan siklus hidupnya dengan tempat perindukan (*breeding site*)

selalu tersedia di rumah dan lingkungan manusia sebagai sumber makanan nyamuk betina dewasa. Keadaan ini menyebabkan penyakit yang ditularkannya akan selalu ada sepanjang masa.

Pengendalian populasi nyamuk vektor sebaiknya dilakukan pada fase jentik, karena nyamuk dewasa dikhawatirkan mengandung virus dan sukar dilakukan. Oleh karena itu, pengendalian populasi nyamuk dilakukan pada fase jentik. Nyamuk *Ae. aegypti* dan *Ae. albopictus* meletakkan telurnya pada habitat akuatik, menetas menjadi larva, sampai fase pupa, nyamuk dewasa aktif, terbang, dan makanannya darah atau cairan tumbuhan (WHO, 1972). *Ae. albopictus* merupakan spesies *multivoltine*, menghasilkan beberapa generasi dalam satu tahun, satu generasi menghabiskan waktu tiga minggu sehingga menghasilkan 17 generasi per tahun untuk daerah tropis dan delapan minggu menghasilkan 5-7 generasi per tahun di daerah dingin (Hawley, 1988). Nyamuk dewasa *Ae. aegypti* mencapai dua bulan pada suhu 28 oC dan kelembaban udara 80% (Setiawan, 2002). Kecepatan dalam menyelesaikan satu siklus hidup tergantung temperatur dan tersedianya makanan (Hawley, 1988).

Larva . berbentuk panjang silindris. Ciri khas larva . adalah pada tiap pangkal bulu *mesothorax* dan *metathorax* terdapat duri yang menonjol dan besar. *Abdomen* terdiri atas sepuluh ruas, delapan ruas yang nampak jelas dan dua ruas terakhir berukuran amat kecil sehingga kurang begitu jelas. Pada kedua sisi ruas *abdomen* ke delapan, terdapat satu baris *comb teeth* yang terdiri atas 8-16 gigi yang menjadi ciri khas masing-masing spesies. Pada setiap *comb teeth* terdapat duri-duri pada sisi lateralnya (Depkes RI, 1989).

Perbedaan antara larva *Ae. aegypti* dan *Ae. albopictus* terletak pada bentuk *comb scales* yang terdapat pada segmen ke delapan dan bentuk gigi *pecten* pada *siphon*. Larva *Ae. aegypti*, *comb teeth* berkembang baik di bagian lateral. Sementara pada larva *Ae. albopictus*, *comb teeth* tidak mempunyai *lateral denticle* tapi gigi *pectin* memiliki tiga *denticle* runcing (WHO, 1995).

2.4 Penelitian terkait yang telah dilakukan oleh pengusul

Ae. albopictus merupakan nyamuk yang bersifat exofilik dan hidup di pekarangan yang bervegetasi. Terutama tempat perindukan alami sangat tergantung pada keberadaan tumbuhan. Sebanyak empat spesies tumbuhan yang ditemukan menjadi tempat perindukan larva *Ae.* di Kabupaten Jombang, yaitu *Dracaena*

fragrans, *Bambusa balcooa*, *Musa paradisiaca*, dan *Colocasia esculenta*. Adapun di Kabupaten Malang, ditemukan lima spesies tumbuhan, yaitu *Dracaena fragans*, *Dendrocalamus asper*, *Musa paradisiaca*, *Xanthosoma sagittifolium*, dan lubang pohon.

Sedangkan spesies tumbuhan yang berpotensi sebagai tempat *breeding site* di Kabupaten Pacitan adalah *Colocasia esculenta* dan *Cocos nucifera*. Spesies yang berpotensi sebagai tempat perindukan alami di Kabupaten Banyuwangi adalah *Cocos nucifera* dan *Xanthosoma sagittifolium*. Di Kabupaten Sidoarjo terdapat 8 spesies tumbuhan yang berpotensi sebagai tempat *breeding site*, yaitu: *Portea petropolitana*, *Alcantarea imperialis*, *Cocos nucifera*, *Colocasia esculenta*, dan 4 spesies Bromelia yang belum teridentifikasi.

Tetracosane adalah senyawa yang ada pada semua spesies tumbuhan. Kandungan tetracosane yang paling tinggi terdapat pada *Musa paradisiaca* (14,62), sedangkan *Bambusa* sp. (6,57), *Bromelia* sp. (6,50), *Cocos nucifera* (7,85), dan *Pandanus amaryllifolius* (3,13) (Tabel 1). Tetracosane merupakan senyawa hidrokarbon alifatik (Kalegari *et al.*, 2011) golongan alkana (Sonibare *et al.*, 2007). Senyawa Tetracosane memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker usus besar HT-29 dengan menginduksi apoptosis (Uddin *et al.*, 2012). Hal ini menandakan bahwa meskipun belum diketahui perannya sebagai antibakteri, namun Tetracosane telah diketahui berperan dalam bidang medis. Docosane bersifat antibakteri terhadap bakteri Gram-positif maupun Gram-negatif (Uma & Parvathavarthini). Senyawa Eicosane dari ekstrak tana-man menunjukkan aktivitas antibakteri, antifungi, serta efek sitotoksik terhadap sel kanker HeLa dan MCF-7 (Hsouna *et al.*, 2011).

Selain tetracosane, senyawa yang sering ditemukan pada kelima jenis tanaman uji adalah Octacosane, eicosane, octadecana, tetracosane, tricosane, hexacosane, dan heptacosane merupakan senyawa dari golongan alkana, sedangkan docosane merupakan golongan dari alkena. Hasil penelitian Saputra (2010) menunjukkan ekstrak daun pandan wangi yang dihasilkan dengan proses ekstraksi menggunakan pelarut n-heksana mengandung 15 jenis senyawa yang terdiri atas senyawa golongan alkana, alkohol, keton, asam karboksilat, ester, dan terpen. Ada beberapa senyawa aldehyd seperti dodecanal. Menurut Ringbom *et al.* (2001), di antara senyawa-senyawa golongan asam karboksilat, asam hexadecanoid merupakan senyawa yang banyak ditemukan pada tanaman. Senyawa ini merupakan substrat

energi yang penting bagi sel. Sementara itu, aldehid dan keton sering bertindak sebagai *allelochemicals*.

Pada tahun 2017, penulis telah berhasil mengidentifikasi jenis tumbuhan yang digunakan sebagai *breeding site* *Ae. aegypti* dan *Ae. albopictus* di enam Kabupaten di Jawa Timur. Selanjutnya menganalisis kandungan senyawa kimia (minyak atsiri) yang terkandung pada tumbuhan yang digunakan sebagai *breeding site* *Ae. aegypti* dan *Ae. albopictus*. Hasil analisis menunjukkan bahwa *Pandanus amaryllifolius*, *Bromelia* sp., dan *Musa paradisiaca* merupakan tumbuhan yang sering menjadi *breeding site* atau tempat perindukan *Aedes* spp., karena ketiga spesies tersebut merupakan tumbuhan yang mempunyai DNA polimorfik yang dominan dan memiliki sifat *attractant*.

Pengusul telah pula mencoba melakukan uji Kondisi Fisik-Kimia Air pada *Natural breeding site* *Ae. aegypti* dan *Ae. albopictus*. Hasil penelitian tentang kondisi fisik kimia air menunjukkan bahwa sebagian besar sesuai dengan kebutuhan hidup larva *Ae. aegypti* dan *Ae. albopictus*. Secara ringkas, penelitian pengusul di tahun kedua merupakan kelanjutan dari segi fisiologi tumbuhan, yaitu mengisolasi kembali kandungan senyawa kimia dari tumbuhan yang digunakan sebagai *breeding site* *Ae. aegypti* dan *Ae. albopictus* dan melakukan uji aktivitas senyawa *attractant* dengan pemaparan langsung pada imago *Ae. aegypti* dan *Ae. albopictus*.

BAB 3. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

3.1 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian yang diajukan adalah:

1. Mengisolasi minyak atsiri dari tumbuhan *Bromelia sp.*, *Musa paradisiaca*, *Cocos nucifera*, *Pandanus amaryllifolius.*, dan *Bambusa sp.* untuk melihat potensinya untuk dikembangkan sebagai *repellent* terhadap *Ae. aegypti*
2. Menentukan waktu proteksi-mutlak (*Complete-protection time*) dan *Effective Dose* pada uji *repellent* terhadap nyamuk *Ae. aegypti*

3.2 Manfaat Penelitian

Untuk melakukan pengendalian vektor penyakit DBD dan chikungunya didasarkan pada data karakter tumbuhan yang berpotensi sebagai *breeding site* vektor dan untuk mendapatkan potensi minyak atsiri sebagai *repellent* yang diperoleh dari tumbuhan *Bromelia sp.*, *Musa paradisiaca*, *Cocos nucifera*, *Bambusa sp.*, dan *Pandanus sp.*, yang nantinya dapat digunakan sebagai pengendalian vektor yang efektif, berkelanjutan, serta aman bagi lingkungan, manusia, dan hewan.

MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

BAB 4. METODE PENELITIAN

4.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan mulai bulan Juni sampai November 2018. Pengamatan dan pengambilan sampel tumbuhan dilakukan di salah satu Kabupaten yang merupakan daerah dengan kasus demam berdarah tinggi di Jawa Timur, yaitu Kabupaten Bangkalan. Isolasi minyak atsiri dilakukan di Laboratorium Kimia Organik, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga. Uji *repellent* sebagai waktu proteksi-mutlak (*Complete-protection time*) dan *Effective Dose* terhadap nyamuk *Ae. aegypti*, dilakukan di Laboratorium Entomologi, Lembaga Penyakit Tropis, Universitas Airlangga.

4.2 Bahan dan Alat Penelitian

4.2.1 Bahan penelitian

Nyamuk betina *Ae. aegypti* berumur 6-8 hari dengan kondisi dipuaskan satu hari sebelum pengujian. Nyamuk diperoleh dari Lembaga Penyakit Tropis, Universitas Airlangga, Surabaya. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun dari lima jenis tumbuhan yaitu: *Bromelia* sp., *Musa paradisiaca*, *Cocos nucifera*, *Pandanus* sp., dan *Bambusa* sp. Natrium hidroksida, metil isobutyl keton, aquades, heksana, etil asetat, dan ethanol.

4.2.2 Alat penelitian

- a) Alat untuk *rearing* nyamuk: aspirator hisap, kain strimin, gelas plastik ukuran + 400 ml untuk tempat memuasakan nyamuk betina, sangkar nyamuk untuk meletakkan gelas tersebut pada waktu dilakukan uji.
- b) Alat untuk membuat minyak atsiri kelima spesies tumbuhan sampel: timbangan untuk menimbang daun kelima spesies yang diperlukan, oven untuk mengeringkan daun kelima spesies, blender untuk menghaluskan daun kelima spesies, saringan untuk mengayak daun kelima spesies sehingga dihasilkan serbuk daun kelima spesies kering, toples sebagai tempat atau wadah untuk merendam serbuk dengan etanol 96% sebagai pelarut, botol vial sebagai wadah penyimpanan hasil minyak atsiri kelima spesies, dan alat untuk destilasi minyak atsiri.



- c) Alat untuk uji daya proteksi dan waktu proteksi-mutlak: cup nyamuk standar WHO, stopwatch, pencil, log book, micropipet, microcup, pipet volum, dan spidol marker.
- d) Corong Buchner, labu isap, corong pisah, labu ukur, dan lempeng KLT.

4.3 Prosedur Penelitian

4.3.1. Persiapan bahan uji nyamuk

Nyamuk betina *Ae. aegypti* berumur 6-8 hari dengan kondisi dipuaskan satu hari sebelum pengujian. Nyamuk diperoleh dari Lembaga Penyakit Tropis. Universitas Airlangga, Surabaya.

4.3.2. Isolasi minyak atsiri daun tumbuhan *Bromelia* sp., *Musa paradisiaca*, *Cocos nucifera*, *Pandanus* sp., dan *Bambusa* sp.

Metode penyulingan yang digunakan adalah destilasi uap air, karena metode tersebut sangat cocok untuk mengekstraksi senyawa kandungan yang mudah menguap (minyak atsiri) dari bahan segar atau simplisia. (Depkes RI., 2000). Isolasi minyak atsiri dilakukan dengan cara penyulingan/destilasi dengan prosedur sebagai berikut.

- a. Preparasi sampel. Sampel berupa daun dipotong kecil-kecil (daun bambu, pisang, bromelia, pandan dan daun kelapa). Kemudian sampel dikering anginkan.
- b. Persiapan set up alat destilasi.
- c. Sampel sebanyak ± 80 gram dimasukkan ke dalam labu alas bulat 1 liter.
- d. Tambahkan aquades sampai $\frac{3}{4}$ bagian labu ± 500 ml dan ditambahkan batu didih.
- e. Labu dipasang kembali pada set up alat destilasi, kemudian dipanaskan pada mantel pemanas secara perlahan-lahan sampai tercapai suhu yang diinginkan.
- f. Destilasi dihentikan setelah diperoleh destilat yang diinginkan atau setelah dipanaskan ± 4 jam.
- g. Destilat yang diperoleh terdapat dua fase, yakni: *aquase phase* dan *organic phase*. Selanjutnya dipisahkan menggunakan labu pisah dengan ditambahkan n-heksan perbandingan 1:10.

h. *Phase aquase* dibuang, untuk *phase organic* dievaporasi dengan evaporator sampai semua pelarut n-heksan menguap dan diperoleh minyak atsiri.

4.3.3 Uji daya proteksi dan waktu proteksi-mutlak kelima tanaman

Larutan uji berupa minyak atsiri kelima spesies tumbuhan dengan konsentrasi 0% (kontrol negatif), 10.000 ppm, dan 1000 ppm sebagai perlakuan yang ditambahkan ke dalam *microcup* sebanyak 100 μ l. Kontrol negatif dalam penelitian ini berupa air PDAM yang direndam semalam dengan pelarut minyak atsiri (EtOH). Minyak atsiri kelima spesies dibagi berdasarkan konsentrasi yang telah ditentukan.

4.3.4. Penentuan dosis minyak atsiri kelima spesies.

Penentuan dosis minyak atsiri dari *Bromelia* sp., *Musa paradisiaca*, *Cocos nucifera*, *Pundanus* sp., dan *Bambusa* sp. dilakukan dengan cara memasukkan nyamuk betina ke dalam cup dengan menggunakan aspirator hisap. Pada masing-masing perlakuan berisi 10 ekor nyamuk betina *Ae. aegypti*, berdasarkan *WHO Guideline For Laboratory and Field Testing For Larvacide* (WHO, 2005). Pengukuran pada kelompok-kelompok sampel dilakukan dalam 5 jam pengujian menurut WHO (2005), sedangkan peneliti yang mengacu pada hasil pendahuluan daya proteksi awal membagi pencatatan waktu selama perlakuan yaitu selama 5 menit, dengan interval waktu jam ke-0, 1, 2, 3 (selama 1,5 jam). Pengukuran berakhir pada menit ke 90 dengan cara menghitung nyamuk yang menghisap. Kemudian dibuat konsentrasi yang tertinggi yaitu 10.000 ppm dan terendah 1000 ppm.

4.3.5. Menentukan nilai daya proteksi dan *Completed Protection Time (CPT)*

Minyak atsiri dari kelima spesies tanaman dan 1 kontrol negatif. Selama 5 menit pemaparan minyak atsiri terhadap nyamuk betina yang sudah dipuaskan sebelumnya. Setelah bahan dioleskan pada kulit tikus, yang sebelumnya telah dicuci dengan alkohol. Perhitungan dengan interval waktu uji, jam ke-0, 1, 2, dan 3 dan istirahat 25 menit (pengujian pertama), dan begitu seterusnya hingga jam ke-3. Konsentrasi minyak atsiri tertinggi diujikan pada kulit tikus pada *preliminary study*. kemudian diamati intensitas nyamuk menggigit pada kulit tikus yang ditandai dengan warna merah pada bagian kulit, dan dilakukan pencatatan data.

BAB 5. HASIL PENELITIAN DAN LUARAN YANG DICAPAI

5.1 Hasil Penelitian

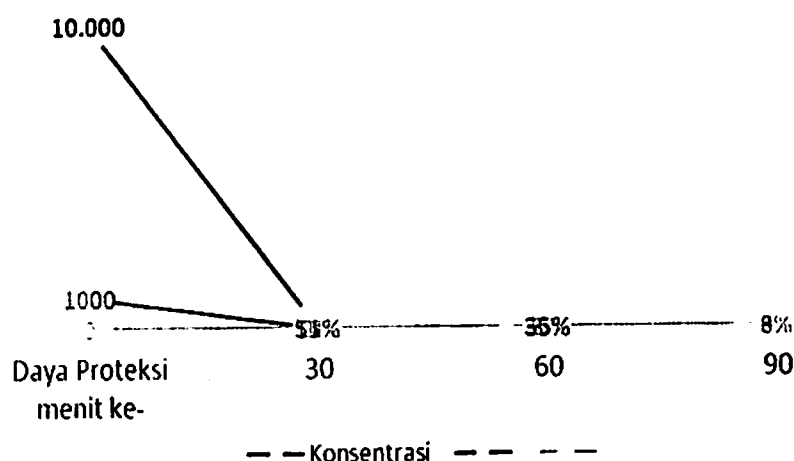
Telah dilakukan penelitian tentang uji *repellent* dari senyawa kimia yang terkandung dalam minyak atsiri beberapa tumbuhan phytotelmata yang digunakan sebagai *breeding site* *Ae. aegypti*, yaitu *Musa paradisiaca*, *Bromelia* sp., *Bambusa* sp., *Pandanus amaryllifolius*, dan *Cocos nucifera*. Uji aktivitas *repellent* dilakukan dengan memaparkan bahan uji dengan berbagai konsentrasi terhadap nyamuk *Ae. aegypti*. Evaluasi atas hasil uji yaitu waktu proteksi-mutlak (*complete-protection time*) dan *effective dose*. Data yang diperoleh berupa jumlah nyamuk yang hinggap dan nilai Daya Proteksi (DP) yang dapat menunjukkan besarnya aktivitas *repellent* (Tabel 1).

Tabel 1. Hasil pengamatan jumlah *Ae. Aegypti* yang hinggap dan DP (%) pada lima tumbuhan phytotelmata terhadap nyamuk *Ae. aegypti*

Tanaman	Menit	Konsentrasi		Waktu Proteksi-mutlak		Daya Proteksi (DP)	Kontrol	
		10.000 ppm	1000 ppm	10.000 ppm	1000 ppm	(K-R)/K*100%	Jumlah	Waktu
<i>Musa paradisiaca</i>	30'' (1)	3	18	1"40'	29'	83.33%	18	1'
	30'' (2)	9	18	1"01'	10'	50%	-	-
	30'' (3)	18	18	20'	10'	0%	-	-
<i>Bromelia</i> sp.	30'' (1)	18	18	25'	10'	0%	18	1'
	30'' (2)	-	-	-	-	-	-	-
	30'' (3)	-	-	-	-	-	-	0
<i>Bambusa</i> sp.	30'' (1)	4	17	40'	12'	76.47%	18	1'
	30'' (2)	6	17	22'	7'	64.71%	-	-
	30'' (3)	18	18	5'	2'	0%	-	-
<i>Pandanus amaryllifolius</i>	30'' (1)	12	16	16"	5"	25%	18	1'
	30'' (2)	17	20	8"	2"	15%	-	-
	30'' (3)	20	20	6"	2"	0%	-	-
<i>Cocos nucifera</i>	30'' (1)	11	18	5'	5'	38.89%	18	1'
	30'' (2)	17	20	1"20'	1"20'	15%	-	-
	30'' (3)	17	20	1"09'	1"09'	15%	-	-

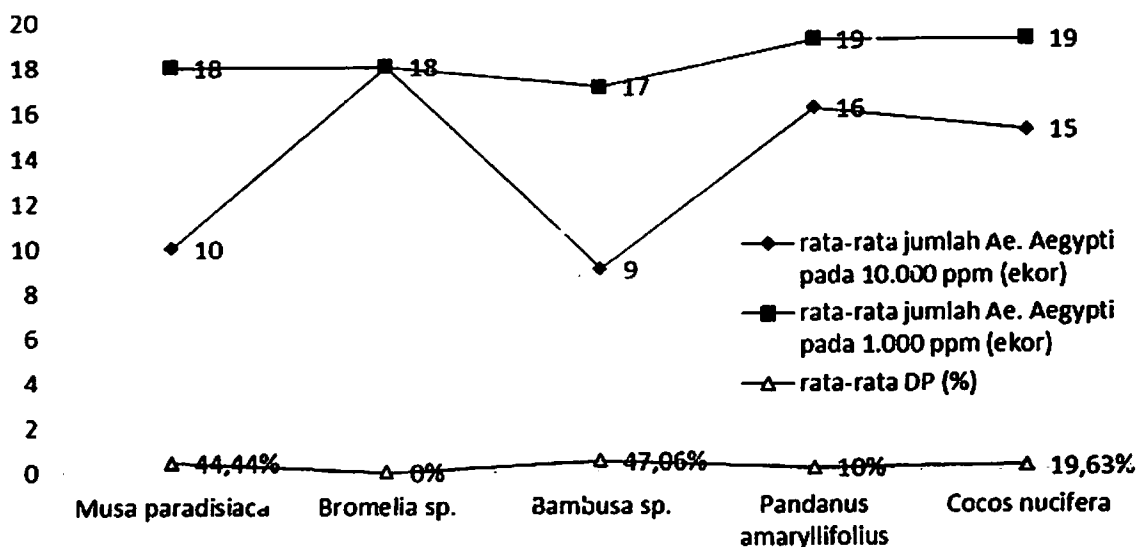
MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
PABAYA

GRAFIK DAYA PROTEKTIF



Gambar 1. Daya proteksi terhadap nyamuk *Ae. aegypti*

Berdasarkan grafik di atas, daya protektif berbanding lurus dengan konsentrasi ekstrak. Semakin lama waktu pengamatan, semakin berkurang daya proteksi ekstrak tanaman tersebut. Berdasarkan grafik, pada konsentrasi 1000 ppm, hanya bertahan pada menit ke-30 pengamatan. Daya proteksi konsentrasi 10.000 ppm lebih tinggi (51%) dibandingkan daya proteksi konsentrasi 1000 ppm (10%) pada menit ke-30. Pada menit ke-60 daya proteksi konsentrasi 10.000 ppm sebesar 35%, sedangkan konsentrasi 1000 ppm sebesar 3%. Sedangkan pada menit ke-90, konsentrasi 10.000 ppm hanya memberikan daya proteksi sebesar 3%, dan konsentrasi 1000 ppm sudah tidak memberikan daya proteksi (0%).



Gambar 2. Daya proteksi terhadap nyamuk *Ae. aegypti*

Hasil uji menunjukkan nilai rata-rata DP tertinggi adalah *Bambusa sp.*, dan diikuti *Musa paradisiaca*. Sedangkan nilai rata-rata DP yang paling rendah adalah *Bromelia sp.*, dan diikuti *Pandanus amaryllifolius* (Gambar 2). Rata-rata jumlah *Ae. aegypti* pada perlakuan 1.000 ppm lebih tinggi dibanding perlakuan 10.000 ppm. Pada perlakuan dengan menggunakan konsentrasi 10.000 ppm menunjukkan *Bromelia sp.* lebih tinggi dibandingkan dengan spesies yang lain. Sedangkan pada perlakuan dengan menggunakan konsentrasi 1000 ppm menunjukkan *Pandanus amaryllifolius* dan *Cocos nucifera* lebih tinggi dari spesies yang lain.

5.2 Pembahasan

Pada penelitian uji *attractant* senyawa minyak atsiri pada lima tumbuhan phytotelmata, yaitu *Bromelia sp.*, *Musa paradisiaca*, *Cocos nucifera*, *Pandanus amaryllifolius*, dan *Bambusa sp.* terhadap nyamuk *Ae. aegypti* sebelumnya telah dilaksanakan uji pendahuluan dan pada tahun pertama terbukti secara GC-MS kelima tumbuhan tersebut memiliki kandungan minyak atsiri. Selanjutnya tahun kedua ini dilanjutkan dengan uji isolasi minyak atsiri dengan pelarut n-heksana yang kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator* dan didapatkan minyak atsiri sebanyak 2 ml.

Secara empiris sejak dahulu masyarakat umum telah menggunakan tanaman-tanaman tersebut sebagai tanaman hias dan memasak. Pada penelitian tahun pertama, kelima tanaman memiliki kandungan minyak atsiri terbanyak yang diperoleh dengan cara maserasi menggunakan pelarut n-heksan. Pelarut merupakan faktor yang sangat mempengaruhi kualitas minyak, sebagian besar bergantung pada pelarut yang dipilih.

Pelarut yang sesuai untuk minyak atau lemak atau gliserida adalah senyawa hidrokarbon rantai lurus karena mempunyai temperatur didih rendah, n-heksan merupakan senyawa hidrokarbon yang segera dapat berkondensasi, mudah didapat, dan digunakan secara luas dengan temperatur didih 68.7°C. Pada penelitian ini digunakan tiga konsentrasi, yaitu kontrol negatif (air+pelarut minyak atsiri untuk uji *repellent*; *Ethanol absolute*), 10.000 ppm, dan 1000 ppm. Tujuannya untuk mengetahui efektifitas daya proteksi (DP) dan waktu proteksi – mutlak masing-masing tanaman terhadap nyamuk *Ae. aegypti*.

Dalam uji efektifitas sebagai *repellent* dilakukan pengujian ke dalam kandang yang berisikan 20 ekor nyamuk *Ae. aegypti* yang sudah dipuaskan satu hari sebelum melakukan pengujian. Pengujian dilakukan dengan ke lima minyak atsiri tanaman. Selama 30 menit pertama, ke dua, dan ke tiga dilakukan pengamatan terhadap daya proteksi (DP) dan waktu proteksi-mutlak masing-masing tanaman terhadap nyamuk. Berdasarkan data daya proteksi dan banyaknya jumlah *Ae. aegypti* yang diperoleh dari hasil pengujian terlihat bahwa minyak atsiri dari masing-masing spesies tumbuhan phytotelmata, yaitu *Musa paradisiaca*, *Bromelia* sp., *Bambusa* sp., *Pandanus amaryllifolius*, dan *Cocos nucifera* memiliki efek *repellent* terhadap nyamuk *Ae. aegypti*. Hal ini ditunjukkan dengan adanya nilai DP yang rendah. Nilai DP dikatakan menunjukkan efek *repellent* yang efektif jika nilai daya proteksinya di atas 90% (Komisi Pestisida Departemen Pertanian, 1995). Sehingga ke-5 spesies phytotelmata tersebut kurang efektif jika digunakan sebagai insektisida yang bersifat *repellent*. Di antara spesies tumbuhan yang bersifat *repellent* adalah daun serai wangi, daun cengkeh, daun tembakau, daun zodia, lavender, dll. (Boesri *et al.*, 2015)

Rata-rata nilai daya proteksi yang paling rendah adalah senyawa kimia dari *Bromelia* sp. (0%), hal ini menunjukkan bahwa *Ae. aegypti* lebih menyukai *Bromelia* sp. daripada spesies tumbuhan yang lain. Berbanding lurus dengan banyaknya jumlah nyamuk yang tertarik/ hinggap, minyak atsiri dari *Bromelia* sp. mampu menarik lebih banyak *Ae. aegypti* pada perlakuan 10.000 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa spesies *Bromelia* sp. memiliki sifat *attractant* lebih tinggi daripada spesies tumbuhan yang lain. Pada penelitian sebelumnya (tahun pertama) menunjukkan bahwa kandungan senyawa alkana yang paling tinggi adalah *Bromelia* sp. (*Neoregelia spectabilis*) dan diindikasikan senyawa dari golongan alkana inilah yang memiliki sifat *attractant*. *Pandanus amaryllifolius* juga memiliki nilai daya proteksi yang rendah setelah *Bromelia* sp., yaitu sebesar 10%, dengan rata-rata jumlah *Ae. aegypti* yang hinggap

sebanyak 19 ekor pada 10.000 ppm dan 16 ekor pada 1.000 ppm. Dilihat dari besarnya nilai daya proteksi dan jumlah *Ae. aegypti* yang hinggap, maka spesies tumbuhan yang paling menarik *Ae. aegypti* adalah *Bromelia* sp., diikuti *Pandanus amaryllifolius*, *Cocos nucifera*, *Musa paradisiaca*, dan *Bambusa* sp. Kelima spesies tersebut dapat dikatakan tumbuhan yang memiliki sifat *attractant* sebab memiliki nilai daya proteksi yang rendah (<90%), dan kurang efektif jika digunakan sebagai insektisida yang bersifat *repellent*.

Sampai saat ini belum ada bahan alami yang dianggap sebagai *attractant* terhadap *Ae. aegypti*. Zat yang mampu dianggap efektif sebagai pengendalian vektor hanya sebatas insektisida kimia yang dijual di pasaran seperti organophosphat, organochlorin, carbamat, dan pyrethroid (Kemenkes RI., 2010). Sedangkan zat yang dianggap efektif sebagai *repellent* pada saat ini adalah DEET yang mampu bertahan hingga 8 jam pada konsentrasi 30%. Namun konsentrasi 30% DEET merupakan konsentrasi maksimum yang diperkenankan digunakan pada kulit manusia (Fradin, 2005). Saat ini penggunaan senyawa *attractant* dari tumbuhan belum secara optimal digunakan di Indonesia, padahal telah terbukti bahwa ada beberapa spesies tumbuhan yang mampu menarik *Ae. aegypti*. Diharapkan dengan pemurnian senyawa (khususnya senyawa *attractant*) dari minyak atsiri tumbuhan dapat diisolasi lebih lanjut, sehingga upaya penyediaan feromon atau senyawa perangkap sebagai upaya pengendalian vektor *Ae. aegypti* dapat dilakukan secara efektif, mudah, dan aman bagi lingkungan. Efek *attractant* minyak atsiri dari beberapa tumbuhan uji khususnya *Bromelia* sp. merupakan salah satu temuan sehingga dimungkinkan suatu saat minyak atsiri tersebut dapat dipasarkan sebagai suatu produk yang *attractant* terhadap nyamuk *Ae. aegypti*. Sedangkan tumbuhan phytotelmata yang lain seperti *Pandanus amaryllifolius* dapat dipasarkan sebagai produk yang multifungsi sebagai penguat/ penambah aroma masakan dan juga sebagai *attractant* bagi *Ae. aegypti*.

Selanjutnya data yang diperoleh dari pengamatan dilanjutkan dengan pengolahan data menggunakan uji analisis varian (ANOVA) dua arah menggunakan program SPSS. Terlebih dahulu dilakukan uji normalitas dengan *Kolmogorov-Smirnov*, dan uji homogenitas dengan *Levene*. Pada uji efektifitas terhadap kelima tumbuhan, hasil analisis variansi dua arah menunjukkan bahwa pada perlakuan menit 30 pertama dan ke dua dengan konsentrasi 10.000 ppm menunjukkan tidak adanya perbedaan secara bermakna untuk ke lima tanaman ($p \geq 0,05$). Pada masing-masing tanaman hampir sama antara satu tanaman dengan tanaman lainnya, selain itu perlu adanya

penambahan emulsi pada minyak atsiri agar daya proteksi lebih menjadi lama, misalnya dengan gliserol atau pengemulsi lain yang dapat membentuk lotion yang aman bagi kulit, tidak iritasi, dan ramah lingkungan.

5.3 Luaran yang Dicapai

No.	JUDUL PAPER	JURNAL YANG DITUJU	QUARTIL	STATUS
1	Identification of Volatile Compound from Phytohelmata as Breeding Site <i>Aedes aegypti</i> and <i>Aedes albopictus</i>	Biochemical Systematics and Ecology	Q3	Submission
2	The Corelation Between Density of <i>Aedes aegypti</i> and <i>Aedes albopictus</i> with Altitude in Pasuruan	International Conference on Science and Technology for Environmental Protection	-	Done
3	Biologi dan Ekologi Vektor DBD	-	-	draft

BAB 6. KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

1. Dilihat dari besarnya nilai daya proteksi dan jumlah *Ae. aegypti* yang hinggap, maka spesies tumbuhan yang paling menarik *Ae. aegypti* adalah *Bromelia* sp., diikuti *Pandanus amaryllifolius*, *Cocos nucifera*, *Musa paradisiaca*, dan *Bambusa* sp. Kelima spesies tersebut dapat dikatakan tumbuhan yang memiliki sifat *attractant* sebab memiliki nilai daya proteksi yang rendah (<90%), dan kurang efektif jika digunakan sebagai insektisida yang bersifat *repellent*.
2. Daya proteksi dan waktu proteksi-mutlak masing-masing tanaman dengan konsentrasi 10.000 ppm hingga waktu 30 menit pertama dan kedua secara berurutan dari yang paling rendah, yaitu *Bromelia* sp., *Pandanus amaryllifolius*, *Cocos nucifera*, *Bambusa* sp., dan *Musa paradisiaca*.

6.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai tambahan pengemulsi pada minyak atsiri sehingga dapat diaplikasikan dalam bentuk sediaan.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui toksisitas minyak atsiri untuk penggunaan jangka panjang pada manusia.

MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
JIPARAYA



DAFTAR PUSTAKA

- Abramson, C.I., Wanderley, P.A., Wanderley, M.J.A., Mina, A.J.S., & Souza, O.B., 2006. Effect of essential oil from citronella and alfazema on fennel aphids *Hyadaphis foenicula* P. (Hemiptera: Aphididae) and its predator *Cycloneúa sanguinea* L. (Coleoptera: Coccinellidae). *American Journal of Environmental Sciences*. 3 (1):9-10
- American Academy of Paediatric, 2003, *The Insect Repellent DEET*, <http://www.epa.gov/pesticides/factsheets/chemical/deet.htm>, diakses 8 Oktober 2018.
- Arivoli, S., & Tennyson, S., 2013. Antifeedant activity, developmental indices and morphogenetic variations of plant extracts against *Spodoptera litura* (Fab) (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Entomology and Zoology Studies*. 1(4): 87-96
- Breeden, D.C., Young, T.E., Coates, R.M., & Juvik, J.A., 1996. Identification and bioassay of kairomones for *Helicoverpa zea*. *Journal of Chemical Ecology*. 22 (3): 513-539
- Bruce, T.J. & Cork, A., 2001. Electrophysiological and behavioral responses of female *Helicoverpa armigera* to compounds identified in flowers of African marigold *Tagetes erecta*. *Journal of Chemical Ecology*. 27(6): 1119-1131
- Cheng, S.S., Liu, J.Y., Tsai, K.H., Chen, W.J. & Chang, S.T., 2004. Chemical composition and mosquito larvicidal activity of essential oils from leaves of different *Cinnomomum osmophloeum* provenances. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52(14): 4395-400
- Chu, S.S., Jiang, G.H. & Liu, Z.L., 2011. Insecticidal components from the essential oils of Chinese medicinal herb, *Lingusticum chuanxiong* Hort. *Jornal of Chemistry*. 8(1): 300-304
- Colazza, S., McElfresh, J. S., & Millar, J. G., 2004. Identification of volatil synomones, induced by *Nezara viridula* feeding and oviposition on bean spp., that attract the egg parasitoid *Trissolcus basalidis*. *Journal of Chemical Ecology*. 30 (5): 945-964
- Corrado, G., Alagna, F., Rocco, M., Renzone, G., Varricchio, P., Coppola, V., Coppola, M., Garonna, A., Baldoni, L., Scaloni, A., Rao, R., 2012. Molecular interactions between the olive and the fruit fly *Bactrocera oleae*. *BMC Plant Biology*. 12 (86): 1-17
- Cotti, E., Zadra, C., Salerno, G., Leombruni, B., Volpe, D., & Frati, F., 2008. Changes in the volatil profile of *Brassica oleracea* due to feeding and oviposition by *Murgantia histrionica* (Heteroptera: Pentatomidae). *European Journal of Entomology*. 105: 839-847
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1979, *Farmakope Indonesia*, edisi III, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, 11, 33.
- Dicke, M., Sabelis, M.W., Takabayashi, J., Bruin, J., & Posthumus, M. A., 1990. Plant strategies of manipulating predator-prey interactions through allelochemicals-prospects for application in pest-control. *Journal of Chemical Ecology*. 16(11): 3091-3118

- Eapen, A., Ravindran, K.J., & Dash, A.P., 2010. Breeding potential of *Aedes albopictus* (Skuse, 1985) in chikungunya affected areas of Kerala, India. *Indian Journal of Medical Research*. 132: 733-735
- Greeney, H.F., 2001. The Insects of Plant-Held Waters: A Review and Bibliography, Department of Entomology. *Journal of Tropical Ecology*. 17: 241 -260
- Gubler, J. D., & Clark, G.G., 1996. Community involvement in the control of *Aedes aegypti*. *Acta tropica*. 61: 169-179
- Hartlieb, E. & Rembold, H., 1996. Behavioral response of female *Helicoverpa (Heliothis) armigera* Hb. (Lepidoptera: Noctuidae) moths to synthetic pigeonpea (*Cajanus cajan* L.) kairomone. *Journal of Chemical Ecology*. 22 (4): 821-837
- Hasyim, A., Muryati, Istianto, M. & de Kogel, W.J., 2007. Male fruit fly, *Bactrocera* (Diptera; Tephritidae) attractants from *Elsholtzia pubescens* Bth. *Asian Journal of Plant Sciences*. 6: 181
- Hemshkhar M, Santhosh MS, Kemparaju K, Girish KS. 2011. Emerging Roles of Anacardic Acid and Its Derivatives: A Pharmacological Overview. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology* 110: 122-132.
- Huang, Y., Lam, S.L. & Ho, S.H., 2000. Bioactivities of essential oil from *Elletaria cardamomum* (L.) Maton to *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium castaneum* (Herbst). *Journal of Stored Products Research*. 36: 107-117
- Imperato, A., Corrado, G., Alagna, F., Varricchio, P., Baldoni, L., Rao, R., 2012. Olive molecular response to attack of *Bactrocera oleae*: identification of up-regulated genes in infested olive fruits. *Acta Horticulture*. 929: 125-128
- Jallow, M.F.A., Zalucki, M.P. & Fitt, G.P., 1999. The role of chemical cues in mediating host selection and oviposition behaviour by *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). *Australian Journal of Entomology*. 38: 359-366
- Kardinan, A., Bintoro, H. M., Syakir, M., & Amin, A.A., 2009. Penggunaan Selasih dalam Pengendalian Hama Lalat Buah pada Mangga. *Jurnal Penelitian Tanaman Industri*. 15: 101-109
- Kemenkes RI (Kementrian Kesehatan Republik Indonesia). 2010. Demam Berdarah Dengue di Indonesia Tahun 1968-2009. *Buletin Jendela Epidemiologi*, 2: 1-13.
- Kombargi, W.S., Michelakis, S.E., Petrakis, C.A., 1998. Effect of olive surface waxes on oviposition by *Bactrocera oleae* (Diptera: Tephritidae). *Journal of Economic Entomology*. 91(4): 993-998
- Kosasih H, de Mast Q, Widjaja S, Sudjana P, Antonjaya U, Ma'roef C, Riswari SF, Porter KR, Burgess TH, Alisjahbana B, van der Ren A, Williams M. 2013. Evidence for Endemic Chikungunya Virus Infections in Bandung, Indonesia. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 7(10): e2483.
- Lounibos, L., Braks, M., Honorio, N., Oliveira, R., & Juliano, S., 2003. Convergent habitat segregation of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in Southeastern Brazil and Florida. *Journal of Medical Entomology*. 40(6): 785-794

- Meiners, T., & Hilker, M., 2000. Induction of plant synomones by oviposition of a phytophagous insect. *Journal of Chemical Ecology*. 26(1): 221–232
- Murugan K, Murugan P, Noortheen A. 2007. Larvicidal and Repellent Potential of *Albizzia amara* Biovin and *Ocimum Basilicum* Linn against Dengue Vector *Aedes aegypti*. *Biores Technol* 98: 198-201.
- Neuenschwander, P., Michelakis, S., Holloway, P., & Berchtold, W., 1985. Faktors affecting the susceptibility of fruits of different olive varieties to attack of *Dacus oleae* (Gmel.) (Dipt., Tephritidae). *Journal of Applied Entomology*. 100: 174–188
- Nguyen TNQ, Le VA, Hua QC, Nguyen TT. 2014. Enhancing Insecticide Activity of Anacardic Acid by Intercalating It into MgAl Layered Double Hydroxydes Nanoparticles. *J. Viet. Env.* 6(3): 2018-211.
- Prabawati, A., 2010, *Panduan Aplikatif dan Solusi Mengolah Data Statistik Hasil Penelitian dengan SPSS 17*, Wahana Computer, Semarang, 203-213.
- Rizzo, R., Caleca, V., & Lombardo, A. 2012. Relation of fruit color, elongation, hardness, and volume to the infestation of olive cultivars by the olive fruit fly, *Bactrocera oleae*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 145: 15–22
- Rosa, E., Salmah. S., Dahelmi, & Syamsuardi, 2012. Jenis dan tipe phytotelmata sebagai tempat perindukan alami nyamuk di beberapa lokasi di Sumatera Barat. (*Prosiding SNSMAIP III 2012*): 149-153
- Shaver, T.N., Lingren, D.P., & Marshall, H. F., 1997. Nighttime Variation in Volatile Content of Flowers of the Night Blooming Plant. *Journal of Chemical Ecology*. 23(12): 2673-2682
- Silva WJ, Doria GAA, Maia RT, Nunes RS, Carvalho GA, Blank AF, Alves PB, Marcal RM, Cavalcanti SCH. 2008. Effects of Essential Oil s on *Aedes aegypti* Larvae: Alternatives to Environmentally Save Insecticides. *Biores Technol* 99:3251-3255.
- Siwi, S.S., & Hidayat, P., 2006. *Taksonomi dan biologi lalat buah penting Bactrocera spp. (Diptera: Tephritidae) di Indonesia*. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian. Bogor
- Spadafora, A., Mazzuca, S., Chiappetta, F.F., Parise, A., Innocenti, A.M., 2008. Oleuropein-specific- β -glucosidase activity marks the early response of olive fruits (*Olea europaea*) to mimed insect attack. *Agricultural Sciences in China*. 7(6): 703–712
- Syafruddin D, Hidayati APN, Asih PBS, Hawley WA, Sukowati S, Lobo NF. 2010. Detection of 1014F kdr Mutation in Four Major Anopheline Malaria Vectors in Indonesia. *Malaria Journal*, 9: 315
- Sukowati S. 2010. Masalah Vektor Demam Berdarah Dengue (DBD) dan Pengendaliannya di Indonesia. *Buletin Jendela Epidemiologi*. 2: 26-30.
- Tariq, R.M., Naqvi, S.N.H., Choudhary. M.I. & Abbas. A.. 2010. Importance and implementation of essential oil of Pakistanian *Acorus calamus* Linn. as a biopesticide. *Jouenal of Botany*. 42(3): 2043

- WHO (World Health Organization). 2016. Zika Strategic Response Framework & Joint Operations Plan.
- WHO (World Health Organization). 2005. Guidelines for Laboratory and Field Testing of Mosquito Larvicides.
- Zhu, Y., Keaster, A.J., & Gerhard, K. O., 1993. Field observations on attractiveness of selected blooming plants to noctuid moths and electroantennogram responses of black cutworm (Lepidoptera: Nociuidae) moths to flower volatiles. *Physiology and Chemical Ecology*. 22(1): 162–166