

DISERTASI

**UJI POTENSI, TOKSISITAS OBAT NYAMUK
BAKAR HERBAL MORIZENA TERHADAP
NYAMUK *Aedes aegypti* (L.) DAN PERUBAHAN
HISTOPATOLOGIS SALURAN PERNAFASAN
MENCIT JANTAN (*Mus musculus*)**



**RINA PRIASTINI SUSILOWATI
NIM 081317027306**

**PROGRAM STUDI S3 MIPA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
2016**

DAFTAR ISI

| | | Halaman |
|---------|--|---------|
| Halaman | JUDUL | i |
| Halaman | PENGESAHAN | ii |
| Halaman | DAFTAR ISI | iii |
| Halaman | PRAKATA | vi |
| Halaman | UCAPAN TERIMA KASIH | viii |
| Halaman | DAFTAR GAMBAR | x |
| Halaman | DAFTAR TABEL | xiv |
| Halaman | DAFTAR LAMPIRAN | xvi |
| Halaman | DAFTAR SINGKATAN | xix |
| Halaman | INTISARI | xxx |
| Halaman | ABSTRACT | xxii |
| BAB | I PENGANTAR | 1 |
| | 1.1. Latar Belakang | 1 |
| | 1.2. Rumusan Masalah | 9 |
| | 1.3. Tujuan Penelitian | 10 |
| | 1.3.1. Tujuan umum | 10 |
| | 1.3.2. Tujuan khusus | 10 |
| | 1.4. Manfaat Penelitian | 11 |
| | 1.5. Kebaruan Penelitian | 11 |
| BAB | II TINJAUAN PUSTAKA | 12 |
| | 2.1. Obat Nyamuk | 12 |
| | 2.1.1. Obat nyamuk bakar | 14 |
| | 2.1.2. Obat nyamuk hayati (bioinsektisida) | 15 |
| | 2.2. Komposisi Obat Nyamuk Bakar Herbal MORIZENA | 19 |
| | 2.2.1. Permot (<i>Passiflora foetida</i>) | 19 |
| | 2.2.2. Krisan (<i>Chrysantemum Cinarerieae-folium</i>) | 21 |
| | 2.2.3. Sereh wangi (<i>Cymbopogon nardus</i>) | 26 |
| | 2.3. Nyamuk <i>A. aegypti</i> | 30 |
| | 2.3.1. Klasifikasi <i>A. aegypti</i> | 31 |
| | 2.3.2. Morfologi <i>A. aegypti</i> | 31 |
| | 2.3.3. Siklus hidup <i>A. aegypti</i> | 32 |
| | 2.3.4. Perilaku <i>A. aegypti</i> | 35 |
| | 2.3.5. Habitat <i>A. aegypti</i> | 37 |
| | 2.3.6. Vektor penyakit demam berdarah dengue | 38 |
| | 2.3.7. Penyakit yang ditularkan <i>A. aegypti</i> | 39 |
| | 2.4. Cara Kerja Insektisida pada Nyamuk | 40 |
| | 2.5. Uji Toksisitas | 40 |
| | 2.5.1. Uji toksisitas akut | 41 |
| | 2.5.2. Uji toksisitas subkronis | 42 |
| | 2.6. Histologi Saluran Pernafasan Mencit | 43 |
| | 2.6.1. Trakea | 43 |
| | 2.6.2. Paru-paru (Pulmo) | 44 |
| | 2.7. Histopatologis Saluran Pernafasan Mencit | 49 |

| | | | |
|-----|----------|---|----|
| BAB | III | HIPOTESIS DAN KONSEP ILMIAH | 53 |
| | 3.1. | Kerangka Konseptual | 53 |
| | 3.2. | Kerangka Operasional | 54 |
| | 3.3. | Hipotesis Penelitian | 55 |
| BAB | IV | METODE PENELITIAN | 56 |
| | 4.1. | Jenis Penelitian | 56 |
| | 4.2. | Lokasi dan Waktu Penelitian | 56 |
| | 4.3. | Bahan dan Alat Penelitian | 56 |
| | 4.3.1. | Bahan penelitian | 56 |
| | 4.3.2. | Alat penelitian | 57 |
| | 4.4. | Variabel Penelitian | 58 |
| | 4.4.1. | Variabel bebas | 58 |
| | 4.4.2. | Variabel tergantung | 58 |
| | 4.5. | Rancangan Penelitian | 58 |
| | 4.6. | Tahapan Penelitian | 59 |
| | 4.6.1. | Penyiapan bahan obat nyamuk bakar herbal MORIZENA | 59 |
| | 4.6.2. | Pembuatan obat nyamuk bakar herbal MORIZENA | 60 |
| | 4.6.3. | Aklisasi hewan coba | 60 |
| | 4.6.4. | Kolonisasi <i>A. aegypti</i> | 60 |
| | 4.6.5. | Perlakuan hewan coba | 61 |
| | 4.6.6. | Pengambilan organ dan pembuatan preparat mencit jantan | 62 |
| | 4.7. | Prosedur Uji | 62 |
| | 4.7.1. | Pengukuran Kadar CO | 62 |
| | 4.7.2. | Penentuan LC ₅₀ dan LC ₉₀ <i>A. aegypti</i> | 63 |
| | 4.7.3. | Uji aktivitas asetilkolinesterase (AChE) | 63 |
| | 4.8. | Pengumpulan Data | 64 |
| | 4.8.1. | Data kadar CO obat nyamuk bakar herbal MORIZENA .. | 64 |
| | 4.8.2. | Data kematian <i>Ae. aegypti</i> | 65 |
| | 4.8.3. | Data berat badan mencit | 66 |
| | 4.8.4. | Data berat paru-paru mencit | 66 |
| | 4.8.5. | Data perubahan histopatologis trakea mencit | 66 |
| | 4.8.6. | Data perubahan histopatologis paru-paru mencit | 67 |
| | 4.9. | Analisis Data | 68 |
| BAB | V | HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN | 70 |
| | 5.1. | Pengukuran Faktor Lingkungan di Laboratorium | 70 |
| | 5.2. | Pengukuran Kadar CO Dalam Obat Nyamuk Bakar | 71 |
| | 5.3. | Hasil Pengamatan Pada <i>A. aegypti</i> | 72 |
| | 5.3.1. | Uji mortalitas KdT ₅₀ <i>A. aegypti</i> | 72 |
| | 5.3.2. | Uji toksisitas LC ₅₀ dan LC ₉₀ pada <i>A. aegypti</i> | 75 |
| | 5.3.3. | Aktivitas enzim asetilkolinesterase <i>A. aegypti</i> | 77 |
| | 5.4. | Hasil Pengamatan Pada Mencit (<i>Mus musculus</i>) | 83 |
| | 5.4.1. | Berat badan mencit | 83 |
| | 5.4.2. | Trakea mencit | 84 |
| | 5.4.2.1. | Struktur sel epitel berlapis semu silindris bersilia | 84 |
| | 5.4.2.2. | Jumlah sel goblet | 86 |
| | 5.4.2.3. | Tinggi lapisan epitel trakea | 88 |
| | 5.4.2.4. | Diameter trakea | 95 |

| | Halaman |
|---|------------|
| 5.4.3. Berat paru-paru mencit | 102 |
| 5.4.4. Perubahan histopatologis paru-paru mencit | 103 |
| 5.4.4.1. Histopatologis alveolus paru-paru mencit | 103 |
| 5.4.4.2. Diameter alveolus paru-paru mencit | 112 |
| BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN | 118 |
| 6.1. Kesimpulan | 118 |
| 6.2. Saran | 119 |
| DAFTAR PUSTAKA | 120 |
| BIODATA | 181 |

PRAKATA

Penyakit Demam Berdarah Dengue (DBD) adalah penyakit menular yang disebabkan oleh virus dengue dan ditularkan melalui gigitan nyamuk *A. aegypti* sebagai vektor utama. Tercatat di Kementerian Kesehatan RI pada tahun 2012 jumlah penderita DBD yang meninggal hingga mencapai 596 orang di seluruh wilayah Indonesia. Sebagai salah satu upaya memutus mata rantai penyebaran *A. aegypti* tersebut adalah dengan cara pengendalian vektor dengan menggunakan insektisida. Selama ini pengendalian nyamuk sebagai vektor penyakit umumnya dilakukan dengan menggunakan insektisida sintetik. Hal ini dikarenakan insektisida sintetik dianggap efektif, praktis, manjur dan dari segi ekonomi lebih menguntungkan. Namun, penggunaan insektisida sintetik secara terus menerus akan menimbulkan pencemaran lingkungan, kematian berbagai macam makhluk hidup lain dan menyebabkan serangga menjadi resisten, bahkan dapat menyebabkan mutasi gen pada spesies ini. Melihat kerugian berupa efek samping yang ditimbulkan oleh insektisida sintetik tersebut, maka dibutuhkan suatu usaha untuk mendapatkan bahan alternatif yang lebih ramah lingkungan tetapi juga efektif dalam mengendalikan populasi nyamuk. Penggunaan insektisida botani sebagai pengganti insektisida sintetik nantinya diharapkan dapat mengurangi masalah pencemaran lingkungan. Hal ini disebabkan penggunaan insektisida botani tidak menimbulkan pencemaran lingkungan karena insektisida botani mengandung bahan yang mudah dan cepat terdegradasi di alam serta tidak menimbulkan residu berbahaya bagi lingkungan, baik hewan maupun manusia. Bertitik tolak dari permasalahan tersebut dan mempertimbangkan peranan obat nyamuk bakar herbal MORIZENA yang merupakan campuran dari ekstrak daun permot, ekstrak biji bunga krisan dan minyak atsiri daun-batang sereh sebagai salah satu alternatif media yang aman dan dapat digunakan untuk menurunkan kasus demam berdarah dengan menurunkan populasi vektornya yaitu *A. aegypti*. Penggunaan tanaman krisan (*Chrysanthemum cinerariaefolium*) maupun sereh (*Cymbopogon nardus*) sebagai pengusir dan pembunuh nyamuk *A. aegypti* telah banyak diteliti dan digunakan secara komersial, namun penelitian terhadap manfaat tanaman permot (*Passiflora foetida*) sebagai bioinsektisida masih sangat sedikit bahkan belum dikembangkan untuk digunakan secara komersial.

Dengan selesainya naskah disertasi ini dengan segala kerendahan hati kami mengucapkan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada Pemerintah Republik Indonesia melalui Menteri Pendidikan dan Kebudayaan Cq Direktur Jendral Pendidikan Tinggi RI yang telah memberikan Beasiswa Program Pascasarjana (BPPDN).

Penulis juga mengucapkan terima kasih Prof. Win Darmanto, MSi., PhD selaku Pembimbing Akademik sekaligus promotor, dan Ko-promotor Dr. Nanik Siti Aminah, MSi yang telah banyak memberikan masukan berharga selama persiapan dan pelaksanaan penelitian, publikasi dengan penulisan jurnal internasional dan penyelesaian penulisan naskah disertasi.

Dr. Alfinda Novi Kristanti, DEA selaku Koordinator Program Studi S3 MIPA Universitas Airlangga yang juga telah banyak memberikan masukan untuk penyempurnaan disertasi ini.

Rektor Universitas Airlangga Surabaya Prof. Dr. Moh. Nasih, SE., MT., Ak., CMA., Direktur Sekolah Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya Prof. Dr. Hj. Sri Iswati, SE., MSi., Ak., Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Prof. Win Darmanto, MSi., PhD., para penguji disertasi serta Kordinator Kopertis Wilayah III DKI Jakarta.

Surabaya, 21 Juli 2016

Rina Priastini Susilowati

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji dan sujud syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa atas segala berkah dan karuniaNya sehingga disertasi ini dapat terselesaikan. Penelitian yang berjudul “Uji Potensi dan Toksisitas Obat Nyamuk Bakar Herbal MORIZENA Terhadap Nyamuk *Aedes aegypti* Serta Histopatologis Saluran Pernafasan Mencit (*Mus musculus*)” telah dilaksanakan dari bulan Januari 2014 sampai dengan Agustus 2015. Penelitian ini didanai dari BPPDN tahun 2013-2016 dan bantuan Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Krida Wacana.

Penulis mengucapkan terima kasih dan penghargaan yang tinggi kepada Prof. Win Darmanto, MSi., PhD sebagai Promotor yang telah membantu dan mengarahkan dalam penelitian dan penulisan disertasi. Suatu kebanggaan dan kehormatan bagi penulis dapat berdiskusi dalam mengungkapkan teknik pemeriksaan pada nyamuk *Aedes aegypti* dan hewan coba bukan sasaran yaitu mencit jantan (*Mus musculus*) akibat paparan asap obat nyamuk bakar herbal MORIZENA, bahkan mengusulkan penamaan yang khusus terhadap penemuan obat nyamuk bakar herbal yang digunakan dalam penelitian ini. Terima kasih penulis sampaikan atas dukungan dan arahan beliau kepada penulis dalam mengambil mata kuliah, serta melatih kemandirian penulis dalam mengungkapkan setiap tahapan penelitian.

Ucapan terima kasih dan penghargaan yang tinggi disampaikan kepada Dr. Nanik Siti Aminah, MSi sebagai Kopromotor, atas segala bimbingan dan dorongan semangat sejak penulis melakukan penelitian. Suatu kebanggaan dan kehormatan bagi penulis dapat berdiskusi dalam mengungkapkan analisa fitokimia ekstrak tanaman yang digunakan sebagai bahan baku obat nyamuk bakar herbal MORIZENA. Terima kasih pula atas segala sarana yang diberikan kepada penulis untuk mengikuti praktikum fitokimia di laboratorium kimia, Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga Surabaya.

Ucapan terima kasih dan penghargaan yang tinggi kepada Prof. Win Darmanto, MSi., PhD dan Dr. Nanik Siti Aminah, Msi yang memberi arahan dalam pembuatan journal internasional.

Ucapan terima kasih dan penghargaan yang tinggi kepada Dr. Dwi Winarni, MS yang memberi arahan dalam melakukan teknik pembuatan preparat hingga interpretasi analisa hasil histopatologis pada saluran pernafasan mencit jantan, dan senantiasa mengingatkan dan memberikan semangat kepada penulis untuk menyelesaikan program doktoral ini.

Penulis juga mengucapkan terima kasih pula kepada (1) Pemerintah Indonesia yang telah memberikan beasiswa BPPDN, (2) Rektor Universitas Kristen Krida Wacana Jakarta yang telah memberikan bantuan dana penelitian, (3) Pimpinan Fakultas Prof. Dr. dr. Mardi

Santoso, SpPD., DTMH-KEMD, FINASIM, FACE selaku Dekan dan dr. Elly Ingkiriwang, SpKJ selaku Manager SDM dan Keuangan, serta rekan-rekan staf pengajar di Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Krida Wacana Jakarta.

Ucapan terima kasih yang tak terhingga juga penulis ucapkan kepada prof. Dr. Ni Nyoman Tri Puspaningsih, Dra., MSi., yang telah banyak membantu dalam proses penerimaan beasiswa BPPDN gelombang kedua.

Ucapan terima kasih yang mendalam kepada para penguji sidang proposal, sidang kelayakan hingga sidang tertutup Prof. Sri Subekti, Dr. Sri Rahayu dari Universitas Brawijaya Malang, Dr. Alfiah, MS., Dr. Dwi Winarni, MS., Dr. Alfinda Novi Kristanti, DEA yang merupakan saudara dekat yang baru ketemu justru di saat beliau menguji sidang tertutup (setelah lebih dari 30 tahun kehilangan, tanpa kontak). Ternyata di saat-saat sulit menyelesaikan program doctoral ini, Tuhan tidak pernah meninggalkan genggam tangan dan penyertaannya, serta memberikan berkah yang luar biasa bagi penulis.

Tidak ada kata-kata yang dapat diberikan kepada Prof. Dr. Jokowi Sastradipradja, MSc., lebih dari ucapan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya. Beliau yang selalu mengingatkan untuk melanjutkan studi Doktor, dan mengatakan hidup harus terus bermimpi dan waktu yang akan menuntun pada terwujudnya mimpi tersebut, dengan tidak berhenti bekerja keras dan berharap untuk yang terbaik di masa depan.

Kepada sejawat dosen dari Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Krida Wacana Prof. dr. Indriani K Sumadikarya, MS yang sudah merelakan waktunya untuk hadir di sidang terbuka penulis sebagai penyanggah, serta dr. Lily Kartika Surya, MS., SpPark yang tidak dapat hadir karena sakit. Memberikan masukan, dukungan dan semangat yang luar biasa, mulai dari penulis memulai studi lanjut hingga selesai.

Ucapan terima kasih disampaikan pula kepada teman-teman satu angkatan 2013 Ibu Lilik Setyowati, Ibu Rinur, Ibu Yayuk, Ibu Is Yuniar dan Ibu Monica yang selalu memberikan semangat dan hadir di saat-saat melakukan sidang proposal, seminar hasil dan bahkan di sidang terakhir. Semoga persahabatan ini tetap berlanjut meskipun perkuliahan telah usai.

Rasa terima kasih yang tak terhingga disampaikan kepada Bapak/Ibu kandung Priyo Rahardjo dan Rini Agrariana Susilowati, kakak kandung/kakak ipar Prijulianto Rineksoadi dan Ria Amperia, keponakan Miranti, adik kandung Esther Yulia Triwardani yang senantiasa mendoakan dan memberi dorongan semangat. Tak lupa penghargaan yang setinggi-tingginya penulis berikan kepada almarhum eyang putri Sri Soekapti dan almarhum eyang kakung Asmanoe Timbang yang senantiasa berharap penulis bisa sekolah terus hingga tingkat tertinggi dan itulah kebanggaan yang beliau rasakan selama hidupnya.

Ucapan terima kasih yang tak terhingga atas budi baik dan ketulusan seorang sahabat di saat-saat sulit dan tergeletak sakit karena GERD selama hampir dua tahun, Tatik Suwarningsih dan keluarga yang tak pernah berhenti mendoakan dan memberi semangat untuk terus maju dan berjuang menyelesaikan pendidikan Doktoral ini.

Ucapan terima kasih yang mendalam disampaikan kepada anak tercinta Haryo Priambodo Adinegoro yang sudah merelakan waktu dan perhatian untuk mamanya studi di tempat yang jauh dari Jakarta, sering ditinggal-tinggal dan harus belajar mandiri, yang senantiasa mendoakan, terus memberi dorongan semangat, pengertian yang luar biasa dan selalu berkata “wow mama hebat”. Tidak hanya gelar ini yang mama dapat berikan, namun juga semangat untuk tidak mudah menyerah dan kasih sayang yang mendalam kepada Haryo sebagai jalan awal untuk kelancaran masa depan Haryo di kemudian hari.

Semoga Tuhan Yang Maha Esa dan Pengasih yang membalas semua kebaikan yang telah diberikan kepada penulis selama menempuh pendidikan, baik dalam bentuk doa, dukungan, semangat, pertemanan yang begitu tulus penulis rasakan. Kiranya hasil penelitian ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu dan masyarakat luas.

*Hidup adalah nafas yang diberikan hingga batas yang ta tentu ini,
Iringi nafas dengan belajar, bekerja dan berbakti,
Belajarlaha ta henti hingga tercapai cita yang diingini,
Bekerjalaha ta mengenal lelah hingga hasil menanti,
Berbaktilah pada orang tua yang telah membesarkan diri,
Maka ilmu yang telah ditimba dapat diberikan pada negeri,
Memberikan manfaat bagi orang banyak, tak lagi untuk diri sendiri....
(Surabaya, 21 Juli 2016 – Rina Priastini Susilowati)*

DAFTAR GAMBAR

| | Halaman |
|---|---------|
| Gambar 2.1. Tanaman permot (<i>Passiflora foetida</i>) | 20 |
| Gambar 2.2. Struktur molekul komposisi kimia ekstrak daun permot | 20 |
| Gambar 2.3. Jenis-jenis bunga krisan (a) <i>Chrysanthemum cinariaefolium</i> , (b) <i>Chrysanthemum segetum</i> (c) <i>Chrysanthemum inodorum</i> | 23 |
| Gambar 2.4. Struktur molekul piretrin dan turunannya | 25 |
| Gambar 2.5. Jenis-jenis tanaman sereh wangi (a) <i>Cymbopogon citratus</i> , (b) <i>Cymbopogon</i> (c) <i>Cymbopogon nardus</i> | 26 |
| Gambar 2.6. Struktur molekul komposisi kimia minyak atsiri daun- batang sereh wangi | 28 |
| Gambar 2.7. Ciri-ciri khusus nyamuk <i>A. aegypti</i> dan <i>A. albopictus</i> | 31 |
| Gambar 2.8. Struktur telur <i>A. aegypti</i> | 32 |
| Gambar 2.9. Struktur Larva <i>A. aegypti</i> | 33 |
| Gambar 2.10. Struktur pupa <i>A. aegypti</i> | 34 |
| Gambar 2.11. Struktur nyamuk dewasa <i>Aedes aegypti</i> | 34 |
| Gambar 2.12. Gambaran fotomikrograf trakea | 44 |
| Gambar 2.13. Gambaran fotomikrograf pulmo | 47 |
| Gambar 2.14. Gambaran fotomikrograf pulmo terlihat bronkus dengan serat otot polos yang melingkarinya | 47 |
| Gambar 2.15. Gambaran fotomikrograf pulmo terlihat bronkus dengan serat otot polos yang melingkarinya | 48 |
| Gambar 2.16. Gambaran fotomikrograf pulmo terlihat alveolus dengan dinding yang disusun oleh epitel | 48 |
| Gambar 2.17. Skema mekanisme pengaruh asap pada saluran pernafasan | 52 |
| Gambar 4.1. Bagan definisi operasional variabel | 59 |
| Gambar 5.1. Konsentrasi gas CO antar kelompok perlakuan | 72 |
| Gambar 5.2. Mortalitas <i>A. Aegypti</i> antar kelompok perlakuan setelah 8 jam pengamatan | 72 |

| | |
|--|----|
| Gambar 5.3. Estimasi hubungan antara kelompok perlakuan terhadap mortalitas <i>A. aegypti</i> | 75 |
| Gambar 5.4. Aktivitas enzim asetilkolinesterase <i>A. aegypti</i> antar kelompok perlakuan setelah 8 jam pengamatan | 78 |
| Gambar 5.5. Berat badan mencit antar kelompok perlakuan | 83 |
| Gambar 5.6. Struktur anatomi trakea mencit | 85 |
| Gambar 5.7. Jumlah sel goblet trakea mencit antar kelompok perlakuan | 87 |
| Gambar 5.8 Rerata tinggi lapisan epitel trakea mencit antar kelompok perlakuan | 89 |
| Gambar 5.9. Potongan melintang trakea mencit kelompok tanpa paparan obat nyamuk bakar dengan tinggi lapisan epitel | 91 |
| Gambar 5.10. Potongan melintang trakea mencit kelompok Transflutrin 2500 ppm dengan tinggi lapisan epitel | 92 |
| Gambar 5.11. Potongan melintang trakea mencit kelompok MORIZENA dosis 500 ppm dengan tinggi lapisan epitel | 92 |
| Gambar 5.12. Potongan melintang trakea mencit kelompok MORIZENA dosis 1000 ppm dengan tinggi lapisan epitel | 93 |
| Gambar 5.13. Potongan melintang trakea mencit kelompok MORIZENA dosis 2000 ppm dengan tinggi lapisan epitel | 93 |
| Gambar 5.14. Potongan melintang trakea mencit kelompok MORIZENA dosis 3000 ppm dengan tinggi lapisan epitel | 94 |
| Gambar 5.15. Potongan melintang trakea mencit kelompok MORIZENA dosis 4000 ppm dengan tinggi lapisan epitel | 94 |
| Gambar 5.16. Rerata diameter mencit antar kelompok perlakuan | 96 |
| Gambar 5.17. Potongan melintang trakea mencit kelompok tanpa paparan obat nyamuk bakar dengan diameter lumen trakea | 98 |
| Gambar 5.18. Potongan melintang trakea mencit kelompok Transflutrin 2500 ppm dengan diameter lumen trakea | 98 |
| Gambar 5.19. Potongan melintang trakea mencit kelompok MORIZENA dosis 500 ppm dengan diameter lumen trakea | 99 |

| | Halaman |
|--|---------|
| Gambar 5.20. Potongan melintang trakea mencit kelompok MORIZENA dosis 1000 ppm dengan diameter lumen trakea | 99 |
| Gambar 5.21. Potongan melintang trakea mencit kelompok MORIZENA dosis 2000 ppm dengan diameter lumen trakea | 100 |
| Gambar 5.22. Potongan melintang trakea mencit kelompok MORIZENA dosis 3000 ppm dengan diameter lumen trakea | 100 |
| Gambar 5.23. Potongan melintang trakea mencit kelompok MORIZENA dosis 4000 ppm dengan diameter lumen trakea | 101 |
| Gambar 5.24. Rerata berat paru-paru mencit antar kelompok perlakuan | 103 |
| Gambar 5.25. Potongan melintang alveoli paru-paru mencit kelompok tanpa paparan obat nyamuk bakar | 105 |
| Gambar 5.26. Potongan melintang alveoli paru-paru mencit kelompok tanpa paparan obat nyamuk bakar | 106 |
| Gambar 5.27. Potongan melintang alveoli paru-paru mencit kelompok Transflutrin 2500 ppm | 106 |
| Gambar 5.28. Potongan melintang alveoli paru-paru mencit kelompok Transflutrin 2500 ppm | 107 |
| Gambar 5.29. Potongan melintang alveoli paru-paru mencit kelompok MORIZENA dosis 500 ppm | 107 |
| Gambar 5.30. Potongan melintang alveoli paru-paru mencit kelompok MORIZENA dosis 500 ppm | 108 |
| Gambar 5.31. Potongan melintang alveoli paru-paru mencit kelompok MORIZENA dosis 1000 ppm | 108 |
| Gambar 5.32. Potongan melintang alveoli paru-paru mencit kelompok MORIZENA dosis 1000 ppm | 109 |
| Gambar 5.33. Potongan melintang alveoli paru-paru mencit kelompok MORIZENA dosis 2000 ppm | 109 |
| Gambar 5.34. Potongan melintang alveoli paru-paru mencit kelompok MORIZENA dosis 2000 ppm | 110 |
| Gambar 5.35. Potongan melintang alveoli paru-paru mencit kelompok MORIZENA dosis 3000 ppm | 110 |

| | Halaman |
|--|---------|
| Gambar 5.36. Potongan melintang alveoli paru-paru mencit kelompok MORIZENA dosis 3000 ppm | 111 |
| Gambar 5.37. Potongan melintang alveoli paru-paru mencit kelompok MORIZENA dosis 4000 ppm | 111 |
| Gambar 5.38. Potongan melintang alveoli paru-paru mencit kelompok MORIZENA dosis 4000 ppm | 112 |
| Gambar 5.39. Rerata diameter alveolus paru-paru mencit antar kelompok perlakuan | 113 |

DAFTAR TABEL

| | Halaman |
|---|---------|
| Tabel 2.1. Komponen minyak sereh wangi | 29 |
| Tabel 4.1. Skor derajat kerusakan jaringan trakea mencit | 67 |
| Tabel 4.2. Skor derajat kerusakan jaringan paru-paru mencit | 68 |
| Tabel 5.1. Pengukuran faktor-faktor lingkungan laboratorium | 70 |
| Tabel 5.2. Uji <i>One-way</i> Anova mortalitas <i>Aedes aegypti</i> | 74 |
| Tabel 5.3. Uji beda nyata terkecil mortalitas <i>Aedes aegypti</i> | 74 |
| Tabel 5.4. Uji <i>One-way</i> Anova aktivitas enzim asetilkolinesterase <i>Aedes aegypti</i> | 79 |
| Tabel 5.5. Uji beda nyata terkecil aktivitas enzim asetilkolinesterase <i>Aedes aegypti</i> | 79 |
| Tabel 5.6. Uji <i>one-way</i> Anova berat badan mencit | 84 |
| Tabel 5.7. Perubahan histopatologis trakea mencit | 85 |
| Tabel 5.8. Uji Kruskal-Wallis skor derajat kerusakan trakea mencit | 86 |
| Tabel 5.9. Uji <i>one-way</i> Anova jumlah sel goblet trakea mencit | 87 |
| Tabel 5.10. Uji beda nyata terkecil jumlah sel goblet mencit | 88 |
| Tabel 5.11. Uji <i>one-way</i> Anova tinggi lapisan epitel trakea mencit | 89 |
| Tabel 5.12. Uji beda nyata terkecil tinggi lapisan epitel trakea mencit | 90 |
| Tabel 5.13. Uji <i>one-way</i> Anova diameter trakea mencit | 96 |
| Tabel 5.14. Uji beda nyata terkecil diameter trakea mencit | 97 |
| Tabel 5.15. Uji <i>one-way</i> Anova berat paru-paru mencit | 102 |
| Tabel 5.16. Struktur histopatologis alveoli paru-paru mencit | 104 |
| Tabel 5.17. Uji <i>one-way</i> Anova diameter alveolus mencit | 112 |
| Tabel 5.18. Uji beda nyata terkecil diameter alveolus mencit | 114 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | Halaman |
|--|---------|
| Lampiran 1. Data mortalitas <i>A. aegypti</i> antar kelompok perlakuan | 131 |
| Lampiran 2. <i>One-way</i> Anova mortalitas <i>A. aegypti</i> antar kelompok perlakuan | 134 |
| Lampiran 3. Uji beda nyata terkecil mortalitas <i>A. aegypti</i> antar kelompok perlakuan | 135 |
| Lampiran 4. Uji probit LC ₅₀ dan LC ₉₀ mortalitas <i>A. aegypti</i> antar kelompok perlakuan | 137 |
| Lampiran 5. Aktivitas enzim asetilkolinesterase pada <i>A. aegypti</i> antar kelompok perlakuan | 141 |
| Lampiran 6. <i>One-way</i> Anova aktivitas enzim asetilkolinesterase pada <i>A. aegypti</i> antar kelompok perlakuan | 142 |
| Lampiran 7. Uji beda nyata terkecil aktivitas enzim asetilkolinesterase pada <i>A. aegypti</i> antar kelompok perlakuan | 143 |
| Lampiran 8. Data berat badan mencit antar kelompok perlakuan | 145 |
| Lampiran 9. <i>One-way</i> Anova berat badan mencit antar kelompok perlakuan | 146 |
| Lampiran 10. Rerata skor derajat kerusakan jaringan trakea mencit antar kelompok perlakuan | 147 |
| Lampiran 11. Uji Kruskal-Wallis terhadap derajat kerusakan jaringan trakea mencit antar kelompok perlakuan | 148 |
| Lampiran 12. Data tinggi lapisan epitel trakea mencit jantan antar kelompok Perlakuan | 149 |
| Lampiran 13. <i>One-Way</i> Anova tinggi lapisan epitel trakea mencit antar kelompok perlakuan | 150 |
| Lampiran 14. Uji beda nyata terkecil tinggi lapisan epitel trakea mencit antar kelompok perlakuan | 151 |
| Lampiran 15. Data diameter trakea mencit antar kelompok perlakuan | 153 |
| Lampiran 16. <i>One-Way</i> Anova diameter trakea mencit antar kelompok perlakuan | 154 |
| Lampiran 17. Uji beda nyata terkecil diameter trakea mencit antar kelompok perlakuan | 155 |

| | Halaman |
|--|---------|
| Lampiran 18. Data jumlah sel goblet trakea mencit antar kelompok perlakuan | 157 |
| Lampiran 19. <i>One-Way</i> Anova jumlah sel goblet trakea mencit antar kelompok perlakuan | 158 |
| Lampiran 20. Uji beda nyata terkecil jumlah sel goblet trakea mencit antar kelompok perlakuan | 159 |
| Lampiran 21. Data berat paru-paru mencit antar kelompok perlakuan | 161 |
| Lampiran 22. <i>One-way</i> Anova berat paru-paru mencit antar kelompok perlakuan | 162 |
| Lampiran 23. Rerata skor derajat kerusakan jaringan paru mencit antar kelompok perlakuan | 163 |
| Lampiran 24. Uji Kruskal-Wallis terhadap derajat kerusakan jaringan paru mencit antar kelompok perlakuan | 164 |
| Lampiran 25. Data diameter alveolus mencit antar kelompok | 166 |
| Lampiran 26. <i>One-way</i> Anova diameter alveolus mencit antar kelompok perlakuan | 167 |
| Lampiran 27. Uji beda nyata terkecil diameter alveolus mencit antar kelompok perlakuan | 168 |
| Lampiran 28. Bentuk <i>coil</i> obat nyamuk bakar herbal MORIZENA | 170 |
| Lampiran 29. Cara pembuatan obat nyamuk bakar herbal MORIZENA dengan dosis 500 ppm, 1000 ppm, 2000 ppm, 3000 ppm dan 4000 ppm sebanyak 100 mL | 171 |
| Lampiran 30. Metode ekstraksi daun permot | 172 |
| Lampiran 31. Metode ekstraksi biji bunga krisan | 173 |
| Lampiran 32. Metode distilasi daun dan batang sereh wangi | 174 |
| Lampiran 33. Diagram metode uji aktivitas asetilkolinesterase pada nyamuk | 175 |
| Lampiran 34. Tahap-tahap pembuatan preparat irisan metode parafin dimulai dari pemotongan organ trakea dan pulmo sampai dengan pewarnaan | 176 |

| | Halaman |
|---|---------|
| Lampiran 35. Identifikasi tanaman permot | 180 |
| Lampiran 36. Biodata | 181 |

DAFTAR SINGKATAN

| | |
|--------------------|--|
| ACh | : Asetilkolin |
| AChE | : Asetilkolinesterase |
| CFR | : <i>Code of federal regulations</i> |
| cGMP | : <i>Cyclic guanosine monophosphate</i> |
| CPOB | : Cara pembuatan obat yang baik |
| DBD | : Demam berdarah dengue |
| DDT | : <i>Dichloro diphenyl trichloroethane</i> |
| DDVP | : <i>Dichlorovynil dimethyl fosfat</i> |
| DEF | : <i>Diesel exhaust fluid</i> |
| DEN | : <i>Dengue fever virus serotypes</i> |
| DHF | : <i>Dengue Haemorrhagic Fever</i> |
| dpl | : Di atas permukaan laut |
| ED ₅₀ | : <i>Efficacy Dose 50</i> |
| EPSP | : <i>Excitatory Post Synaptic Potential</i> |
| Kd T ₅₀ | : <i>Knock Down Time 50</i> |
| Kd T ₉₀ | : <i>Knock Down Time 90</i> |
| KETT | : <i>Quality test equipment and accurate measurement</i> |
| L1 | : <i>type amino acid transporter</i> |
| LC ₅₀ | : <i>Lethal Concentration 50</i> |
| LD ₅₀ | : <i>Lethal Dose 50</i> |
| ONB | : Obat nyamuk bakar |
| ONBH | : Obat nyamuk bakar herbal |
| ONBS | : Obat nyamuk bakar sintetis |
| PBO | : <i>Plate boundary observatory</i> |
| USEPA | : <i>Environment Protection Authority</i> |
| VGSC | : <i>Voltage Gated Sodium Channels</i> |
| WHO | : <i>World Health Organization</i> |

INTISARI

Aedes aegypti adalah nyamuk yang berperan sebagai vektor penyakit demam berdarah *dengue* (DBD). Salah satu upaya untuk mengendalikan populasi *A. aegypti* menurunkan angka kematian karena penyakit DBD melalui pemanfaatan bioinsektisida. Obat nyamuk bakar herbal MORIZENA merupakan campuran dari ekstrak daun permot, ekstrak biji bunga *Chrysanthemum*, minyak atsiri daun-batang sereh dengan kandungan kimia yang bersifat racun bagi nyamuk *A. aegypti*. Ekstrak biji bunga *Chrysanthemum* (*Chrysanthemum cinerariaefolium*) dan minyak atsiri daun-batang sereh (*Cymbopogon nardus*) telah banyak diteliti untuk digunakan sebagai obat nyamuk dan produknya telah dikomersialkan, sedangkan ekstrak daun permot (*Passiflora foetida*) belum banyak diteliti dan dimanfaatkan sebagai salah satu bahan aktif obat nyamuk, khususnya nyamuk *A. aegypti*. Komposisi MORIZENA dalam penelitian ini adalah ekstrak daun permot 40%, ekstrak biji bunga krisan 40% dan minyak atsiri daun-batang sereh 20%.

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan desain studi *posttest only control group*. Hewan sasaran dalam penelitian ini adalah *A. aegypti* betina dewasa dan hewan bukan sasaran adalah mencit jantan dewasa berumur ± 2 bulan dengan berat badan awal 18-23 g, yang dibagi menjadi 7 kelompok perlakuan yaitu 0% (kontrol negatif), kelompok Transflutrin 2500 ppm (kontrol positif, K_1), kelompok MORIZENA dosis bertingkat 500 ppm, 1000 ppm, 2000 ppm, 3000 ppm dan 4000 ppm. Masing-masing kelompok diisi 25 ekor nyamuk *A. aegypti* dengan 4 kali replikasi serta mencit jantan sebanyak 35 ekor. Paparan asap obat nyamuk bakar adalah 8 jam/hari selama 12 minggu. Data untuk *A. aegypti* diperoleh dengan menganalisis *knock down* 50 (KdT_{50}) dan nilai LC_{50} dan LC_{90} serta aktivitas asetilkolinesterase. Data untuk mencit jantan yang dianalisis adalah berat badan dan berat paru-paru, perubahan histopatologis trakea yang meliputi perubahan struktur epitel dan silia, jumlah sel goblet, tinggi lapisan epitel dan diameter trakea, sedangkan perubahan histopatologis paru-paru meliputi kerusakan membran alveolus yang menyebabkan pelebaran diameter alveolus dan terjadinya penebalan septum interalveolaris. Analisis data kuantitatif menggunakan *one-way* Anova yang dilanjutkan dengan uji BNT, sementara data yang sifatnya kualitatif menggunakan uji Kruskal Wallis dan dilanjutkan dengan uji Mann Whitney. Data LC_{50} dan LC_{90} dianalisis dengan menggunakan uji probit.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi gas karbon monoksida (CO) yang dikeluarkan oleh asap MORIZENA dosis 500 ppm sebesar 140 ppm, dosis 1000 ppm sebesar 165 ppm, dosis 2000 ppm sebesar 212 ppm, dosis 3000 ppm sebesar 228 ppm, dosis 4000 ppm sebesar 320 ppm, sedangkan kelompok Transflutrin adalah sekitar 545 ppm. Selain itu, ada perbedaan antara kelompok MORIZENA dosis bertingkat hingga 4000 ppm dan Transflutrin 2500 ppm menyebabkan kematian nyamuk dengan KdT_{50} lebih dari $> 90\%$ dan nilai LC_{50} pada dosis sebesar 999 ppm dan nilai LC_{90} pada dosis 2977 ppm, maka dapat dikatakan dosis efektif MORIZENA yaitu 2977 ppm. Aktivitas enzim asetilkolinesterase *Aedes aegypti* meningkat pada kelompok MORIZENA dosis 3000 ppm sebesar $0,275 \mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ protein dan dosis 4000 ppm sebesar $0,278 \mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ protein, serta kelompok Transflutrin 2500 ppm sebesar $0,279 \mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ protein. Kelompok MORIZENA dosis bertingkat hingga 4000 ppm tidak menyebabkan perubahan berat badan dan berat paru-paru mencit. Mencit kelompok MORIZENA hingga dosis 3000 ppm tidak menyebabkan perubahan histopatologis trakea (struktur epitel berlapis semu silindris bersilia, dengan jumlah sel goblet yang normal,) dibandingkan dengan mencit kelompok MORIZENA dosis 4000 ppm dan kelompok Transflutrin 2500 ppm (struktur epitel berlapis semu silindris tak bersilia dengan jumlah sel goblet yang meningkat, serta terjadi lipatan lapisan mukosa). Kelompok MORIZENA hingga dosis 3000 ppm tidak menyebabkan menipisnya diameter trakea dan berkurangnya tinggi

lapisan epitel, dibandingkan dengan MORIZENA dosis 4000 ppm dan kelompok Transflutrin 2500 ppm. Kelompok MORIZENA hingga dosis 3000 ppm tidak menyebabkan perubahan histopatologis paru-paru (membran alveolus utuh, tidak terjadi pelebaran diameter alveolus dan tidak terjadi penebalan septum interalveolaris), dibandingkan dengan mencit kelompok MORIZENA dosis 4000 ppm dan kelompok Transflutrin 2500 ppm (membran alveolus tidak utuh/rusak, terjadi pelebaran diameter alveolus dan penebalan septum alveolaris).

Kesimpulan yang dapat diambil adalah obat nyamuk bakar herbal MORIZENA hingga dosis 3000 ppm mempunyai kadar CO yang aman untuk digunakan dengan dosis efektif MORIZENA adalah 2977 ppm (dapat membunuh nyamuk *A. aegypti* lebih dari 90%), tidak menyebabkan penurunan berat badan dan berat paru mencit, serta tidak menyebabkan perubahan histopatologis saluran pernafasan yaitu trakea dan paru mencit.

ABSTRACT

Aedes aegypti is a mosquito that acts as vectors of dengue hemorrhagic fever (DHF). One of the efforts to control the population of *A. aegypti* to reduce mortality due to DHF through the utilization bioinsecticide MORIZENA herbal mosquito coils is a mixture of permot leaf extract, *Chrysanthemum* flower seed extract, essential oils lemongrass leaf-stem with chemical ingredients that are toxic to *A. aegypti*. *Chrysanthemum* flower seed extract (*Chrysanthemum cinerariaefolium*) and essential oil lemongrass leaf-stem (*Cymbopogon nardus*) has been widely studied for use as an insect repellent and its products have been commercialized, whereas permot leaf extract (*Passiflora foetida*) have not been studied and used as an insect repellent active ingredients, especially the *A. aegypti*. MORIZENA composition in this study is permot leaf extract 40%, chrysanthemum seed extract 40% and essential oil leaf-stem lemongrass 20%.

This study is an experimental research study design with posttest only control group. *A. aegypti* adult females and non-target animal is an adult male mice aged \pm 2 months with initial weight 18-23 g, which is divided into 7 treatment groups were 0% (negative control group), synthetic mosquito coils transfluthrin 2500 ppm (positive control group), herbal mosquito coils MORIZENA graded dose 500 ppm, 1000 ppm, 2000 ppm, 3000 ppm and 4000 ppm. Each group in the contents of 25 *A. aegypti* with 4 times the replication. The data were obtained by analyzing the knockdown 50 (KdT₅₀) and probit analysis to obtain the LC₅₀ and LC₉₀ values and acetylcholinesterase activity. Data for mice that were analyzed were weight and lung, trachea histopathologic changes that include changes in the epithelium and cilia, the number of goblet cells, the epithelial layer height and diameter of the trachea, whereas the histopathologic changes of lung alveolar membrane covering the damage that cause dilation diameter and thickening of interalveolaris septum.

The results showed that the concentration of carbon monoxide (CO) emitted by the smoke of MORIZENA dose of 500 ppm is 140 ppm, dose of 1000 ppm is 165 ppm, dose of 2000 is 212 ppm, dose of 3000 ppm is 228 ppm, dose of 4000 ppm is 320 ppm, whereas dose of tranfluthrin 2500 ppm is 545 ppm. Beside that, there were differences between the MORIZENA group with graded dose and Transfluthrin 2500 ppm group causing death by mosquitoes KdT₅₀ more than $> 90\%$ and the LC₅₀ values at doses of 999 ppm and LC₉₀ values at a dose of 2977 ppm, it can be said to be the effective dose of MORIZENA is 2977 ppm. The activity of the enzyme acethylcholinesterase *A. aegypti* increase in exposure to MORIZENA grup dose of 3000 ppm is 0.275 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ protein, dose of 4000 ppm is 0.278 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ protein and Transfluthrin 2500 ppm group is 0.279 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ protein. Exposure of MORIZENA with graded doses of up to 4000 ppm did not cause changes in body weight and lung weight of male. Mice of MORIZENA group do not cause damage to the trachea up to a dose of 3000 ppm, compared with a group of MORIZENA dose of 4000 ppm and Transfluthrin 2500 ppm group. Exposure of MORIZENA up to 3000 ppm dose does not cause depletion of the tracheal diameter, compared with a dose of 4000 ppm and Transfluthrin 2500 ppm group. Exposure of MORIZENA up to 3000 ppm do not cause structural changes in organs tracheal epithelial compared with a dose of 4000 ppm and Transfluthrin 2500 ppm group. Exposure of MORIZENA do not cause damage to the lung alveoli until a dose of 3000 ppm compared with a group of MORIZENA dose of 4000 ppm and Transfluthrin 2500 ppm group. Exposure of MORIZENA do not cause the widening of the lung alveoli diameter of up to 3000 ppm dose compared with a group of MORIZENA dose of 4000 ppm and Transfluthrin 2500 ppm group. Exposure of MORIZENA do not cause thickening of the interalveolaris septum up to a dose of 3000 ppm compared with a group of MORIZENA dose of 4000 ppm and Transfluthrin 2500 ppm group.

The conclusion that can be drawn is MORIZENA up to a dose of 3000 ppm had higher levels of CO safe for use, the effective dose of MORIZENA (*A. aegypti* can kill more than 90%) is 2977 ppm, and does not cause weight loss, severe damage to the lungs and airways are the trachea and lungs of mice.

BAB I PENGANTAR

1.1. Latar Belakang

Penyakit Demam Berdarah Dengue (DBD) adalah penyakit menular yang disebabkan oleh virus *dengue* dan ditularkan melalui gigitan nyamuk *A. aegypti* sebagai vektor utama (Hadinegoro dan Satari, 2002). Data Direktorat Pengendalian Penyakit Tular Vektor dan Zoonosis Kementerian Kesehatan menyebutkan hingga akhir Januari tahun 2016, kejadian luar biasa (KLB) penyakit DBD dilaporkan ada di 12 Kabupaten dan 3 Kota dari 11 Provinsi di Indonesia, antara lain Provinsi Banten yaitu Kabupaten Tangerang, Provinsi Sumatera Selatan yaitu Kota Lubuklinggau, Provinsi Bengkulu yaitu Kota Bengkulu, Provinsi Bali yaitu Kota Denpasar dan Kabupaten Gianyar, Provinsi Sulawesi Selatan, yaitu Kabupaten Bulukumba, Pangkep, Luwu Utara dan Wajo, Provinsi Gorontalo yaitu Kabupaten Gorontalo, Provinsi Papua Barat yaitu Kabupaten Kaimana, Provinsi Papua yaitu Kabupaten Mappi, Provinsi NTT yaitu Kabupaten Sikka, Provinsi Jawa Tengah yaitu Kabupaten Banyumas, Provinsi Sulawesi Barat yaitu Kabupaten Majene. Sepanjang bulan Januari dan Februari 2016, kasus DBD yang terjadi di wilayah tersebut tercatat sebanyak 492 orang dengan jumlah kematian 25 orang pada bulan Januari 2016 sedangkan pada bulan Februari 2016 tercatat sebanyak 116 orang dengan jumlah kematian 9 orang. Kementerian Kesehatan RI mencatat jumlah penderita DBD di Indonesia pada bulan Januari-Februari 2016 sebanyak 8.487 orang penderita DBD dengan jumlah kematian 108 orang (Kementerian Kesehatan RI, 2016). Dari data tersebut dapat diketahui bahwa upaya penanggulangan DBD di Indonesia hingga saat ini belum optimal karena jumlah kasus cenderung meningkat setiap tahunnya.

Demam Berdarah Dengue (DBD) atau *Dengue Haemorrhagic Fever* (DHF) adalah suatu penyakit yang disebabkan oleh virus Dengue Famili Flaviviridae dengan genusnya adalah Flavivirus RNA Togavirus. Virus ini mempunyai empat serotipe yang dikenal dengan DEN-1, DEN-2, DEN-3 dan DEN-4. Yang secara klinis mempunyai tingkatan manifestasi yang berbeda, bergantung dari serotipe virus Dengue. DBD ditularkan melalui nyamuk *A. aegypti* yang dapat menyebabkan gangguan pada manusia karena kebiasaannya menggigit dan menghisap darah (Pinto dan Filipe, 1973; Tolle, 2009).

Menurut Gillot (2005), nyamuk *A. aegypti* (Diptera : Culicidae) disebut *black-white mosquito*, karena tubuhnya ditandai dengan pita atau garis-garis putih keperakan di atas dasar hitam. Panjang tubuh nyamuk ini sekitar 3-4 mm dengan bintik hitam dan putih pada badan dan kepalanya, dan juga terdapat cincin putih pada bagian kakinya. Di bagian dorsal dari toraks terdapat bentuk bercak yang khas berupa dua garis sejajar di bagian tengah dan dua garis lengkung di tepinya. Bentuk abdomen nyamuk betinanya lancip pada ujungnya dan memiliki cerci yang lebih panjang dari cerci pada nyamuk-nyamuk lainnya. Ukuran tubuh nyamuk betinanya lebih besar dibandingkan nyamuk jantan. *Aedes aegypti* dapat ditemukan hampir di seluruh provinsi di Indonesia karena nyamuk ini sangat mudah beradaptasi dengan lingkungan sekitarnya. Nyamuk ini selalu bertelur dalam air tergenang atau di tempat-tempat yang lembab atau yang akan tergenangi air hujan (Aradilla, 2009).

Salah satu upaya memutus mata rantai penyebaran *A. aegypti* tersebut adalah dengan cara pengendalian vektor dengan dua cara yaitu cara kimia dan pengelolaan lingkungan. Selama ini pengendalian *A. aegypti* umumnya dilakukan dengan menggunakan insektisida sintetis. Hal ini dikarenakan insektisida sintetis dianggap efektif, praktis, manjur dan dari segi ekonomi lebih menguntungkan. Namun, hal ini perlu diwaspadai karena penggunaan insektisida sintetis secara terus menerus akan menimbulkan pencemaran lingkungan, kematian berbagai macam makhluk hidup lain dan menyebabkan serangga menjadi resisten, bahkan dapat menyebabkan mutasi gen pada spesies ini. Metcalf dan Luckmann (1982) menyatakan bahwa insektisida sintetis bersifat bioaktif, mengandung bahan kimia yang sukar mengalami degradasi di alam sehingga residunya dapat mencemari lingkungan dan dapat menurunkan kualitas lingkungan. Disamping itu, paparan insektisida sintetis ke dalam rantai makanan dapat menyebabkan kematian beberapa makhluk hidup lain yang bukan sasaran dan akhirnya akan mengacaukan keseimbangan ekosistem. Meskipun sebelum diproduksi insektisida sintetis telah menjalani pengujian yang sangat ketat meliputi syarat-syarat keselamatannya, akan tetapi karena bersifat bioaktif maka insektisida sintetis tetap merupakan racun, dimana setiap racun selalu menimbulkan dampak yang merugikan bagi manusia maupun lingkungan.

Salah satu pengendalian secara kimiawi adalah penggunaan obat nyamuk bakar. Obat nyamuk bakar termasuk bahan penghasil asap berinsektisida yang banyak

digunakan untuk mengurangi gigitan nyamuk dan mengurangi kepadatan nyamuk baik oleh peneliti maupun masyarakat. Obat nyamuk bakar termasuk yang mudah digunakan, efektif dan murah (Rozendaal, 1997). Selain itu, Wigati (2006) menyatakan bahwa obat nyamuk bakar dapat dimanfaatkan untuk perlindungan diri dari gigitan nyamuk termasuk *Aedes aegypti* yang merupakan vektor demam berdarah. Pemanfaatan obat nyamuk bakar dengan cakupan tinggi di tingkat komunitas yang tinggal di daerah endemik demam berdarah dapat mengurangi insidensi dengan mengurangi tingkat penularannya.

Melihat kerugian berupa efek samping yang ditimbulkan oleh insektisida sintetik tersebut maka dibutuhkan suatu usaha untuk mendapatkan bahan alternatif yang lebih ramah lingkungan tetapi juga efektif dalam mengendalikan populasi nyamuk khususnya *Aedes aegypti*. Penggunaan insektisida botani atau bioinsektisida sebagai pengganti insektisida sintetik nantinya diharapkan dapat mengurangi masalah pencemaran lingkungan. Hal ini disebabkan karena penggunaan insektisida hayati (bioinsektisida) tidak menimbulkan pencemaran lingkungan, dimana insektisida hayati mengandung bahan yang mudah dan cepat terdegradasi di alam serta tidak menimbulkan residu berbahaya bagi lingkungan, baik pada hewan maupun manusia. Hal ini juga dinyatakan oleh Syahputra (2001) bahwa insektisida hayati memiliki sifat yang tidak stabil dan memungkinkan untuk dapat didegradasi secara alami sehingga tidak berbahaya bagi manusia dan lingkungan.

Indonesia memiliki flora yang sangat beragam, mengandung cukup banyak jenis tumbuh-tumbuhan yang merupakan sumber bahan insektisida hayati yang dapat dimanfaatkan untuk pengendalian hama. Laporan dari berbagai propinsi di Indonesia menyebutkan lebih dari 40 jenis tumbuhan berpotensi sebagai insektisida hayati. Syahputra (2001) mencatat di Indonesia terdapat 50 suku tumbuhan penghasil racun yang dapat digunakan sebagai salah satu bahan aktif penyusun insektisida hayati. Suku tumbuhan yang dianggap merupakan sumber potensial insektisida hayati adalah Meliaceae, Annonaceae, Asteraceae, Piperaceae dan Rutaceae.

Obat nyamuk hayati atau yang terbuat dari bahan herbal merupakan salah satu jenis bioinsektisida yang potensial untuk digunakan dalam mengendalikan populasi nyamuk. Obat nyamuk hayati diperoleh dari ekstrak atau penyulingan tanaman yang berfungsi sebagai senyawa pembunuh, penolak, pengikat dan penghambat pertumbuhan

hama dan insekta. Peluang pengembangan obat nyamuk hayati di Indonesia dinilai sangat strategis mengingat tanaman sumber bahan obat nyamuk banyak tersedia dengan berbagai macam kandungan kimia yang tidak bersifat racun (Soehardjan, 1994). Disamping itu obat nyamuk hayati merupakan bahan alami, bersifat mudah terurai di alam (*biodegradable*) sehingga tidak mencemari lingkungan dan relatif aman bagi manusia karena residunya mudah hilang. Senyawa yang terkandung dalam tumbuhan dan diduga berfungsi sebagai insektisida hayati diantaranya adalah golongan sianida, saponin, tanin, flavonoid, alkaloid, minyak atsiri dan steroid. Bentuk obat nyamuk yang digunakan oleh masyarakat adalah bermacam-macam, diantaranya obat nyamuk semprot, obat nyamuk elektrik, *repelant* maupun obat nyamuk bakar.

Informasi dari sumber industri menyatakan bahwa obat nyamuk bakar adalah yang paling umum digunakan sebagai insektisida rumah tangga di Asia termasuk Indonesia (Yap dkk., 1996). Konsumsi per tahun dunia akan obat nyamuk bakar sekitar 22000 juta buah dengan total biaya \pm US Dollar 650 juta. Konsumsi di Asia saja sekitar 90%. Obat nyamuk bakar banyak digunakan karena harganya yang murah (paling murah di antara produk insektisida rumah tangga yang lainnya), mudah digunakan (tanpa membutuhkan listrik) dan yang paling dapat diterima oleh masyarakat (Kardinan, 2005).

Obat nyamuk bakar adalah bahan padat yang terdiri dari dua buah lingkaran yang saling mengisi. Apabila akan digunakan kedua buah lingkaran tersebut lebih dahulu dipisahkan satu sama lain. Bahan yang sering digunakan dalam pembuatan obat nyamuk bakar adalah serbuk kayu, tepung tempurung dan tepung sejenis kayu yang dicampur dengan zat pewarna, bahan perekat (kembang sepatu), pengawet, piretrin dan sintesik piretroid, bahan aktif lain yang mengandung alkaloid, flavonoid, fenol serta wangi-wangian (minyak atsiri dari daun-batang sereh wangi atau minyak atsiri dari kulit jeruk). Campuran bahan ini kemudian dibentuk menjadi lempengan dan selanjutnya dicetak lalu dikeringkan.

Obat nyamuk bakar herbal adalah obat nyamuk yang dibuat dengan mencampurkan beberapa bahan kimia dari ekstrak tanaman yang efektif untuk membunuh dan mengusir nyamuk, termasuk vektor penyakit demam berdarah nyamuk *A. aegypti*. Telah banyak penelitian yang dilakukan untuk membuat obat nyamuk bakar berbahan herbal, namun hingga saat ini belum ada yang sampai membuat produk dan

dapat dimanfaatkan oleh masyarakat luas. Oleh karena itu dalam penelitian ini dibuat obat nyamuk bakar herbal yang diberi nama “MORIZENA” dengan komposisi ekstrak daun permot (*Passiflora foetida*), ekstrak biji bunga chrysantemum (*Chrysanthemum cinerariaefolium*), distilat daun dan batang sereh (*Cymbopogon nardus*) dan sebagai pematat obat nyamuk bakar digunakan batok kelapa dan ampas daun permot. Pemilihan ketiga macam ekstrak tersebut dikarenakan pada ekstrak daun permot mengandung harmalin, harmin dan ermanin (Wijayakusuma, 1995; Soparat, 2010); pada biji bunga krisan mengandung piretrin (Kardinan, 2000); dan distilat daun dan batang sereh mengandung minyak atsiri sitronelal (Prasetyowati, 2007; Sakulku dkk., 2009; Fradin, 1998).

Berdasarkan penelitian pendahuluan yang telah dilakukan oleh Susilowati (2013) efek ekstrak daun permot dengan konsentrasi bertingkat dari 500 ppm, 1000 ppm, 1500 ppm hingga 2000 ppm pada larva *A. aegypti* diperoleh hasil dari persamaan regresi linier dapat mencapai LC₅₀ yang diperoleh tepat pada konsentrasi ekstrak daun permot 1068 ppm. Namun, ekstrak daun permot ini setelah dibuat sebagai obat nyamuk bakar dengan dosis bertingkat 125 ppm, 250 ppm, 500 ppm, 1000 ppm dan 2000 ppm belum dapat mencapai kematian atau *knockdown* (KdT₅₀) *A. aegypti* yang lebih dari 90% (Susilowati, 2014). Untuk mendapatkan KdT₅₀ *A. aegypti* yang lebih dari 90% berdasarkan rujukan beberapa hasil penelitian mengenai bioinsektisida maka dicoba untuk melakukan dengan mencampur beberapa bahan aktif dari tanaman selain permot yaitu biji bunga krisan yang sudah dikenal mengandung piretrum atau piretrin dan daun-batang sereh yang mengandung bahan aktif sitronelal dengan kombinasi campuran 40% untuk ekstrak daun permot, 40% untuk ekstrak biji bunga krisan dan 20% untuk minyak atsiri daun-batang sereh.

Salah satu tanaman obat yang diduga mengandung bahan aktif yang dapat digunakan sebagai bioinsektisida adalah tanaman permot (*Passiflora foetida*). Permot adalah bagian dari kekayaan tanaman Indonesia yang tumbuh secara liar dan terdapat dalam jumlah yang melimpah. Tanaman permot dapat secara mudah dijumpai di tanah lapang, sawah, kebun atau tumbuh merambat di sela tanaman utama yang sengaja ditanam, dipagar dan juga merambat pada dinding sehingga tanaman ini biasa dibersihkan, dibakar atau dibuang begitu saja.

Di Jawa secara umum tanaman ini tidak dibudidayakan kecuali untuk mencegah erosi tanah dan di Banjar hanya sebagai alang-alang (Heyne, 1987). Tanaman permot dikenal masyarakat selama ini hanya untuk keperluan itu saja, padahal tanaman ini mengandung asam hidrosianat, flavonoid (ermanin dan *vitexin*), alkaloid (harmalin, harmin, harmol), saponin (saponaretin, saponarine), *passifloracine* (Wijayakusuma, 1995). Alkaloid, flavonoid, saponin pada daun permot mampu bekerja sebagai racun pada larva baik sebagai racun kontak maupun racun perut sehingga daun permot baik digunakan sebagai bahan larvasida yang berguna untuk membasmi larva *A. aegypti* (Soparat, 2010).

Tanaman lain yang telah populer sebelumnya digunakan sebagai bahan aktif alami obat nyamuk adalah piretrin yang terdapat pada biji bunga krisan. Kardinan (2000) melaporkan bahwa salah satu anggota famili tumbuhan Asteraceae yaitu bunga krisan (*Chrysanthemum cinerariaefolium*) mengandung senyawa bioaktif piretrin. Senyawa ini mempunyai aktivitas racun kontak yang bekerja sebagai racun saraf terhadap serangga dan dapat menghambat peletakkan telur serta penetasan telur serangga. Senyawa aktif piretrin berasal dari bunga pirethrum (*Chrysantemum cinerariaefolium*) yang telah dikeringkan. Lukwa dan Chandiwana (1998) melaporkan bahwa piretrin menyusun sekitar 0,3-0,4% dari obat nyamuk bakar, sedangkan Novizan (2002) menyatakan kandungan piretrin mencapai 0,9 – 1,3%. Piretrin merupakan komponen yang dapat membunuh nyamuk dan mempunyai kadar toksik yang rendah. Piretrin diperoleh dari ekstrak bunga krisan yang merupakan racun kontak yang rendah bagi manusia dan mamalia lainnya serta tidak meninggalkan residu dan aman bagi lingkungan (Novizan, 2002).

Piretrin adalah bahan aktif yang berasal dari biji bunga *Chrysantemum cinerariaefolium* merupakan salah satu bahan baku insektisida yang potensial untuk dikembangkan bagi perkembangan populasi *A. aegypti*. Kadar piretrin total dalam biji bunga *Chrysantemum* \pm 1,3% yang diperoleh secara optimal pada saat bunga sedang mekar penuh (Yuliani dkk., 2010).

Piretrum atau piretrin adalah senyawa golongan terpenoid yang bersifat neurotoksin. Neurotoksin mengganggu penjalaran impuls saraf pada saluran ion dan sinaps. Selain itu senyawa yang bersifat neurotoksin berfungsi menghambat kerja neuron yaitu terjadi penghambatan glutamat sebagai transmittor yang selanjutnya dapat

menimbulkan efek paralisis pada nyamuk, yaitu kondisi tidak dapat bergerak (lumpuh) akibat terganggunya sistem saraf nyamuk.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak bunga piretrum pada konsentrasi 3,0% sampai konsentrasi 7,5% mampu menyebabkan mortalitas larva nyamuk yang tinggi. Dari pengamatan setelah aplikasi ekstrak bunga piretrum, mortalitas larva terjadi serentak dalam jangka waktu pendek. Namun adapula larva yang hanya mengalami pingsan (*knockdown*), kemudian larva pulih kembali. Hal ini dikarenakan jumlah racun piretrin tidak cukup mematikan larva (Winslow, 2002). Lebih lanjut Winslow (2002) menyatakan bahwa mortalitas yang terjadi pada larva disebabkan kemampuan piretrin dalam mengganggu aliran Na^+ (*sodium*) dan sel saraf dan *neurotransmitter* (transmitter kimia) pada sinaps.

Piretrin dalam saraf akan memperpanjang aliran ion Na^+ masuk ke dalam membran dengan cara memperlambat atau menghalangi penutupan *channel*. Apabila piretrin memperlambat penutupan *channel* maka saraf dalam keadaan depolarisasi cukup lama, sehingga ion Na^+ akan banyak masuk ke dalam membran. Hal ini akan menimbulkan gejala kejang dan gemetar. Piretrin juga mampu menghalangi penutupan *channel*, keadaan ini akan menyebabkan membran kelebihan ion Na^+ yang akhirnya saraf menjadi tidak aktif. Ketidakaktifan saraf ini dikarenakan saraf terlalu positif dan sulit untuk repolarisasi (kembali ke keadaan semula). Gejala yang akan ditimbulkan adalah kelumpuhan (Winslow, 2002).

Keberadaan piretrin pada sinaps akan mengganggu transmitter kimia (*neurotransmitter*) yaitu asetilkolin atau disingkat ACh (Winslow, 2002). Piretrin akan meningkatkan asetilkolin yang selanjutnya menghambat enzim untuk memecah dalam asetilkolin. Asetilkolin berfungsi memberikan sifat permeabilitas pada membran postsinaptik yang menyebabkan perpindahan ion Na^+ sehingga terjadi depolarisasi. Asetilkolin akan segera dihidrolisis oleh enzim asetilkolinesterase yang terdapat dalam jumlah besar pada sinaps. Dengan adanya piretrin, enzim tidak dapat memecah transmitter kimia asetilkolin sehingga asetilkolin akan terus meningkat, akibatnya membran akan kelebihan ion positif. Pada keadaan tersebut, larva nyamuk akan mengalami paralisis dan akhirnya kematian (Winslow, 2002).

Ekstrak daun dan batang sereh (*Cymbopogon nardus*) mempunyai kandungan zat aktif sitronelal, sitronelol, dan geraniol yang dapat digunakan sebagai pengusir nyamuk. Minyak sitronelal juga dapat digunakan sebagai anti bakterial, *anti fungal*, *anti viral*, *cytotoxic*, *anti aflatoxigenic*, parfum, bumbu makanan, aroma pada teh, dan *insect repellent* karena mengandung sitronelal, sitronelol, dan geraniol. Zat sitronelal ini memiliki sifat racun kontak. Sebagai racun kontak, sitronelal dapat menyebabkan kematian akibat kehilangan cairan secara terus menerus sehingga tubuh nyamuk kekurangan cairan (Prasetyowati, 2007). Menurut Sakulku dkk. (2009) dan Fradin (1998) di antara minyak atsiri yang ada, minyak sitronelal adalah yang paling efektif dan berfungsi sebagai repelen selama 2 jam. Minyak sitronelal telah memperlihatkan efikasi yang baik melawan 44 *A. aegypti* pada kisaran konsentrasi dari 0,05% sampai 15% (w/v) atau dalam bentuk kombinasi dengan bahan alam lainnya atau produk komersial repelen serangga.

Parameter pengujian untuk produk obat anti nyamuk bakar dilakukan sesuai Standar Nasional Indonesia obat nyamuk bakar No. SNI 06-3566-1994 yang meliputi berat per pasang, lama bakar, kadar air dan mendatangkan pengaruh terhadap mematikan nyamuk. Obat nyamuk bakar dipasang di dekat kandang uji nyamuk dan pengamatan dilakukan dengan cara menghitung nyamuk yang mati setelah 8 jam.

Hingga saat ini banyak sekali penelitian penggunaan obat nyamuk berbahan insektisida hayati atau bioinsektisida. Seperti yang telah dilakukan antara lain oleh Sari (2012), Wardani (2009), Taslimah (2014) dan Handayani dkk. (2012). Namun dari sekian banyak penelitian yang telah dilakukan belum ada bioinsektisida tersebut yang digunakan sebagai obat nyamuk yang dikomersialisasikan atau digunakan di rumah tangga.

Bertitik tolak dari permasalahan tersebut dan mempertimbangkan peranan obat nyamuk bakar hingga saat ini, pada penelitian ini dibuat obat nyamuk bakar herbal dengan nama “MORIZENA” sebagai salah satu alternatif media yang dapat digunakan untuk menurunkan kasus demam berdarah dengan menurunkan populasi vektornya yaitu *Aedes aegypti*, dengan judul “**Uji Potensi dan Toksisitas Obat Nyamuk Bakar Herbal MORIZENA terhadap Nyamuk *Aedes aegypti* dan Histopatologis Saluran Pernafasan Mencit Jantan (*Mus musculus*)**”.

1.2. Rumusan Masalah

Di Indonesia *A. aegypti* (Linn.) menjadi masalah yang dapat mengganggu kehidupan sehari-harinya karena dapat menyebabkan penyakit demam berdarah dengue (DBD). Untuk mengatasi hal tersebut digunakan obat pembasmi nyamuk, yang termasuk pestisida golongan insektisida. Insektisida yang khusus digunakan untuk memberantas nyamuk biasa disebut dengan obat anti nyamuk. Obat anti nyamuk dapat memberantas nyamuk karena mengandung suatu bahan kimia yang disebut bahan aktif. Bahan aktif tersebut mengatasi nyamuk atau dengan asap obat nyamuk mampu mengusir nyamuk, namun apabila penggunaannya tidak benar akan membahayakan kesehatan manusia, khususnya pada sistem respirasi. Oleh karena itu perlunya membuat obat nyamuk bakar herbal yang mengandung komposisi bahan alami dari tanaman. Berdasarkan latar belakang dan dasar teoritis di atas maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah :

1. Berapakah kadar karbon monoksida (CO) obat nyamuk bakar herbal MORIZENA?
2. Berapakah KdT_{50} *A. aegypti* yang terpapar oleh obat nyamuk bakar herbal MORIZENA?
3. Berapakah LC_{50} obat nyamuk bakar herbal MORIZENA terhadap *A. aegypti*?
4. Berapakah LC_{90} obat nyamuk bakar herbal MORIZENA terhadap *A. aegypti*?
5. Berapakah dosis yang optimal dari obat nyamuk bakar herbal MORIZENA terhadap efektivitas kematian *A. aegypti*?
6. Bagaimanakah mekanisme obat nyamuk bakar herbal MORIZENA terhadap karakter paralisis *A. aegypti* dengan mengetahui tingkatan aktivitas enzim asetilkolinesterase pada *A. aegypti* yang berhubungan dengan *voltage gated sodium channel*?
7. Bagaimanakah sifat toksisitas obat nyamuk bakar herbal MORIZENA terdapat berat badan dan berat paru mencit jantan?
8. Bagaimanakah perubahan histopatologis trakea dan paru mencit jantan yang terpapar oleh obat nyamuk bakar herbal MORIZENA?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan umum

Tujuan umum penelitian ini adalah untuk :

1. Untuk mendapatkan obat nyamuk bakar herbal MORIZENA yang dapat meredam perkembangbiakan *A. aegypti* dan menurunkan angka kematian karena penyakit demam berdarah.
2. Untuk memanfaatkan bahan baku insektisida hayati yaitu daun permot (*Passiflora foetida*), biji bunga krisan (*Chrysanthemum cinareriifolium*) dan daun serta batang sereh (*Cymbopogon nardus*), dimana tanaman ini mudah diperoleh di lingkungan sekitar.

1.3.2. Tujuan khusus

Tujuan khusus penelitian ini adalah :

1. Untuk mengetahui kadar karbonmonoksida (CO) obat nyamuk bakar herbal MORIZENA.
2. Untuk mengetahui efektivitas obat nyamuk bakar herbal MORIZENA dalam pengendalian perkembangbiakan *A. aegypti* (KDT₅₀, LC₅₀ dan LC₉₀).
3. Untuk menentukan dosis yang optimum obat nyamuk bakar herbal MORIZENA yang merupakan kombinasi ekstrak daun permot, ekstrak biji bunga krisan dan minyak atsiri daun-batang sereh.
4. Untuk mengetahui penyebab kematian *A. aegypti* (paralisis) yang terpapar obat nyamuk bakar herbal MORIZENA dengan meningkatnya aktivitas enzim asetilkolinesterase (AchE).
5. Untuk mengetahui penyebab kematian *A. aegypti* (paralisis dan *knockdown*) yang terpapar obat nyamuk bakar herbal MORIZENA melalui *Voltage Gated Sodium Channel* (VGSC).
6. Untuk mengetahui toksisitas penggunaan obat nyamuk bakar herbal MORIZENA terhadap berat badan dan berat paru mencit jantan.
7. Untuk mengetahui toksisitas penggunaan obat nyamuk bakar herbal MORIZENA terhadap perubahan histopatologi saluran pernafasan (trakea dan pulmo) mencit jantan.

1.4. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan memberikan manfaat sebagai berikut :

1. Kepentingan akademis adalah pengembangan keilmuan berhubungan dengan efektivitas obat nyamuk bakar herbal MORIZENA yang merupakan kombinasi tiga tanaman : ekstrak daun permot, ekstrak biji bunga krisan dan minyak atsiri daun-batang sereh dalam pengendalian *A. aegypti*.
2. Kepentingan masyarakat adalah menjadi bahan masukan terhadap kebijakan dan evaluasi terhadap metode pengendalian vektor penyakit demam berdarah yaitu *A. aegypti* di seluruh wilayah Indonesia.
3. Meningkatkan manfaat dan nilai ekonomi daun permot yang selama ini merupakan tanaman sebagai gulma yang kurang bermanfaat.

1.5. Kebaruan Penelitian

Hasil dari penelitian ini adalah obat nyamuk bakar herbal MORIZENA yang selanjutnya dapat dipergunakan oleh masyarakat luas, yang diharapkan efektif berfungsi untuk membunuh vektor penyakit demam berdarah yaitu nyamuk *A. aegypti* dan yang aman digunakan oleh masyarakat setelah melalui uji toksisitas.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Obat Nyamuk

Obat nyamuk didefinisikan sebagai suatu obat atau ramuan pembasmi (pengusir) nyamuk yang dapat berupa cairan yang disemprotkan atau benda padat pipih yang dibakar. Obat nyamuk yang berbentuk elektrik, bakar, oles atau cair mengandung senyawa kimia berbahaya bagi kesehatan manusia. Kandungan bahan kimia berbahaya dalam obat nyamuk diantaranya *dichlorvos*, *propoxur*, *pyrethroid* dan *diethyltoluamide* serta bahan kombinasi dari keempat bahan kimia tersebut. *Pyrethroid* dikelompokkan oleh WHO dalam racun kelas menengah karena efeknya mampu mengiritasi mata dan kulit yang sensitif serta menyebabkan penyakit pernafasan seperti penyakit asma. Pada obat nyamuk, *pyrethroid* yang digunakan berupa *d-allethrin*, *transfluthrin*, *bioallethrin*, *pralethrin*, *d-phenothrin*, *cyphenothrin* atau *esbiothrin* (Soemirat, 2003).

Pada umumnya bahan kimia yang terdapat pada obat nyamuk bakar dengan tingkatan racun menengah adalah transflutrin. Transflutrin adalah salah satu contoh bahan aktif anti nyamuk berbentuk padatan lingkaran berwarna hijau. Anti nyamuk bakar ini diambil khasiatnya melalui asapnya yang menyebar ke seluruh ruangan. Transflutrin relatif aman hingga saat ini. Transflutrin bila dipakai selama empat jam bisa menurunkan kadar eritrosit atau sel darah merah, yang berakibat orang tersebut akan menderita anemia. Transflutrin dianggap sebagai salah satu insektisida piretroid yang cepat bertindak dengan persistensi rendah. Insektisida piretroid memiliki efek yang sangat spesifik pada sel syaraf serangga, sehingga hanya jumlah yang sangat kecil dibutuhkan untuk menghasilkan efek yang diperlukan (WHO, 2002).

S-Bioallethrin adalah suatu insektisida piretroid (obat pembasmi serangga) dengan suatu spektrum aktivitas luas, bereaksi dengan kontak langsung dan mempunyai karakteristik efek *a strong knockdown* (efek langsung jatuh pada serangga), bahan ini aktif pada serangga yang terbang dan merayap khususnya pada nyamuk, lalat, tawon, lipas, kutu, kutu busuk, semut, dan lain lain (WHO, 2002).

D-Allethrin adalah suatu piretroid campuran, merupakan suatu insektisida kontak kuat yang menghasilkan *a strong knock-down* cepat, melawan hama-hama

rumah tangga (lalat, nyamuk, kutu, kecoak). Sedangkan jenis sipernetrin berperilaku sebagai neurotoksin, dan cepat bertindak pada serangga (WHO, 2002).

Deltametrin adalah bahan aktif yang terdapat pada kapur bagus, merupakan salah satu piretroid ester. Piretroid ini memiliki mekanisme menghasilkan racun atau toksin dan menyebabkan kelumpuhan organisme. Zat tersebut menyebabkan kelumpuhan dengan cara menjaga saluran natrium tetap terbuka di membran saraf dari suatu organisme. Sehingga dengan terbukanya saluran natrium tersebut saraf tidak dapat terangsang kembali sehingga menyebabkan kelumpuhan (National Pesticide Information Center, 2010).

Propoxur adalah senyawa karbamat (pernah menewaskan ribuan orang dan menyebabkan kerusakan saraf ratusan ribu orang lainnya dalam kasus Bhopal di India) yang telah dilarang penggunaannya di luar negeri karena diduga kuat sebagai zat karsinogenik. Mekanisme aksi *propoxur* berupa penghambatan enzim asetilkolinesterase. Enzim ini normalnya bertanggung jawab untuk destruksi dari asetilkolin (*neurotransmitter*). Karbamat ini akan menghasilkan kontraksi otot spontan pada serangga yang diikuti oleh kelumpuhan/paralisis. Dalam jangka panjang, orang yang terpapar zat ini akan menurun aktivitas enzim untuk saraf transmisi dan berpengaruh buruk pada hati dan sistem reproduksi. Di Indonesia, penggunaannya belum dilarang. Berdasarkan peringkat bahan kimia berbahaya yang dikeluarkan Organisasi Kesehatan Dunia (WHO), *propoxur* menduduki peringkat kedua sebagai produk berbahaya setelah *dichlorvos* (WHO, 2002).

Bahkan ada juga obat nyamuk yang menggunakan DDVP atau *dichlorvos* yang merupakan zat turunan klorin, yang sejak puluhan tahun dilarang penggunaannya di dunia. Berdasarkan peringkat bahan kimia berbahaya yang dikeluarkan Organisasi Kesehatan Dunia (WHO), *dichlorvos* menduduki peringkat kesatu sebagai produk paling berbahaya. Jika terkena paparan zat ini dalam jangka panjang, menyebabkan kerusakan saraf, mengganggu pernafasan, jantung, sistem reproduksi, dan memicu kanker (Extension Toxicology Network, 1993).

Diethyltoluamide atau DEET, zat ini biasanya ada pada obat anti nyamuk berupa cairan atau *lotion*. Cara kerja DEET adalah akan memanipulasi bau dan rasa yang berasal dari kulit dengan menghambat reseptor asam laktat pada antena nyamuk sehingga mencegah nyamuk mendekati kulit. Selain itu, mekanisme aksinya dengan

cara menghambat aktivitas sistem saraf pusat dan enzimasetilkolinesterase serangga maupun mamalia. Enzim ini terlibat dalam hidrolisis neurotransmitter asetilkolin, sehingga mempunyai peranan penting dalam mengendalikan neuron otot. Oleh karena itu, DEET digunakan untuk memblokir asetilkolinesterase yang mengarah pada akumulasi yang berlebihan asetilkolin pada celah sinaptik yang menyebabkan kelumpuhan dan kematian neuromuskuler karena sesak nafas pada serangga maupun mamalia. DEET ini sangat korosif, obat nyamuk *lotion* ini tidak dapat disimpan dalam wadah plastik PVC atau besi karena dalam hitungan minggu akan mengikis lapisannya. Bahan aktif dalam obat nyamuk ditemukan pada semua jenis obat nyamuk baik pada obat nyamuk bakar, semprot dan elektrik. Bahan aktif ini bersifat membunuh nyamuk meskipun racunnya sama, dosis masing-masing obat nyamuk berbeda satu sama lain. Kandungan bahan aktif yang berbahaya pada obat nyamuk tergantung kadar konsentrasi racun dan jumlah pemakaiannya (Wahyuni, 2005).

Obat nyamuk banyak beredar di pasaran oleh karena harganya yang relatif murah. Dari hasil penelitian pemilihan jenis insektisida dalam rumah tangga yang banyak digunakan berdasarkan kebiasaan (56%) dan paling banyak kedua berdasarkan harga (53%). Keampuannya untuk membasmi nyamuk dengan cepat merupakan bahan pertimbangan bagi masyarakat untuk menggunakan obat nyamuk. Jenis obat nyamuk yang banyak digunakan dalam rumah tangga adalah jenis obat nyamuk bakar (54%) dan jenis semprot (19%) (Runia, 2008).

2.1.1. Obat nyamuk bakar

Obat nyamuk bakar merupakan obat nyamuk yang berbentuk *coil* dan salah satu formulasi obat nyamuk yang menimbulkan asap (*smoke*). *Coil* obat nyamuk bakar ini merupakan campuran antara pestisida, oksidan dan bahan yang mudah terbakar (Ngabekti 1992). Obat nyamuk bakar akan menghasilkan asap yang banyak apabila dibakar.

Obat nyamuk bakar sering digunakan dengan sengaja dalam kehidupan sehari-hari. Selain murah harganya, obat nyamuk bakar juga mudah didapatkan serta cukup efektif dalam membunuh nyamuk. Setiap *coil* obat nyamuk memiliki berat rata-rata 12 gram dan masa pembakaran selama 7,5 sampai 8 jam (Widjayanto, 1997).

Bahan-bahan lain penyusun obat nyamuk bakar adalah bahan-bahan organik, pengikat, pewarna dan zat-zat tambahan lain yang mudah terbakar. Hasil pembakaran dari bahan-bahan tersebut menghasilkan sejumlah besar partikel submikrometer dan polutan dalam bentuk gas. Partikel submikrometer ini dilapisi dengan berbagai senyawa organik, beberapa diantaranya bersifat karsinogen atau yang dicurigai sebagai karsinogen seperti *Polycyclic Aromatic Hydrocarbons* (PAHs) yang dihasilkan melalui pembakaran tidak lengkap biomassa (bahan dasar obat nyamuk bakar) dan dapat mencapai saluran pernafasan bagian bawah. Pembakaran obat nyamuk bakar juga melepaskan berbagai komponen aromatik seperti *benzopyrenes*, *benzo-fluoroethane* (Arifa, 2010).

Partikel dalam asap obat nyamuk bakar dapat berada di permukaan kulit dan menyebabkan iritasi lokal atau reaksi alergi atau bahkan jika terhirup dan terabsorpsi di membran mukosa dari saluran pernafasan atas dan menyebabkan toksisitas sistemik (Meyers dkk., 1976). Partikel dalam obat nyamuk berwarna coklat kehitaman dan diduga mengandung karbon serta insektisida yang tidak teroksidasi. Gas panas dengan kecepatan yang tinggi menyebabkan insektisida bereaksi dengan udara dan sebelum mengalami kondensasi akan menghasilkan asap. Suhu yang tinggi dalam waktu yang singkat dapat menyebabkan pemecahan bahan aktif menjadi minimal (Matthew, 1979).

2.1.2. Obat nyamuk hayati (bioinsektisida)

Bioinsektisida merupakan jenis insektisida hayati baru yang memanfaatkan organisme atau turunannya seperti tumbuhan transgenik, rekombinan *Baculovirus*, gabungan racun dari protein dan lemak yang ramah lingkungan dan merupakan suatu alternatif baru untuk menggantikan bahan kimia konvensional (Windley dkk., 2012). Sedangkan menurut Georgis (1996) bioinsektisida adalah suatu produk yang dihasilkan secara alami oleh organisme seperti jamur dan *Baculovirus*, produk yang dihasilkan oleh serangga seperti feromon dan produk yang dihasilkan oleh tumbuhan seperti *azadirachtin* atau *neem*.

Tujuan dari pengembangan bioinsektisida adalah untuk membantu menanggulangi permasalahan lingkungan terkait dengan persistensi, penggunaan insektisida kimia yang semakin marak, dan menyediakan cara pengendalian baru terhadap serangga hama yang resisten terhadap insektisida. Selain itu bioinsektisida

memiliki potensi untuk meningkatkan kemampuan program pengendalian hama saat ini dengan menunjukkan hubungan yang sinergis dengan teknik pengendalian hama terpadu yang sudah ada (Windley dkk., 2012).

Obat nyamuk hayati atau bioinsektisida merupakan insektisida yang berasal dari tumbuh-tumbuhan yang memiliki sifat insektisida sehingga mampu membunuh atau mengusir serangga hama. Penggunaan bioinsektisida merupakan salah satu alternatif pilihan. Secara alamiah nenek moyang telah mengembangkan bioinsektisida dengan menggunakan tanaman yang ada di lingkungan pemukiman. Nenek moyang memakai bioinsektisida atas dasar kebutuhan praktis dan disiapkan secara tradisional. Tradisi ini akhirnya hilang karena desakan teknologi yang tidak ramah lingkungan (Asmaliyah, 2005).

Kearifan nenek moyang bermula dari kebiasaan menggunakan bahan jamu (empon-empon), tumbuhan bahan racun (gadung, ubi kayu hijau), tumbuhan berkemampuan spesifik (mengandung rasa gatal, pahit, bau spesifik, tidak disukai hewan atau serangga atau tumbuhan lain berkemampuan khusus terhadap hama (biji srikaya, biji sirsak, biji mindi, biji dan daun mimba dan lain-lain). Bahan tumbuhan dijamin aman bagi lingkungan karena cepat terurai di tanah dan tidak membahayakan hewan, manusia dan serangga non target (Margino dkk., 2002; Asmaliyah, 2005).

Beberapa bioinsektisida yang sudah diaplikasikan pada aras petani, penelitian laboratorium dan lapangan diantaranya mimba (*Azadirachta indica*), mindi (*Meia azedarach*), sirsak (*Annona muricata*), tembakau (*Nicotiana tabacum*), jarak (*Ricinus communis*), bawang putih (*Allium sativum*), lombok (*Capsicum frutescens*), piretrum (*Chrysanthemum cinerariaefolium*) dan melakuka (*Melaleuca bracteata*). Sebagian besar bioinsektisida ini dimanfaatkan terhadap hama pada tanaman pertanian sedangkan pada tanaman kehutanan masih terbatas (Kardinan, 2001).

Menurut Kardinan (2001) senyawa aktif yang terdapat dalam tumbuhan dapat digunakan sebagai bioinsektisida. Adapun senyawa aktif dalam bioinsektisida tersebut dapat bersifat sebagai racun kontak, penghambat makan (*antifeedant*), penolak (*repellent*) dan penghambat pertumbuhan serangga (*insect growth inhibitor*).

Efek dari senyawa penghambat pertumbuhan terjadi dalam beberapa tahap : molekul-molekul penghambat pertumbuhan menghambat metamorfosis, dengan kata lain molekul tersebut mencegah metamorfosis pada saat yang tepat. Molekul lain

memaksa serangga untuk bermetamorfosis tidak sesuai untuk serangga tersebut. Selanjutnya beberapa molekul lainnya mempengaruhi hormon yang digunakan untuk bermetamorfosis sehingga serangga akan mengalami malformasi yaitu steril atau mati (Kardinan, 2001).

Penghambat makan (*feeding deterrents*) merupakan salah satu bentuk pemanfaatan turunan dari tumbuhan yang digunakan untuk menanggulangi serangga hama. Penghambat makan adalah senyawa yang menyebabkan serangga tidak mau makan hingga mati. Senyawa yang memiliki sifat seperti ini adalah terpene dan senyawa yang umumnya diisolasi dari tumbuhan obat dari Afrika dan India (Kardinan, 2001).

Penolak (*Repellent*) adalah penggunaan tanaman sebagai penolak serangga sudah lama diketahui namun tidak pernah mendapat perhatian khusus untuk dilakukan pengembangan lebih lanjut. Penggunaan tanaman sebagai repelen umumnya menggunakan tanaman dengan bau yang tidak enak atau memiliki efek iritan seperti bawang putih, cabe dan sereh wangi (Kardinan, 2001).

Insektisida hayati adalah insektisida yang bahan aktifnya berasal dari tumbuhan atau bagian tumbuhan seperti akar, daun, batang atau buah. Insektisida hayati atau bioinsektisida adalah bahan alami yang berasal dari tumbuhan yang mempunyai kelompok metabolit sekunder yang mengandung beribu-ribu senyawa bioaktif seperti alkaloid, fenolik dan zat kimia sekunder lainnya. Senyawa bioaktif tersebut apabila diaplikasikan ke tanaman yang terinfeksi organisme pengganggu tidak berpengaruh terhadap fotosintesis, pertumbuhan atau aspek fisiologi tanaman lainnya, namun berpengaruh terhadap organisme pengganggu tanaman (OPT). Sistem yang berpengaruh pada OPT adalah sistem saraf atau otot, keseimbangan hormon, reproduksi, perilaku, sistem pernafasan dan lain-lain. Senyawa bioaktif ini juga dapat digunakan untuk mengendalikan serangga yang terdapat di lingkungan rumah (Naria, 2005).

Insektisida hayati adalah bahan-bahan alami yang bersifat racun serta dapat menghambat pertumbuhan dan perkembangan, tingkah laku, perkembangbiakan, mempengaruhi hormon, penghambat makan dan dapat menyebabkan kematian organisme pengganggu (Agrios, 1998). Tumbuhan yang dikenal terlebih dahulu berfungsi sebagai bioinsektisida dan telah diproduksi secara komersial di berbagai negara adalah *Chrysanthemum cinerariaefolium* atau dikenal sebagai tanaman

krisanyang memiliki senyawa piretrin (Priyono, 1999). Pada tahun 1945 dilaporkan ada sekitar 1180 spesies tumbuhan yang mengandung racun serangga kebanyakan belum diinvestigasi salah satunya adalah tanaman perdu permot (*Passiflora foetida*) yang sering tumbuh di antara rumput atau alang-alang. Toksisitas dari senyawa kimia tumbuhan bersifat relatif, tergantung dari dosis yang diberikan pada periode waktu tertentu, umur dan kondisi tubuh hewan, mekanisme absorpsi dan model ekskresi (Harborne, 1982).

Insektisida hayati dapat dijadikan sebagai solusi pemecahan masalah penggunaan insektisida sintetik. Hal ini dikarenakan aplikasi insektisida hayati pada umumnya tidak menimbulkan residu sehingga aman bagi kesehatan manusia (Hamijaya dan Asikin, 2005). Naria (2005) menyatakan bahwa senyawa bioaktif yang terdapat pada tanaman dapat dimanfaatkan seperti layaknya insektisida sintetik. Perbedaannya adalah bahan aktif pada insektisida hayati disintesa oleh tumbuhan dan jenisnya dapat lebih dari satu macam (campuran). Bagian tumbuhan seperti daun, buah, bunga, biji, kulit, batang dan sebagainya dapat digunakan dalam bentuk utuh, bubuk ataupun ekstraksi (dengan air, ataupun senyawa pelarut organik). Insektisida hayati dapat dibuat secara sederhana dan kemampuan yang terbatas. Bila senyawa ekstrak ini digunakan di alam, maka tidak mengganggu organisme lain yang bukan sasaran. Kardinan (2005), menyebutkan bahwa penggunaan insektisida hayati merupakan alternatif untuk mengendalikan serangga yang relatif mudah didapat, aman terhadap hewan bukan sasaran, dan mudah terurai di alam sehingga tidak menimbulkan efek samping. Disamping itu, senyawa yang terkandung dalam tumbuhan dan diduga berfungsi sebagai insektisida diantaranya adalah golongan sianida, saponin, tanin, flavonoid, alkaloid, minyak atsiri dan steroid.

Menurut Naria (2005), penggunaan insektisida hayati memiliki beberapa keunggulan antara lain : 1) Insektisida hayati tidak atau hanya sedikit meninggalkan residu pada komponen lingkungan dan bahan makanan sehingga dianggap lebih aman daripada insektisida sintesis/kimia, 2) Zat pestisida dalam insektisida hayati lebih cepat terurai di alam sehingga tidak menimbulkan resistensi pada sasaran, 3) Dapat dibuat sendiri dengan cara yang sederhana. Teknik untuk menghasilkan bahan insektisida hayati dapat dilakukan dengan penggerusan, penumbukan, pembakaran atau pengepresan untuk menghasilkan produk berupa tepung, abu atau pasta. Kemudian

dilakukan perendaman untuk produk ekstrak, selanjutnya ekstraksi dengan menggunakan bahan kimia pelarut disertai perlakuan khusus, 4) Secara ekonomi tentunya akan mengurangi biaya pembelian insektisida.

2.2. Komposisi Obat Nyamuk Bakar MORIZENA

2.2.1. Permot (*Passiflora foetida* L.)

Permot berasal dari Amerika tropis dan subtropis tersebar di seluruh wilayah Indonesia dari dataran rendah hingga ± 700 m di atas permukaan laut (Heyne, 1987). Di Indonesia tumbuh liar di tempat-tempat terbuka yang mendapat cahaya matahari seperti di semak-semak, tanah lapang yang terlantar atau merambat di pagar. Tanaman ini bisa ditemukan pada lebih kurang 1000 m dpl. Terna merambat dengan panjang 1,5 – 5 m ini mempunyai rambut putih, dengan alat pembelit yang duduk pada batang. Daun tunggal, bertangkai dengan panjang 2 – 10 cm, letak berseling, helaian daun bentuknya lebar, dan berlekuk menjari tiga. Ujungnya runcing, pangkal berbentuk jantung, tepi bergelombang, panjang 5-13 cm, lebar 4-12 cm, warnanya hijau. Bunga tunggal, diameter sekitar 5 cm, warnanya hijau. Bunga tunggal, diameter sekitar 5 cm, warnanya putih atau ungu muda. Buahnya buah buni, bulat lonjong, panjang 3-5 cm, dibungkus oleh selaput dan memiliki biji dalam jumlah yang banyak (Gambar 2.1). Berbunga sepanjang tahun, membuka di pagi hari dan menutup sebelum malam. Buah berwarna hijau hingga oranye atau merah (Wagner dkk., 1990).

Menurut Patil dkk. (2013) tanaman permot diklasifikasikan sebagai berikut :

| | |
|----------|-----------------------------------|
| Kerajaan | : Plantae |
| Divisi | : Magnoliophyta |
| Kelas | : Magnoliopsida |
| Bangsa | : Malpighiales |
| Suku | : Passifloraceae |
| Marga | : <i>Passiflora</i> |
| Jenis | : <i>Passiflora foetida</i> Linn. |

Zat yang terkandung dalam tanaman permot antara lain asam hidrosianat dan alkaloid (Wijayakusuma, 1995). Selain itu, tanaman permot juga mengandung flavonoid, harmalin, harmin, harmol, saponin, saponaretin, saponarin, sitosterol,

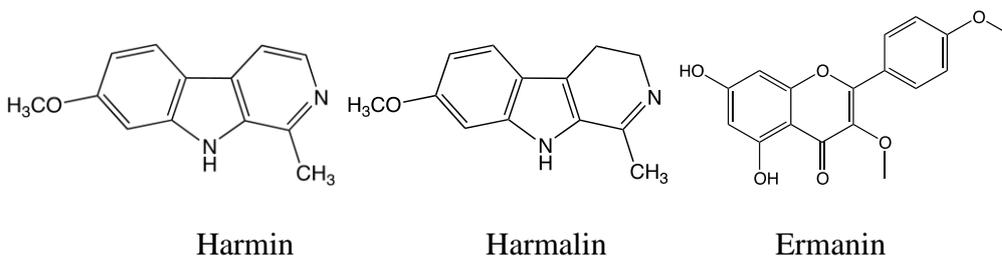
scopoletin, stigmasterol, *passifloracine* (Wolfman dkk., 1984). Permot juga mengandung alkaloid dan setidaknya 10 flavonoid salah satunya adalah ermanin yang menyebabkan kematian pada *nymphalid butterfly Dione juno* (Echeverri dkk., 2001). Jadi ermanin inilah yang dapat menjadi pestisida yang baik untuk membunuh hama dan serangga.



Gambar 2.1. Tanaman permot (*Passiflora foetida*)

Alkaloid, flavonoid dan saponin yang terkandung pada daun permot mampu bekerja sebagai racun pada larva baik sebagai racun kontak maupun racun perut. Alkaloid merupakan komponen aktif dari obat anestesi, sedatif, stimulan, relaksan dan transqulizer. Selain bekerja di sistem saraf, alkaloid juga dapat menyebabkan gangguan sistem pencernaan karena alkaloid bertindak sebagai racun perut yang masuk melalui mulut larva (Soparat, 2010).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Wakhyulianto (2005) flavonoid dapat masuk melalui kutikula yang melapisi tubuh larva sehingga dapat merusak membran sel, oleh karena itu flavonoid dapat digunakan sebagai larvasida.



Gambar 2.2. Struktur molekul komposisi kimia ekstrak daun permot, terdiri dari 3 senyawa utama yaitu harmin (7-methoxy-1-methyl-9H-pyrido [3,4-b]indole), harmalin (4,9-dihydro-7-methoxy-1-methyl-3H-pyrido [3,4-b]indole) dan ermanin (Wolfman dkk., 1984; Echeverri dkk., 2001)

Saponin merupakan senyawa bioaktif sebagai zat toksik termasuk dalam golongan racun kontak karena dapat masuk melalui dinding tubuh larva dan sebagai

racun perut karena dapat masuk melalui mulut larva ketika larva makan. Saponin memiliki sifat seperti deterjen sehingga dinilai mampu meningkatkan penetrasi zat toksik karena dapat melarutkan bahan lipofilik dalam air. Saponin juga dapat mengiritasi mukosa saluran pencernaan dan memiliki rasa pahit sehingga menurunkan nafsu makan larva kemudian larva akan mati karena kelaparan (Novizan, 2002).

2.2.2. Tanaman krisan (*Chrysanthemum cinerariaefolium*)

Krisan (*Chrysanthemum cinerariaefolium*) merupakan tanaman bunga hias berupa perdu dengan sebutan lain seruni atau bunga emas (*golden flower*) yang berasal dari dataran Cina. Pada tahun 1797 bunga krisan dijadikan sebagai simbol kekaisaran Jepang dengan sebutan *Queen of The East* (Reginawanti, 1999).

Tanaman krisan yang berasal dari Cina dan Jepang menyebar ke kawasan Eropa dan Perancis pada tahun 1795. Sejak tahun 1940, bunga krisan dikembangkan secara komersial di seluruh dunia. Daerah sentra produsen bunga krisan di Indonesia antara lain: Cipanas, Cisarua, Sukabumi, Lembang (Jawa Barat), Bandungan (Jawa Tengah), Brastagi (Sumatera Utara) (Reginawanti, 1999).

Tanaman krisan (*Chrysanthemum cinerariaefolium*) merupakan tanaman yang mempunyai potensi untuk dikembangkan dalam skala komersial terutama sebagai tanaman hias dalam pot maupun bunga potong. Tanaman *Chrysanthemum* yang tertua adalah tanaman *Chrysanthemum* Cina yang bentuknya mirip dengan bunga *daisy* di Cina. Tanaman *Chrysanthemum* Cina tersebut telah dibudidayakan sekitar 2500 tahun sebelum diperkenalkan ke Eropa dan sekarang bunga ini telah banyak ditanam di negara barat dan Eropa, bahkan tanaman krisan ini diangkat menjadi bunga nasional negara Jepang. Tanaman krisan masih tergolong ke dalam famili yang sama dengan bunga aster dan *daisy*, yaitu famili *Asteraceae*. Bentuk daun krisan (*Chrysanthemum morifolium*), khususnya pada bagian tepinya tampak bercelah dan bergerigi. Daun tersebut tersusun secara berselang-seling pada cabang atau batangnya. Batang tanaman krisan tumbuh tegak, berstruktur lunak, dan berwarna hijau. Namun demikian, jika dibiarkan tumbuh terus maka batang pun akan menjadi keras berkayu dan warnanya menjadi hijau kecoklat-coklatan. Akar dari tanaman krisan juga dapat menyebar ke semua arah dengan kedalaman 30 cm hingga 40 cm. Akarnya mudah mengalami kerusakan akibat pengaruh lingkungan yang kurang baik. Misalnya, keadaan pengairan yang jelek, kandungan unsur

aluminium dan mangan dalam tanah yang tinggi dan tanah yang terlalu masam atau pH rendah. Bunga krisan memiliki banyak variasi kelopak, yaitu tunggal dan bertumpuk dengan ukuran kecil hingga ukuran sangat besar. Bunga krisan tumbuh tegak pada ujung tanam dan tersusun dalam tangkai (tandan) berukuran pendek sampai panjang. Bunga krisan memiliki berbagai bentuk yang menarik. Bunganya beraneka ragam dan dapat dikelompokkan menjadi beberapa golongan sebagai berikut : 1) Tunggal, pada setiap tangkai hanya memiliki satu kuntum bunga. Piringan dasar bunganya sempit dan susunan mahkota bunganya hanya satu lapis, 2) Anemon, helai bunganya berbentuk lebar, sekilas mirip dengan bunga tunggal. Namun, piringan dasar bunganya lebih tebal dan lebih lebar, 3) Besar, di setiap tangkainya hanya terdapat satu kuntum. Tetapi ukurannya besar yaitu dapat mencapai 10 cm. Oleh karena itu, piringan dasar tidak kelihatan. Mahkota bunganya memiliki banyak variasi, antara lain melekok ke dalam atau ke luar. Pipih, panjang, berbentuk sendok, dan lain-lain, 4) Pompon, karakteristik bentuk bunga pompon adalah bulat mirip bola. Mahkota bunga menyebar kesegala penjuru. Piringan dasar dari mahkota tidak tampak, 5) Dekoratif, penampilan bunga krisan ini memang sangat dekoratif. Bunganya berbentuk bulat seperti bola. Mahkota bunganya bertumpuk-tumpuk rapat, di tengah pendek dan semakin ke tepis semakin panjang. Piringan dasar bunga tidak tampak. Berkat teknik *disbudding*, jumlah kuntum bunga dibuat hanya satu yang kemudian dikenal dengan krisan standar atau krisan tunggal. Contohnya, krisan *shamrock*, *dark red pompon*, *Regal mist* dan *Borholm* (Patil dkk., 2013)

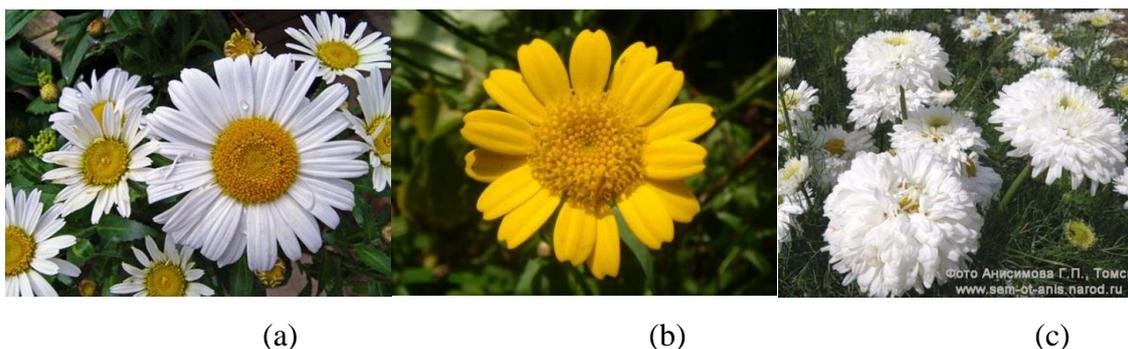
Berdasarkan kuntum bunganya, krisan pun ternyata juga memiliki karakter masing-masing. Antara lain sebagai berikut : 1) *Spray*, setiap tangkai memiliki sekitar 10 hingga 20 kuntum bunga. Namun, ukuran diameternya kecil-kecil, yaitu sekitar 2 – 3 cm. Contoh krisan jenis *spray* antara lain krisan Puma, Granada, Salmon, Klondike, dan sebagainya, 2) Standar, setiap tangkai memiliki 1 kuntum bunga dan biasanya berukuran besar. Selain aneka bentuk bunga tersebut, dikenal pula bentuk (tipe) bunga yang lain, antara lain : *spoon*, bunga krisan yang helainya berbentuk seperti sendok serta *spider*, yang helai bunganya berbentuk ramping dan seolah-olah seperti laba-laba, 3) *Quill*, yang helainya berbentuk seperti bulu ayam, 4) *Incurve*, yang helainya melengkung ke dalam, tersusun rapat, dan membentuk kepal membulat, 5) *Lacinated*, helai bunganya berbentuk langsing dengan ujung terbelah tetapi saling

melekuk membentuk tabung, 6) *Hairy*, bentuk helainya menyerupai rambut, 7) *Thistle*, helai bunganya ramping, menggulung, namun bagian ujungnya tetap membukasehingga mirip lubang kecil, 8) *Cascade*, helai bunganya panjang dan menjuntai, 9) *Japanese*, helai bunganya panjang dan menyebar ke semua arah, 10) *Ekhebisi*, bunganya berbentuk bulat besar dengan helai bunga menyebar ke segala arah, 11) *Reflex*, helai bunga melengkung ke luar, 12) *Reflexing incurve*, helai bunganya berbentuk mirip dengan *incurve* tetapi lebih melekuk (Patil dkk., 2013).

Ciri-ciri dari krisan standar lokal antara lain: 1) Jumlah bunga 2 – 3 kuntum/tangkai, 2) Diameter bunga antara 12 – 15 cm, 3) Panjang tangkai bunga antara 70 – 80 cm, 4) Mekar bunga kurang kompak, 5) Bunganya hanya berwarna kuning dan putih, 6) Tidak bebas dari serangan hama dan penyakit, 7) Kesegaran bunga tidak lama, yaitu hanya mencapai 5 hari (Patil dkk., 2013).

Tanaman hias krisan dapat menjadi tanaman musiman (*annual*) jika siklus hidupnya hanyasampai bunga dan dapat menjadi tanaman tahunan jika selama hidupnya dapat memanen bunga berkali-kali. Jenis-jenis yang merupakan jenis paling digemari *Chrysanthemum cinerariaefolium*, *Chrysanthemum segetum*, *Chrysanthemum inodorum* serta jenis- jenis krisan bercabang.

Bunga *Chrysanthemum cinerariaefolium* berbentuk cakram yang memiliki tiga warna melingkar dengan pusatnya berwarna gelap. Warna bunganya beragam. Perbanyakan melalui biji dapat tumbuh rata-rata 2 minggu setelah disemaikan.



Gambar 2.3. Jenis-jenis bunga krisan (a) *Chrysanthemum cinerariaefolium*, (b) *Chrysanthemum segetum* (c) *Chrysanthemum inodorum* (Reginawanti, 1999)

Bunga krisan dikenal dengan nama *Chrysantemum*, berasal dari bahasa Yunani yang mempunyai arti kuning megah. Tanaman krisan memiliki klasifikasi sebagai berikut :

| | |
|----------|---|
| Kerajaan | : Plantae |
| Divisi | : Spermatophyta |
| Kelas | : Dicotyledonae |
| Bangsa | : Asterales |
| Suku | : Asteraceae |
| Marga | : <i>Chrysanthemum</i> |
| Jenis | : <i>Chrysanthemum cinerariaefolium</i> |

Menurut Ketaren (1985) mutu minyak atsiri yang dihasilkan dari proses ekstraksi dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu jenis tanaman dan umur panen, perlakuan bahan sebelum ekstraksi, metode ekstraksi, jenis peralatan, dan kondisi proses ekstraksi, perlakuan terhadap minyak atsiri setelah ekstraksi serta pengemasan dan penyimpanan.

Bunga krisan dapat diekstraksi menggunakan proses enflourasi dan ekstraksi dengan pelarut menguap. Meskipun rendemen minyak yang dihasilkan dengan ekstraksi pelarut menguap lebih kecil, tetapi bau minyak yang dihasilkan menyamai bau minyak bunga dari tanaman penghasilnya. Ekstraksi bunga kurang menguntungkan bila dilakukan dengan penyulingan karena rendemen minyak yang dihasilkan rendah dan aroma kurang wangi (Guenther, 1988).

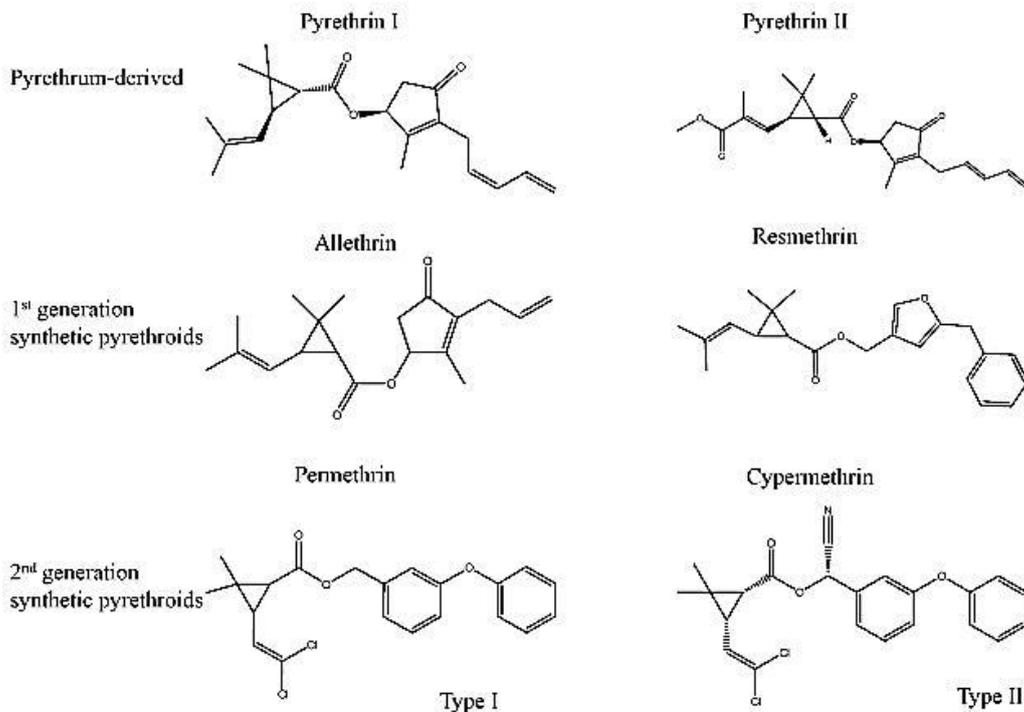
Tanaman krisan berpotensi untuk dimanfaatkan sebagai tumbuhan obat tradisional dan penghasil racun serangga. Heyne (1987) menyatakan bahwa bunga krisan termasuk salah satu jenis tumbuhan yang mengandung bahan insektisida nabati yang dikenal sangat efektif dan daya bunuhnya cepat.

Mutu minyak atsiri yang mengandung bahan bioaktif dipengaruhi oleh proses pengolahan, penyimpanan, dan tingkat ketuaan panen dari bahan bakunya. Untuk memperoleh mutu minyak atsiri yang tinggi maka bunga dipanen setelah betul-betul tua (Hobir, 1990).

Karakteristik mutu krisan berbeda pada derajat kemekaran bunga yang berbeda (Dwiatmini dkk., 1994). Larutan penyegar *pulsing and holding* yang mudah digunakan, murah dan efektif akan memberikan nilai tambah dan diversifikasi pemanfaatan bunga krisan harus semakin dikembangkan, dan dapat diserap oleh konsumen seperti pemanfaatan bioaktif untuk industri (Sutater dkk., 1993; Head, 1973). Oleh karena itu,

teknik ekstraksi yang tepat dan diketahuinya komponen fragrans minyak atsiri dari jenis bunga krisan yang nonkomersial dapat dimanfaatkan (Bramwell dkk., 1969).

Bunga krisan jenis standart yang berwarna kuning yang dipetik pada derajat kemekaran 75% mempunyai kadar piretrin yang paling tinggi yaitu 0,035 μL dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Piretrin adalah bahan kimia yang bertanggungjawab terhadap komposisi kimia fragrans yang bersifat bioaktif yaitu dapat menghalau serangga dan berfungsi sebagai penyegar ruangan seperti cinerin dan jasmolin. Piretrin mengandung cinerindan jasmolin sehingga kalau kadar piretrin tinggi berarti kadar *cinerin* dan jasmolin juga tinggi. Maka sifat *relaxtan* dari bahan kimia tersebut terhadap serangga dan sifatnya sebagai bahan penyegarpun adalah baik.



Gambar 2.4. Struktur molekul piretrin dan turunannya (Sutater dkk., 1993; Head, 1973)

Bunga krisan yang dipetik pada derajat kemekaran 75% ternyata mengandung kadar jasmolinpaling tinggi dibandingkan apabila dipetik pada derajat kemekaran yang lebih awal (Head, 1973). Bunga dengan derajat kemekaran lebih besar akan menghasilkan minyak atsiri fragrans yang lebih tinggi, karena mahkota yang membuka lebih lebar akan membuka peluang pori-pori lebih banyak menghisap udara untuk respirasi, sehingga biosintesis piretrin terjadi lebih cepat dan kadarnya lebih tinggi.

Bunga krisan standart yang dipetik pada derajat kemekaran 75% mempunyai nilai aroma tertinggi. Hal ini berarti bahwa warna kuning dari krisan tunggal mempunyai metabolit lemak yang paling tinggi sehingga sintesis asam lemak menjadi piretrin adalah yang tertinggi. Piretrin merupakan komponen utama dari minyak atsiri krisan (Zito dan Crispina, 1990).

2.2.3. Tanaman serih wangi (*Cymbopogon nardus*)

Tanaman serih dibagi menjadi tiga jenis yaitu serih wangi (*Cymbopogon nardus*), serih dapur(*Cymbopogon flexuosus*) dan rumput palmarosa (*Cymbopogonmartini*).Serih wangiadalah tumbuhan anggota suku rumput-rumputan yangdimanfaatkan sebagaibumbu dapur untuk mengharumkan makanan. Minyak serih adalah minyak atsiri yang diperoleh dengan jalan menyuling bagian atas tumbuhan tersebut. Minyak serih dapat digunakan sebagai pengusir (repelen) nyamuk, baik berupa tanaman ataupun berupa minyaknya.



Gambar 2.5. Jenis-jenis tanaman serih wangi antara lain *Cymbopogon citratus*,*Cymbopogon winterianus*dan *Cymbopogon nardus*

Secara umum, serih dibagi menjadi 2 jenis yaitu serih dapur (*lemongrass*) dan serih wangi (*citronellal*). Keduanya memiliki aroma yang berbeda. Minyak serih yang selama ini dikenal di Indonesia merupakan minyak serih wangi (*citronellal oil*) yang biasanya terdapat dalam komposisi minyak tawon dan minyak gandapura (Ketaren, 1985).

Minyakserih wangi telah dikembangkan di Indonesia dan minyak atsirinya sudah diproduksi secara komersial dan termasuk komoditas ekspor. Sedangkan minyak serih dapur (*lemongrass oil*) belum pernah diusahakan secara komersial. Dari segi komposisi kimia, keduanya memiliki komponen utama yang berbeda. Serih wangi kandungan utamanya adalah sitronelal sedangkan serih dapur adalah sitral (Ketaren, 1985).

Serih dapur terbagi menjadi 2 varietas yaitu serih*flexuosus*(*Cymbopogon flexuosus*) dan serih*citratatus* (*Cymbopogon citratatus*). Dalam dunia perdagangan minyak atsiri, minyak serai *flexuosus* disebut sebagai *East Indian lemongrass oil* (minyak serih dapur India Timur). Sedangkan serih *citratatus* dikenal dengan *West Indian lemongrass oil* (minyak serai dapur India Barat). Keduanya dapat tumbuh subur di Indonesia meskipun yang terbanyak adalah jenis *West Indian*. Perbedaan yang sangat jelas dari keduanya terletak pada sifat-sifat minyak atsiri yang dihasilkan. Minyak serih India Timur lebih berharga dari pada India Barat, terutama karena kandungan sitralnya yang lebih tinggi (Ketaren, 1985).

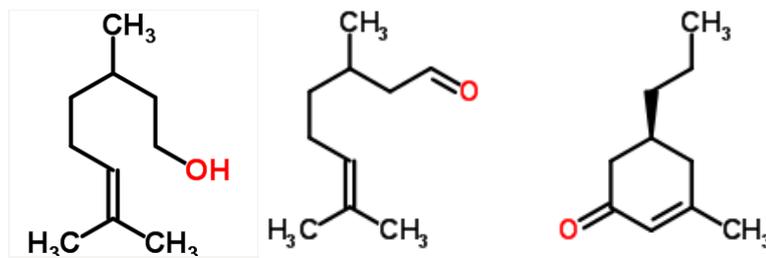
Tanaman serih wangi dapat digunakan secara keseluruhan yaitu bagian akar, batang, daun, bunga, buah maupun bijinya. Tanaman serih memiliki akar yang besar. Akarnya merupakan jenis akar serabut yang berimpang pendek. Batang tanaman serih bergerombol dan berumbi, serta lunak dan berongga. Isi batangnya merupakan pelepah umbi untuk pucuk dan berwarna putih kekuningan. Tanaman serih memiliki batang yang berwarna putih. Namun ada juga yang berwarna putih keunguan atau kemerahan. Selain itu, batang tanaman serih juga bersifat kaku dan mudah patah. Batang tanaman ini tumbuh tegak lurus di atas tanah. Daun tanaman serih berwarna hijau dan tidak bertangkai. Daunnya kesat, panjang, dan runcing hampir menyerupai daun lalang. Selain itu, daun tanaman ini memiliki bentuk seperti pita yang makin ke ujung makin runcing dan berbau *citrus* ketika daunnya diremas. Daunnya juga memiliki tepi yang kasar dan tajam. Tulang daun tanaman serih tersusun sejajar. Letak daun pada batang tersebar. Panjang daunnya sekitar 50-100 cm sedangkan lebarnya kira-kira 2 cm. Daging daun tipis serta pada permukaan dan bagian bawah daunnya berbulu halus (Ketaren, 1985).

Tanaman serih jenis *Cymbopogon nardus* jarang sekali memiliki bunga. Kalaupun ada pada umumnya bunganya tidak memiliki mahkota dan mengandung bulir.

Tanaman sereh jenis *Cymbopogon nardus* jarang sekali atau bahkan tidak memiliki buah. Disamping itu, tanaman sereh jenis *Cymbopogon nardus* juga jarang sekali memiliki biji (Ketaren,1985).

Klasifikasi tanaman sereh wangi seperti yang dikutip dalam Ketaren (1985) adalah:

Kerajaan : Plantae
 Divisi : Magnoliophyta
 Kelas : Liliopsida
 Bangsa : Poales
 Suku : Poaceae
 Marga : *Cymbopogon*
 Jenis : *Cymbopogon nardus*



Sitronelol Sitronelal Geraniol

Gambar 2.6. Struktur molekul komposisi kimia distilat daun dan batang sereh yang terdiri dari 3 senyawa utama yaitu sitronelol, sitronelal dan geraniol (Ketaren,1985)

Distilat daun dan batangsereh (*Cymbopogon nardus*) mempunyaikandungan zat aktif sitronelal, sitroneloldan geraniolyang dapat digunakanebagai penangkal atau pengusir nyamuk.Minyak sereh wangi dapat diperoleh melalui proses distilasi uap. Rendemen minyak sereh wangi menurut Pandia dkk. (2008) yang dikutip dari Hambali (2012) adalah 0,94% dengan kadar sitronelal 44,59%. Adapun menurut Sastrohamidjojo (2004) rendemen minyak sereh wangi dengan distilasi uap adalah 0,33% dengan kandungan geraniol 39,9% dan hasil distilasi air adalah 0,32% dengan kandungan geraniol 33,7%.

Minyak sereh wangi mengandung berbagai minyak atsiri diantaranya senyawa sitronelal sekitar 32-45%, geraniol 10-12%, sitronelol 11-15%, geraniol asetat 2-4% dan sedikit mengandung seskuiterpen serta senyawa lainnya. Komponen utama minyak

sereh wangi adalah sitronelal dan geraniol yang masing-masing mempunyai aroma yang khas dan melebihi keharuman minyak sereh sendiri (Ketaren, 1985; Daswir dan Indra, 2006). Sitronelal dan geraniol bersifat insektisidal sehingga dapat dimanfaatkan sebagai insektisida nabati. Minyak sitronelal yang terdapat pada tanaman sereh wangi juga telah diteliti memiliki khasiat sebagai insektisida dan digunakan untuk mengendalikan nyamuk (Kardinan, 2005). Komposisi komponen kimia minyak sereh wangi ditunjukkan oleh Tabel 2.1 di bawah ini.

Tabel 2.1. Komponen minyak sereh wangi (Ketaren, 1985)

| Komponen minyak sereh wangi | Kadar (%) |
|------------------------------------|------------------|
| Sitronelal | 32 – 45 |
| Geraniol | 12 – 18 |
| Sitronelol | 12 – 15 |
| Geraniol asetat | 3 – 8 |
| Sitronelil asetat | 2 – 4 |
| L – limonen | 2 – 5 |
| Elemol dan seskuiterpen lain | 2 – 5 |
| Elemen dan kadinen | 2 – 5 |

Harris (1987) menyatakan bahwa sitronelal bersifat racun dehidrasi (*desiccant*) saat kontak dengan serangga dan mati akibat kehilangan cairan terus menerus. Mutschler (1991) yang dikutip oleh Hambali (2012) menerangkan bahwa mekanisme kerja racun kontak sitronela adalah menghambat enzim asetilkolinesterase sehingga terjadi fosforilasi asam amino serin pada pusat asteratik enzim bersangkutan. Gejala keracunannya timbul karena adanya penimbunan asetilkolin yang menyebabkan gangguan sistem saraf pusat, kejang, kelumpuhan pernafasan dan kematian.

Secara umum, minyak sereh wangi digunakan dalam produk anti serangga berkisar antara 0,05% dan 15% (Barnard dan McCulloch, 2000). Wahyuningtyas (2004) menyatakan bahwa minyak sereh wangi pada konsentrasi 2,5% dapat menolak *Aedes aegypti*. Kiswanti (2009) dalam Hambali (2012) telah melakukan uji efikasi produk gel penolak nyamuk terhadap 24 ekor *Culex quinquefasciatus*, hasil penelitiannya menunjukkan jumlah nyamuk yang jatuh setelah 6 jam dan dinyatakan mati pada konsentrasi sereh wangi 10% adalah 26,67%; pada konsentrasi 15% adalah 52% dan pada konsentrasi 20% mencapai 60%.

Hasil penelitian Sukma (2009) yaitu obat nyamuk elektrik berbahan aktif minyak sereh wangi memiliki efektivitas sebagai anti nyamuk *A. aegypti* dengan LC₉₀ adalah $25,63 \pm 2,30\%$. Artinya 90% nyamuk yang mati dari 25 ekor nyamuk yang diuji disebabkan oleh konsentrasi minyak sereh wangi sebesar 25,63%. Selain itu, hasil penelitian Pandia dkk. (2008) yang dikutip Hambali (2012) menunjukkan bahwa minyak sereh wangi dapat membunuh 8 dari 10 *A. aegypti* selama pengamatan 30 menit. Hal ini dilakukan dengan cara menyemprotkan 10% minyak sereh wangi yang dicampurkan dalam air. Rondonuwu dan Langi (2006) yang dikutip Hambali (2012) menyatakan bahwa pada konsentrasi minyak sereh wangi 0,25% cukup untuk membunuh larva *Aedes* sp. dan dapat mencegah nyamuk bertelur serta memiliki daya penolakan dalam radius kurang dari 1 m.

2.3. Nyamuk *A. aegypti*

Nyamuk (Diptera: *Culicidae*) merupakan vektor beberapa penyakit baik pada hewan maupun manusia. Banyak penyakit pada hewan dan manusia dalam penularannya mutlak memerlukan peran nyamuk sebagai vektor dari agen penyakitnya, seperti filariasis dan malaria. Sebagian spesies nyamuk dari genus *Anopheles* dan *Culex* yang bersifat zoofilik berperan dalam penularan penyakit pada binatang dan manusia tetapi ada juga spesies nyamuk antropofilik yang hanya menularkan penyakit pada manusia. Salah satu penyakit yang mempunyai vektor nyamuk adalah demam berdarahdengue (Sudarmaja dan Mardihusodo, 2009).

Penyakit demam berdarah dengue (DBD) yang ditularkan oleh nyamuk *A. aegypti* merupakan salah satu masalah kesehatan lingkungan yang cenderung meningkat jumlah penderita dan semakin luas daerah penyebarannya yaitu sejalan dengan meningkatnya mobilitas dan kepadatan penduduk (Supartha, 2008; Yudhastuti dan Vidiyani, 2005). Menurut WHO tahun 2006 Indonesia pernah mengalami kasus terbesar (53%) DBD pada tahun 2005 di Asia Tenggara yaitu 95270 kasus dan kematian 1298 orang (CFR = 1,36 %) (Supartha, 2008). Penyebaran penyakit DBD di suatu kawasan harus dikontrol sehingga penyakit tersebut mendapat penanganan yang tepat. Salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk mengontrol penyebaran penyakit yaitu dengan melakukan pemetaan vektor penyakit tersebut. Belum ditemukannya obat dan vaksin untuk mengatasi penyakit DBD mengakibatkan cara pencegahan melalui

pemutusan rantai penularan dengan mengendalikan populasi vektor penyakit menjadi penting (Lestari dkk., 2010).

2.3.1. Klasifikasi *A. aegypti*

Klasifikasi *A. aegypti* menurut Thomson (2005) adalah sebagai berikut :

| | |
|---------|---------------------|
| Kingdom | : Animalia |
| Filum | : Arthropoda |
| Kelas | : Insekta |
| Bangsa | : Diptera |
| Suku | : Culicidae |
| Marga | : <i>Aedes</i> |
| Jenis | : <i>A. aegypti</i> |

Aedes mempunyai 1162 spesies dan 100 spesies.

2.3.2. Morfologi *A. aegypti*

Menurut Gillot (2005) *A. aegypti* (Diptera : *Culicidae*) disebut *black-white mosquito* karena tubuhnya ditandai dengan pita atau garis-garis putih keperakan di atas dasar hitam. Panjang badan nyamuk ini sekitar 3-4 mm dengan bintik hitam dan putih pada badan dan kepalanya, dan juga terdapat cincin putih pada bagian kakinya. Di bagian dorsal dari toraks terdapat bentuk bercak yang khas berupa dua garis sejajar di bagian tengah dan dua garis lengkung ditepinya. Bentuk abdomen nyamuk betinanya lancip pada ujungnya dan memiliki *cerci* yang lebih panjang daripada nyamuk-nyamuk lainnya. Ukuran tubuh nyamuk betinanya lebih besar dibandingkan nyamuk jantan (Gillot, 2005).



Gambar 2.7. Ciri-ciri khusus *A. aegypti* dan *A. albopictus* (Gillot, 2005)

2.3.3. Siklus hidup *A. aegypti*

Siklus hidup *A. aegypti* sejak telur hingga menjadi nyamuk dewasa sama dengan serangga yang lain termasuk ordo Diptera yang mengalami tingkatan (stadium) yang berbeda-beda (mengalami metamorfosis lengkap). Dalam siklus hidup nyamuk terdapat 4 stadium yaitu stadium telur, larva, pupa dan dewasa. Waktu yang diperlukan untuk pertumbuhan dari telur menjadi dewasa di laboratorium yang bersuhu 27°C dan kelembaban udaranya 80%, kurang lebih 10 hari. Stadium dewasa sebagai nyamuk hidup di alam bebas, sedang ketiga stadium hidup dan berkembang di dalam air.

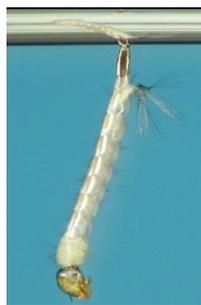
Menurut Herms (2006), telur *A. aegypti* berbentuk elips atau oval memanjang, berwarna hitam berukuran $\pm 0,08$ mm, berbentuk seperti sarang tawon dan tidak memiliki alat pelampung (Herms, 2006; Wakhyulianto, 2005). *A. aegypti* akan meletakkan telurnya satu per satu di tempat yang berair. Air dalam hal ini merupakan faktor utama, oleh karena itu tanpa air telur tidak akan tumbuh dan berkembang. Dalam keadaan kering telur akan cepat kering dan mati, meskipun ada beberapa nyamuk yang telurnya dapat bertahan hidup dalam waktu lama meskipun dalam lingkungan tanpa air. *A. aegypti* betina dapat menghasilkan hingga 100 telur apabila telah menghisap darah manusia. Telur pada tempat kering (tanpa air) dapat bertahan sampai 6 bulan. Telur-telur ini kemudian akan menetas menjadi jentik setelah sekitar 1-2 hari terendam air.



Gambar 2.8. Struktur telur *A. aegypti* (Herms, 2006)

Menurut Herms (2006) larva *A. aegypti* mempunyai ciri khas antara lain mempunyai corong udara pada segmen yang terakhir, pada segmen abdomen tidak ditemukan adanya rambut-rambut berbentuk kipas (*Palmatus hairs*), pada corong udara terdapat *pectin*. Sepasang rambut serta jumbai akan dijumpai pada corong (*siphon*), pada setiap sisi abdomen segmen ke delapan terdapat *comb scale* sebanyak 8-21 atau berjajar 1 sampai 3. Bentuk individu dari *comb scale* seperti duri. Pada sisi *thorax* terdapat duri yang panjang dengan bentuk kurva dan adanya sepasang rambut di kepala

(Wakhyulianto, 2005). Larva ini tubuhnya langsing, bergerak sangat lincah bersifat fototaksis negatif dan pada waktu istirahat membentuk sudut hampir tegak lurus dengan permukaan air. Larva menuju ke permukaan air dalam waktu kira-kira setiap $\frac{1}{2}$ - 1 menit untuk mendapatkan oksigen untuk bernafas. Untuk perkembangan stadium larva memerlukan tingkatan-tingkatan pula, antara tingkatan yang satu dengan tingkatan lainnya bentuk dasarnya sama. Selama stadium larva dikenal empat tingkatan yang masing-masing tingkatan dinamakan instar. Setelah telur menetas tumbuh menjadi larva yang disebut larva stadium 1 (instar I). Instar I berukuran paling kecil yaitu 1-2 mm. Kemudian larva instar I ini melakukan tiga kali pengelupasan kulit (*ecdysis* atau *moulting*) berturut-turut menjadi larva instar II, III dan larva instar IV. Instar II berukuran 2,5-3,8 mm, instar III lebih besar sedikit dari larva instar II, dan instar IV berukuran paling besar yaitu 5 mm. Untuk larva nyamuk instar I, II, III dan IV bulu-bulu sudah lengkap sehingga untuk identifikasi larva diambil larva instar IV. Larva stadium 4 berukuran 7x4 mm, mempunyai pelana yang terbuka, bulu sifon satu pasang dan gigi sisir yang berduri lateral. Dalam air di wadah, larva *A. aegypti* bergerak sangat lincah dan aktif dengan memperlihatkan gerakan-gerakan naik ke permukaan air dan turun ke dasar wadah secara berulang-ulang. Stadium larva memerlukan waktu kurang lebih satu minggu (6 – 8 hari) dan kemudian berubah menjadi pupa. Pertumbuhan dan perkembangan larva dipengaruhi beberapa faktor, diantaranya adalah temperatur, cukup tidaknya bahan makanan, ada tidaknya predator dalam air, pH air 5,8 – 8,6 dan seterusnya.



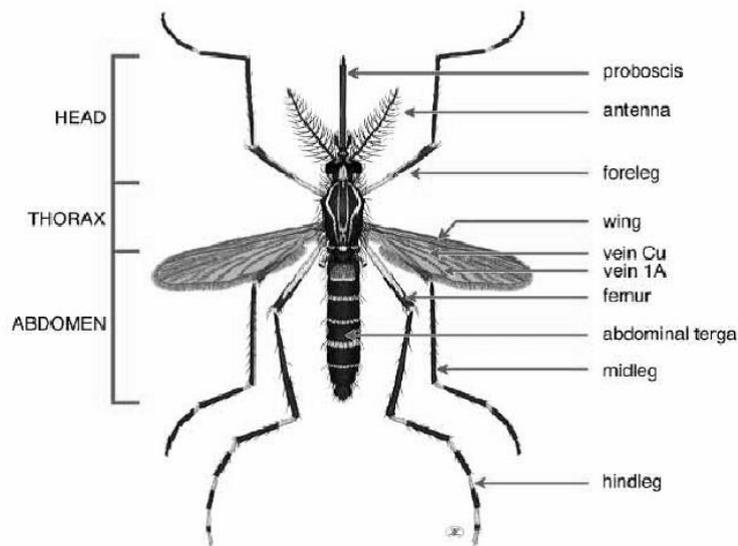
Gambar 2.9. Struktur larva *A. aegypti* (Herms, 2006)

Pupa adalah stadium akhir dari nyamuk yang berada di dalam air. Pupa nyamuk berbentuk seperti koma, kepala dan dadanya bersatu dilengkapi sepasang terompet pernafasan. Stadium pupa tidak memerlukan makanan dan merupakan stadium dalam keadaan inaktif. Pada stadium ini terjadi pembentukan sayap sehingga setelah cukup

waktunya nyamuk yang keluar dari kepompong dapat terbang. Meskipun stadium pupa dalam keadaan inaktif, bukan berarti tidak ada proses kehidupan. Pupa tetap memerlukan oksigen. Oksigen masuk ke dalam tubuh melalui corong nafas. Stadium pupa memakan waktu kurang lebih 1 – 2 hari, dari pupa akan muncul nyamuk dewasa. Jadi total siklus dapat diselesaikan dalam waktu 9 – 12 hari.



Gambar 2.10. Struktur pupa *A. aegypti* (Herms, 2006)



Gambar 2.11. Struktur nyamuk dewasa *A. aegypti* (Herms, 2006)

Dari pupa akan keluar nyamuk dewasa. Berdasarkan jenis kelaminnya nyamuk dapat dibedakan aats nyamuk jantan dan betina. Nyamuk jantan keluar lebih dahulu dari nyamuk betina. Setelah nyamuk jantan keluar maka jantan tersebut tetap tinggal di dekat sarang. Kemudian setelah jenis yang betina keluar maka jantan akan mengawini betina sebelum betina tersebut mencari darah. Betina yang telah kawin akan beristirahat 1 – 2hari kemudian baru mencari darah. Setelah perut penuh darah makainduk betina akan beristirahat lagi untuk menunggu proses pemasakan dan pertumbuhan telur. Nyamuk betina mencari darah untuk memenuhi kebutuhan zat putih telur yang

diperlukan. Waktu yang dibutuhkan untuk menunggu proses perkembangan telurnya berbeda-beda tergantung pada beberapa faktor diantaranya temperatur, kelembaban serta spesies dari nyamuk.

2.3.4. Perilaku *A. aegypti*

Bionomik vektor meliputi kesenangan tempat perindukan nyamuk, kesenangan nyamuk menggigit, kesenangan nyamuk istirahat, lama hidup dan jarak terbang. Tempat perindukan nyamuk biasanya berupa genangan air yang tertampung disuatu tempat atau bejana. *A. aegypti* tidak dapat berkembangbiak digenangan air yang langsung bersentuhan dengan tanah. Genangan yang disukai sebagai tempat perindukan nyamuk berupa genangan air yang tertampung di suatu wadah yang disebut kontainer atau tempat penampungan air bukan genangan air di tanah (Departemen Kesehatan RI, 2007). Survei yang telah dilakukan di beberapa kota di Indonesia menunjukkan bahwa tempat perindukan yang paling potensial adalah tempat penampungan air (TPA) yang digunakan sehari-hari seperti drum, tempayan, bak mandi, bak WC, ember dan sejenisnya. Tempat perindukan tambahan adalah disebut non-TPA seperti tempat minuman hewan, vasbunga, perangkap semut dan lain-lainnya, sedangkan TPA alamiah seperti lubang pohon, lubang batu, pelepah daun, tempurung kelapa, kulit kerang, pangkal pohon pisang, potongan bambu dan lain-lainnya (Departemen Kesehatan RI, 2007). *A. aegypti* lebih tertarik untuk meletakkan telurnya pada TPA berair yang berwarna gelap, menyukai warna hitam, terbuka lebar, dan terutama terletak di tempat-tempat terlindung sinar matahari langsung. Tempat perindukan *A. aegypti* yaitu tempat di mana *A. aegypti* meletakkan telurnya, terdapat di dalam rumah (*indoor*) maupun di luar rumah (*outdoor*). Tempat perindukan yang ada di dalam rumah yang paling utama adalah tempat-tempat penampungan air seperti bak mandi, bak air WC, tandon air minum, tempayan, gentong tanah liat, gentong plastik, ember, drum, vas tanaman hias, perangkap semut, dan lain-lain. Sedangkan tempat perindukan yang ada di luar rumah (halaman) seperti drum, kaleng bekas, botol bekas, ban bekas, pot bekas, pottanaman hias yang terisi oleh air hujan, tandon air minum, dan lain-lain (Departemen Kesehatan RI, 2007).

A. aegypti hidup di dalam dan di sekitar rumah sehingga makanan yang diperoleh semuanya tersedia. *A. aegypti* betina sangat menyukai darah manusia

(antropofilik). Kebiasaan menghisap darah terutama pada pagi hari jam 08.00-12.00 dan sore hari jam 15.00-17.00(Anggraeni, 2010). Nyamuk betina mempunyai kebiasaan menghisap darah berpindah-pindah, berkali-kali dari satu individu ke individu yang lain. Hal ini disebabkan karena pada siang hari manusia yang menjadi sumber makanan darah utama dalam keadaan aktif bekerja/bergerak sehingga nyamuk tidak dapat menghisap darah dengan tenang sampai kenyang pada satu individu. Waktu mencari makanan selain terdorong oleh rasa lapar, *A. aegypti* juga dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu bau yang dipancarkan oleh inang, temperatur, kelembaban, kadar karbon dioksida dan warna. Untuk jarak yang lebih jauh faktor bau memegang peranan penting bila dibandingkan dengan faktor lainnya(Anggraeni, 2010). Sedangkan *A. Albopictus* betina aktif di luar ruangan yang teduh dan terhindar dari angin. Nyamuk ini aktif menggigit pada siang hari. Puncak aktivitas menggigit ini bervariasi tergantung habitat nyamuk, diketahui pada pagi hari dan petang hari(Departemen Kesehatan RI, 2007).

Kebiasaan istirahat *A. aegypti* lebih banyak di dalam rumah pada benda-benda yang bergantung, berwarna gelap dan di tempat-tempat lain yang terlindung. Di tempat-tempat tersebut nyamuk menunggu proses pematangan telur. Setelah beristirahat dan proses pematangan telur selesai nyamuk betina akan meletakkan telurnya di dinding tempat perkembangbiakannya yaitu sedikit di atas permukaan air. Pada umumnya telur akan menetas menjadi jentik dalam waktu ± 2 hari setelah telur terendam air. Setiap kali bertelur nyamuk betina dapat mengeluarkan telur sebanyak 100 butir. Telur tersebut dapat bertahan sampai berbulan-bulan bila berada di tempat kering dengan suhu -2°C sampai 42°C dan bila di tempat tersebut tergenang air atau kelembabannya tinggi maka telur dapat menetas lebih cepat(Departemen Kesehatan RI, 2007).

Penyebaran *A.aegypti* dipengaruhi oleh beberapa faktor termasuk ketersediaan tempat bertelur dan darah tetapi tampaknya terbatas sampai jarak 100 meter dari lokasi kemunculan. Penelitian terbaru di Puerto Rico menunjukkan bahwa nyamuk ini dapat menyebar sampai lebih dari 400 meter, terutama untuk mencari tempat bertelur. Transportasi pasif dapat berlangsung melalui telur dan larva yang ada di dalam penampung(Departemen Kesehatan RI, 2007).

A.aegypti memiliki rata-rata lama hidup 8 hari. Selama musim hujan, saat masa bertahan hidup lebih panjang, risiko penyebaran virus semakin besar. Dengan demikian diperlukan lebih banyak penelitian untuk mengkaji daya tahan alami *A.aegypti* dalam

berbagai kondisi. *A.aegypti* dapat diberantas secara efektif yaitu diperlukan pengetahuan tentang pola perilaku nyamuk tersebut yaitu perilaku mencari darah, istirahat dan berkembang biak sehingga diharapkan akan dicapai pemberantasan sarang nyamuk dan jentik *A.aegypti* yang tepat (Departemen Kesehatan RI, 2004). Perilaku *A. aegypti* dapat bermacam-macam tergantung dari pola makannya.

Perilaku mencari darah antara lain setelah kawin nyamuk betina memerlukan darah untuk bertelur, nyamuk betina menghisap darah manusia setiap 2 – 3 hari sekali, menghisap darah pada pagi hari sampai sore hari dan lebih suka pada jam 08.00 – 12.00 dan jam 15.00 – 17.00. Darah yang cukup dibutuhkan oleh nyamuk betina dengan sering menggigit lebih dari satu orang. Jarak terbang nyamuk sekitar 100 meter dan umur nyamuk betina dapat mencapai sekitar 1 bulan (Departemen Kesehatan RI, 2007).

Nyamuk betina perlu istirahat sekitar 2 – 3 hari setelah kenyang menghisap darah, untuk mematangkan telur. Tempat istirahat yang disukai antara lain tempat-tempat yang lembab dan kurang terang seperti kamar mandi, dapur, WC, di dalam rumah seperti baju yang digantung, kelambu, tirai, di luar rumah seperti pada tanaman hias di halaman rumah (Departemen Kesehatan RI, 2007).

A. aegypti bertelur dan berkembang biak di tempat penampungan air bersih seperti tempat penampungan air untuk keperluan sehari-hari (bak mandi, WC, tempayan, drum air, toren air yang tidak tertutup, sumur gali), wadah yang berisi air bersih atau air hujan (tempat minum burung, vas bunga, pot bunga, potongan bambu yang dapat menampung air, kaleng, botol, tempat pembuangan air di kulkas dan barang bekas lainnya yang dapat menampung air meskipun dalam volume kecil) (Departemen Kesehatan RI, 2007).

2.3.5. Habitat *A. aegypti*

Kelembaban udara juga merupakan salah satu kondisi lingkungan yang dapat mempengaruhi perkembangan jentik *A. aegypti*. Kelembaban udara yang berkisar 81,5 – 89,5% merupakan kelembaban yang optimal untuk proses embriosasi dan ketahanan hidup embrio nyamuk. Tempat perindukan yang paling potensial dalam siklus hidup nyamuk adalah di kontainer atau tempat perindukan yang digunakan untuk keperluan sehari – hari seperti drum, tempayan, bak mandi, bak WC, ember, dan sejenisnya (Yudhastuti dan Vidiyani, 2005).

Nyamuk *A. aegypti* lebih menyukai tempat perindukan yang berwarna gelap, terlindung dari sinar matahari, permukaan terbuka lebar, berisi air tawar jernih dan tenang (Soegijanto, 2006). Tempat perindukan nyamuk (tempat nyamuk meletakkan telur) terletak di dalam maupun di luar rumah. Tempat perindukan di dalam rumah yaitu tempat-tempat penampungan air antara lain bak air mandi, bak air WC, tandon air minum, tempayan, gentong air, ember, dan lain-lain. Tempat perindukan di luar rumah antara lain dapat ditemukan di drum, kaleng bekas, botol bekas, pot bekas, pot tanaman hias yang terisi air hujan dan lain-lain. Tempat perindukan nyamuk juga dapat ditemukan pada tempat penampungan air alami misalnya pada lubang pohon dan pelepah-pelepah daun (Soegijanto, 2006).

A. albopictus berkembang biak pada kontainer temporer yaitu lebih suka pada kontainer alamiah di hutan-hutan seperti lubang pohon, ketiak daun, lubang batu dan batok kelapa. Berkembang biak lebih sering di luar rumah yaitu di kebun dan jarang ditemukan di dalam rumah seperti pada kontainer buatan (gentong dan ban mobil). Spesies ini memiliki telur yang dapat bertahan pada kondisi kering tetapi tetap hidup (Sayono, 2008).

A. aegypti betina menghisap darah untuk mematangkan telurnya. Waktu mencari makan (menghisap darah) adalah pada pagi atau petang hari. Kebanyakan spesies menggigit dan beristirahat di luar rumah tetapi di kota-kota daerah tropis, *A. aegypti* berkembang biak, menghisap darah dan beristirahat di dalam dan sekitar rumah. Ada pula yang menemukan *A. aegypti* menghisap darah di dalam rumah dan beristirahat sebelum dan sesudah makan di luar rumah (Sayono, 2008).

2.3.6. Vektor penyakit demam berdarah dengue

Vektor adalah organisme yang tidak menyebabkan penyakit tetapi menyebarkannya dengan membawa patogen dari satu inang ke yang lainnya. Vektor juga merupakan Arthropoda yang dapat menimbulkan dan menularkan suatu agen infeksi dari sumber infeksi kepada inang (*host*) yang rentan. Bagi dunia kesehatan masyarakat, binatang yang termasuk kelompok vektor dapat merugikan kehidupan manusia, karena disamping mengganggu secara langsung juga sebagai perantara penularan penyakit. Penyakit yang ditularkan melalui vektor masih menjadi penyakit endemis yang dapat menimbulkan wabah atau kejadian luar biasa serta dapat

menimbulkan gangguan kesehatan masyarakat sehingga perlu dilakukan upaya pengendalian atas penyebaran vektor tersebut (Departemen Kesehatan RI, 2004).

Penularan penyakit pada manusia melalui vektor penyakit berupa serangga yang dikenal sebagai *arthropod-borne diseases* atau sering juga disebut sebagai *vektor-borne diseases* merupakan penyakit yang penting dan seringkali bersifat endemis maupun epidemis dan menimbulkan bahaya kematian. Di Indonesia penyakit-penyakit yang ditularkan melalui serangga merupakan penyakit endemis pada daerah tertentu antara lain seperti DBD dan sekarang ditemukan penyakit virus chikungunya yang ditularkan melalui gigitan *A. aegypti* (Chandra, 2006). Sebagai contoh kecenderungan penyakit DBD di Indonesia semakin meningkat yaitu sejak Januari sampai dengan Maret tahun 2004 total kasus DBD di seluruh provinsi di Indonesia sudah mencapai 26015 dengan jumlah kematian sebanyak 389 orang, kasus tertinggi terdapat di Provinsi DKI Jakarta (Departemen Kesehatan RI, 2004).

Keberadaan vektor dan binatang pengganggu harus ditanggulangi meskipun tidak mungkin membasmi sampai ke akar-akarnya. Perlunya berusaha mengurangi atau menurunkan populasinya ke satu tingkat tertentu yang tidak mengganggu ataupun membahayakan kehidupan manusia. Harapan tersebut dapat dicapai dengan adanya suatu manajemen pengendalian dengan arti kegiatan atau proses pelaksanaan yang bertujuan untuk menurunkan densitas populasi vektor pada tingkat yang tidak membahayakan (Departemen Kesehatan RI, 2007).

2.3.7. Penyakit yang ditularkan *A. aegypti*

Penyakit DBD adalah penyakit menular yang disebabkan oleh virus *dengue* dan ditularkan melalui gigitan *A. aegypti*. Penyakit ini dapat menyerang semua orang dan dapat mengakibatkan kematian terutama pada anak serta menimbulkan kejadian luar biasa atau wabah. Penyakit ini ditularkan penderita yang dalam darahnya terdapat virus *dengue*. Penderita biasanya menunjukkan gejala sakit tetapi juga tidak sakit yaitu jika mempunyai kekebalan yang cukup terhadap virus *dengue*. Penderita yang digigit *A. aegypti* selanjutnya virus akan masuk bersama darah yang dihisapnya. Di dalam tubuh nyamuk itu virus *dengue* akan berkembang biak dengan cara membelah diri dan menyebar di seluruh bagian tubuh nyamuk. Dalam waktu satu minggu jumlahnya dapat mencapai puluhan atau bahkan ratusan ribu sehingga siap untuk ditularkan atau

dipindahkan kepada orang lain. Selanjutnya pada waktu nyamuk menggigit orang lain, setelah alat tusuk nyamuk (*proboscis*) menemukan kapiler darah, sebelum darah penderita tersebut dihisap terlebih dahulu dikeluarkan air liur dari kelenjar air liur nyamuk agar darah yang dihisap tidak membeku (Departemen Kesehatan RI, 2004).

Bersama dengan air liur *A. aegypti* yang membawa virus *dengue* akan terserang penyakit demam berdarah. Penderita yang mempunyai kekebalan yang cukup terhadap virus *dengue* tidak akan terserang penyakit ini meskipun di dalam darahnya terdapat virus tersebut. Sebaliknya pada penderita yang tidak mempunyai kekebalan yang cukup terhadap virus *dengue* akan menderita sakit demam ringan bahkan sakit demam tinggi disertai perdarahan bahkan syok tergantung dari tingkat kekebalan tubuh yang dimilikinya. Hingga sekarang telah dapat diisolasi empat serotipe virus *dengue* di Indonesia yaitu DEN-1, DEN-2, DEN-3 dan DEN-4. Ternyata DEN-2 dan DEN-3 merupakan serotipe yang paling banyak sebagai penyebab (Departemen Kesehatan RI, 2004).

2.4. Cara Kerja Insektisida Pada Nyamuk

Menurut Sastrodiharjo (1979) insektisida dapat masuk melalui tubuh serangga melalui beberapa cara, yaitu : 1) Dinding tubuh merupakan bagian yang dapat menyerap insektisida dalam jumlah besar. Dinding tubuh ini memiliki lapisan membran dasar yang bersifat semipermeabel sehingga dapat memilih jenis senyawa yang dapat melewatinya, 2) Saluran pernafasannya disebut trakea. Udara dan oksigen memasuki trakea secara difusi dibantu dengan pergerakan abdomen. Oksigen akan langsung berhubungan dengan jaringan. Insektisida memasuki sistem pernafasan dalam bentuk gas ataupun butir-butir halus yang dibawa ke jaringan hidup, 3) Alat pencernaan nyamuk memiliki struktur seperti dinding tubuhnya. Dengan demikian penyerapan insektisida pada alat pencernaan sama dengan penyerapan pada dinding tubuh.

2.5. Uji Toksisitas

Macam-macam jenis uji toksisitas antara lain uji toksisitas akut, uji toksisitas subakut, uji toksisitas kronik, uji toksisitas subkronik, uji efek pada organ reproduksi, uji karsinogenik dan uji mutagenik. Produk atau sediaan obat harus memenuhi syarat khasiat (*efficacy*), bermutu (*quality*) dan aman (*safety*). Perlunya membuktikan khasiat

maka dilakukan pengujian farmakologi, untuk mutu maka dilakukan pengujian karakteristik produk yang seharusnya diproduksi sesuai dengan cara pembuatan obat yang baik (CPOB), sedangkan untuk keamanan dilakukan uji toksisitas antara lain : uji toksisitas akut pada hewan sasaran dan uji toksisitas subkronis pada hewan bukan sasaran (Loomis, 1978).

2.5.1. Uji toksisitas akut

Untuk menyatakan toksisitas akut suatu obat umumnya dipakai ukuran LC_{50} (konsentrasi letal median 50) yaitu suatu dosis yang dapat membunuh 50% dari sekelompok binatang percobaan. Demikian juga sebagai ukuran dosis efektif (dosis terapi), ukuran yang umum digunakan adalah ED_{50} (dosis efektif median) yaitu dosis yang memberikan efek tertentu pada 50% dari sekelompok binatang percobaan (Loomis, 1978; Sjabana, 2006).

Lethal concentration 50 (LC_{50}) ditentukan dengan memberikan obat dalam dosis tunggal yang bervariasi (bertingkat) kepada sekelompok binatang percobaan. Setelah jangka waktu tertentu (misalnya 24 jam) sebagian binatang percobaan ada yang mati dan persentase ini diterangkan dalam grafik yang menyatakan hubungan dosis (pada *axis*) dan persentase binatang yang mati (pada ordinat). Dari grafik ini dapat ditentukan besarnya dosis yang dapat mematikan 50% dari sekelompok binatang percobaan dan ukuran dosis ini disebut sebagai *lethal concentration 50* (LC_{50}) (Loomis, 1978; Sjabana, 2006).

Lethal concentration 50 (LC_{50}) merupakan hasil dari suatu pengujian (*assay*) dan bukanlah pengukuran kuantitatif. LC_{50} bukanlah merupakan nilai mutlak dan akan bervariasi dari satu laboratorium ke laboratorium lain serta di laboratorium yang sama akan berbeda hasilnya setiap kali dilakukan percobaan. Oleh karena itu kondisi pada percobaan pengujian harus dicatat, demikian pula spesies dan strain binatang yang digunakan harus sama pada setiap kali dilakukan percobaan. Demikian pula cara pemberian, konsentrasi zat penambah untuk melarutkan obat atau untuk membuat bentuk suspensi atau bubuk dan besarnya volume yang diberikan harus seteliti mungkin dan dicatat. Beberapa faktor seperti diet, suhu lingkungan dan variabel lain tidak selalu

dapat dikontrol dengan baik. Oleh karena itu suatu standar yang berhubungan dengan pemberian obat ini harus diteliti sebagai pembanding(Loomis, 1978; Sjabana, 2006).

2.5.2. Uji toksisitas subkronis

Uji toksisitas subkronis adalah uji ketoksikan suatu senyawa yang diberikan dengan dosis berulang pada hewan uji tertentu selama kurang dari tiga bulan. Uji ini ditujukan untuk mengungkapkan spektrum efek toksik senyawa uji serta untuk memperlihatkan apakah spektrum efek toksik itu berkaitan dengan takaran dosis (Donatus, 2001). Pengamatan dan pemeriksaan yang dilakukan dari uji ketoksikan subkronis meliputi : 1) Perubahan berat badan yang diperiksa paling tidak tujuh hari sekali, 2) Memberikan makanan untuk masing-masing hewan atau kelompok hewan yang diukur paling tidak tujuh hari sekali, 3) Gejala kronis umum yang diamati setiap hari dan 4) Pemeriksaan histopatologi organ pada akhir uji coba (Loomis, 1978; Hayes, 1984).

Hasil uji ketoksikan subkronis akan memberikan informasi yang bermanfaat tentang efek utama senyawa uji dan organ sasaran yang dipengaruhinya. Selain itu juga dapat diperoleh info tentang perkembangan efek toksik yang lambat berkaitan dengan takaran yang tidak teramati pada uji ketoksikan akut. Kekebabatan antar kadar senyawa pada darah dan jaringan terhadap perkembangan luka toksik dan keterbalikan efek toksik (Donatus, 2001). Tujuan utama dari uji ini adalah untuk mengungkapkan dosis tertinggi yang diberikan tanpa memberikan efek merugikan serta untuk mengetahui pengaruh senyawa kimia terhadap badan dalam pemberian berulang (Eatau dan Klaasen, 2001). Pengamatan gejala toksis : 1) Pengamatan fisik dan perilaku 2) Berat badan hewan uji dan 3) Asupan makan atau minuman untuk masing-masing hewan uji atau kelompok hewan uji.

Sasaran uji adalah histopatologi organ (organ-organ yang terkena efek toksik yaitu saluran pernafasan terdiri dari trakea dan paru-paru). Selain itu juga batas keamanan toksikologi terutama *quality test equipment and accurate measurement*(KETT).Tata cara pelaksanaannya adalah : 1) Pemilihan hewan uji, dapat digunakan mencit, sebaiknya dipilih hewan uji yang peka dan memiliki pola metabolisme terhadap senyawa uji yang semirip mungkin dengan manusia. Disarankan paling tidak satu jenis hewan uji dewasa, sehat, dan berkelamin jantan. Jumlah yang

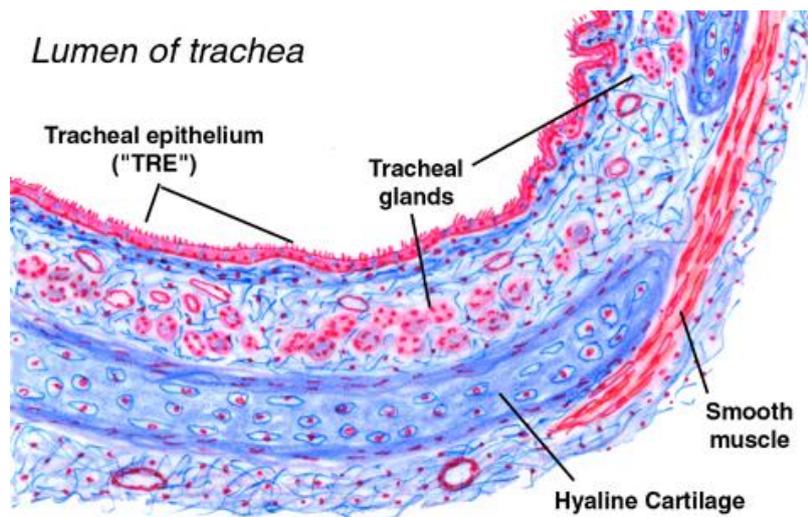
digunakan paling tidak 4ekor untuk masing-masing jenis kelamin dalam setiap kelompok takaran dosis yang diberikan, 2) Pengelompokkan, minimal ada empat kelompok uji yaitu 3 kelompok dosis dan 1 kelompok kontrol negatif. Hal ini disebabkan karena untuk regresi minimal digunakan 3 data sehingga dapat dianalisis hubungan dosis dengan efek, 3) Takaran dosis, bergerak dari dosis yang sama sekali tidak menimbulkan efek toksik sampai dengan dosis yang menimbulkan efek toksik yang nyata. Minimal digunakan 3 peringkat dosis dengan syarat dosis yang tertinggi sebisa mungkin tidak mematikan hewan uji tetapi memberi wujud efek toksik yang jelas (nyata)(Loomis, 1978; Hayes, 1984).

2.6. Histologi Saluran Pernafasan Mencit

Saluran pernafasan adalah organ yang dibutuhkan dalam bernafas yang meliputi hidung, tenggorokan, laring, trakea, bronkus dan paru (WHO, 2006). Cara masuk polutan yang terbanyak adalah melalui inhalasi yang melewati saluran pernafasan, sebab setiap saat organisme selalu bernafas dan menghirup udara cukup banyak (Annisyah, 1998 dalam Anindyajati, 2007). Saluran pernafasan seperti trakea dan paru akan terkena dampak polutan dari pemaparan asap.

2.6.1. Trakea

Trakea adalah kelanjutan jalan udara setelah laring, tempat terjadi transport udara pernafasan. Trakea juga dikenal sebagai tenggorokan. Trakea adalah tabung tulang yang menghubungkan hidung dan mulut ke paru-paru merupakan bagian penting dari sistem pernafasan pada vertebrata. Trakea adalah tabung berotot kaku terletak di depan kerongkongan. Diameter dalam trakea adalah sekitar 21 – 27mm dan panjang kira-kira 10-16 mm. Ada sekitar 15 sampai 20 cincin tulang rawan berbentuk C tidak lengkap. Dinding trakea dilapisi oleh epitel berlapis semu silindris bersilia. Trakea adalah kanal udara primer maka kerusakan yang disebabkan untuk itu dapat mengganggu pernafasan. Ligamen fibroelastis berkas-berkas otot polos (muskulus trakealis) terikat pada periosteum dan menjembatani kedua ujung bebas tulang rawan berbentuk C. Ligamen mencegah overdistensi dari lumen, sedangkan muskulus memungkinkan lumen menutup (Junquiera dkk., 1997).



Gambar 2.12. Gambaran fotomikrograf trakea (Junquiera dkk., 1997)

2.6.2. Paru-paru (Pulmo)

Paru-paru (*pulmo*) adalah salah satu organ yang berbentuk kantung dan merupakan kumpulan banyak rongga udara yang kecil. Fungsi utama paru-paru adalah untuk mencukupi kebutuhan oksigen yang digunakan di dalam tubuh dan untuk mengeluarkan karbon dioksida yang merupakan sisa pembakaran tubuh. Paru-paru kanan pada mamalia berukuran lebih besar dibandingkan dengan paru-paru sebelah kiri (Akoso, 2000).

Hampir seluruh rongga dada diisi oleh paru-paru kanan dan kiri. Secara umum paru-paru dibagi menjadi sistem penyalur udara intrapulmonar, parenkim atau sistem respirasi dan pleura. Sistem penyalur udara intrapulmonar (bronkus dan bronkiolus) mencakup sekitar 6 persen dari pulmo. Parenkim atau daerah pertukaran gas terdiri dari duktus alveolaris, sakus alveolaris dan alveoli yang mencakup 85 persen dari seluruh paru-paru. Paru-paru dibungkus oleh jaringan ikat dan sel-sel mesotel membentuk *pleura visceralis*. Bersama dengan pleura, pembuluh darah dan saraf mengisi sisanya, 9 – 10% dari paru-paru (Junquiera dkk., 1997).

Trakea bercabang menjadi dua bronkus utama yang masuk ke dalam paru-paru. Setelah masuk paru-paru, bronkus primer membentuk tiga bronkus pada pulmo kanan dan dua bronkus pada paru-paru kiri. Bronkus primer bercabang berulang-ulang membentuk bronkus-bronkus yang lebih kecil. Cabang-cabang terminal dinamakan bronkiolus. Masing-masing bronkiolus bercabang membentuk 5 – 7 bronkiolus terminalis. Lobulus paru-paru berbentuk piramid dengan apeks mengarah ke permukaan

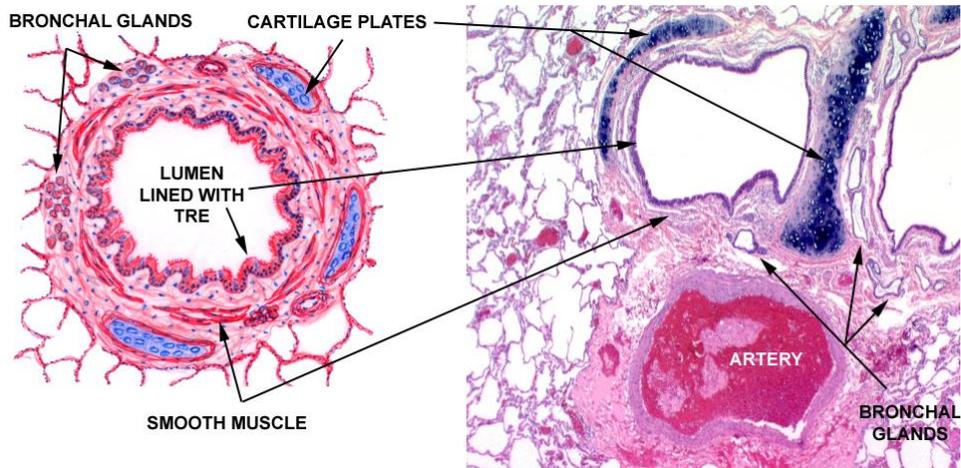
paru-paru. Tiap-tiap lobulus dibatasi oleh septum jaringan pengikat tipis. Pada lobulus yang dekat dengan pleura, lobulus seringkali batasnya tegas karena penimbunan partikel karbon dan debu yang mengendap pada jaringan penyambung septa interlobularis. Histologis bronkus mirip trakea kecuali berbagai lapisannya yang tipis. Bronkus dilapisi oleh epitel bertingkat silindris, kelenjar mukosa yang mampu bersekresi, sel bersilia dan sel basal. Bronkus dibandingkan dengan trakea secara proporsional memiliki jumlah sel yang lebih sedikit. Bronkus memiliki sel epitel dan sel basal. Semakin ke arah distal sel epitel akan semakin berkurang dan sel basal akan semakin bertambah. Bronkus proksimal memiliki lebih banyak sel epitel dan sel basal. Pada bagian distal terdapat kelenjar submukosa yang lebih banyak daripada bagian proksimal. Struktur submukosa pada bronkus bervariasi dari proksimal ke arah distal dan kelenjarnya semakin berkurang ke arah distal. Jaringan ikat di bagian luar tulang rawan yang berbatasan dengan adventisia bersifat longgar dengan serabut kolagen dan elastis (Junquiera dkk., 1997).

Bagian distal saluran udara intrapulmonar adalah bronkiolus dan merupakan kelanjutan dari bronkus. Bronkiolus adalah suatu saluran penghubung bergaris tengah satu mm atau kurang, terbenam di dalam sedikit jaringan ikat dan dikelilingi oleh jaringan pernafasan. Bronkiolus mempunyai ciri tidak mengandung tulang rawan, tidak memiliki kelenjar pada mukosa, tidak memiliki kelenjar limfe dan hanya terdapat adventisia tipis yang terdiri dari jaringan ikat dan terdapat sel-sel goblet yang tersebar dalam epitel segmen permulaan. Pada bronkiolus yang lebih besar epitel bersilianya berkurang dan menjadi epitel kubus bersilia pada bronkiolus terminalis. Selain sel-sel bersilia, bronkiolus terminalis juga mempunyai sel clara yang permukaan apikalnya berbentuk kubus dan menonjol ke dalam lumen (Junquiera dkk., 1997).

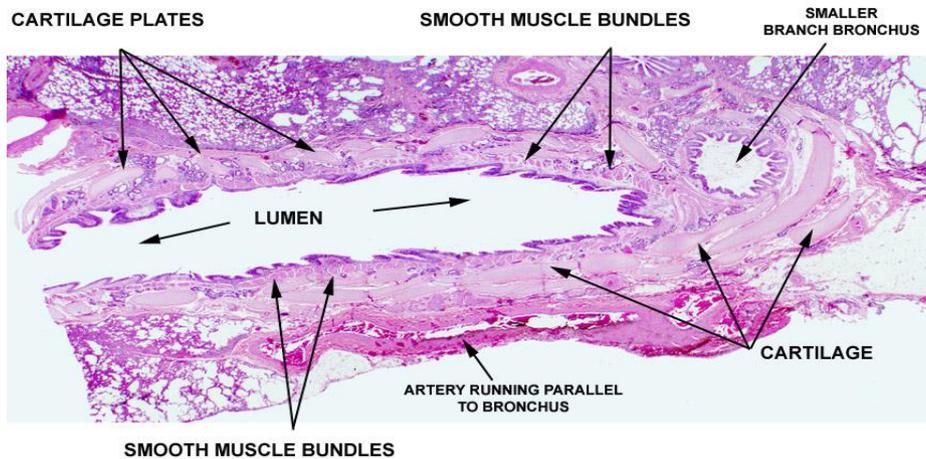
Respirasi hanya dapat berlangsung jika dinding yang memisahkan udara dengan darah merupakan dinding yang sangat tipis. Susunan yang demikian dijumpai mulai bronkiolus respiratoris sampai alveolus. Bronkiolus respiratoris merupakan saluran pendek, bercabang, panjang 1 – 4 mm, bergaris tengah kurang dari 0,5 mm berasal dari bronkiolus terminalis. Tiap-tiap bronkiolus terminalis bercabang menjadi dua bronkiolus respiratoris atau lebih yang berperan sebagai daerah peralihan antara bagian konduksi dan respirasi sistem respirasi. Mukosa bronkiolus respiratoris strukturnya identik dengan mukosa bronkiolus terminalis kecuali dindingnya diselingi oleh banyak saku

alveolaris. Bagian-bagian bronkiolus respiratoris dibatasi oleh sel epitel kubus bersilia dan epitel pada alveoli adalah epitel selapis pipih. Makin ke distal bronkiolus jumlah alveoli bertambah dan jarak antara alveoli makin dekat. Epitel bronkiolus respiratoris di antara alveoli terdiri atas epitel kubus bersilia akan tetapi pada bagian yang lebih distal, silia mungkin tidak ada (Junquiera dkk., 1997). Menurut Leeson dkk. (1996) epitel selapis kubus tersebut akan berubah menjadi epitel selapis pipih yang membatasi alveolus pada muara alveolus. Pada lamina propria dindingnya disusun oleh anyaman berkas otot polos dan jaringan ikat fibroelastis. Bronkiolus kemudian akan melanjutkan diri ke duktus alveolaris.

Duktus alveolaris adalah saluran berdinding tipis berbentuk kerucut dan dilapisi oleh epitel selapis pipih. Lapisan ini sangat tipis sehingga dengan mikroskop cahaya sulit ditentukan. Di luar epitel, dinding dibentuk oleh jaringan fibroelastis. Di sekeliling muara duktus alveolaris terdapat banyak alveoli tunggal dan sakus alveolaris. Sesungguhnya muara alveoli pada duktus alveolaris sedemikian banyak sehingga sulit untuk dapat melihat dinding duktus alveolaris walaupun pada potongan tebal hal ini lebih jelas dan dapat dilihat berkas-berkas serat elastis, kolagen, dan serat otot berselang-seling di antara muara alveoli di sepanjang dinding duktus alveolaris. Duktus alveolaris dan alveoli dibatasi oleh sel-sel epitel pipih selapis yang tipis. Dalam lamina propria sekitar pinggir alveoli terdapat jala-jala sel otot polos yang saling menjalin. Matriks yang kaya akan serabut elastis dan kolagen menyokong duktus alveolaris dan alveoli. Duktus alveolaris bermuara ke dalam atria yaitu suatu ruang yang tidak teratur tempat alveoli dan sakus alveolaris bermuara. Serabut-serabut elastis dan kolagen membentuk jaringan kompleks yang melingkari lubang-lubang atria, sakus alveolaris dan alveoli. Serabut elastis memungkinkan alveoli mengembang waktu inspirasi dan secara pasif serabut elastis tertarik waktu ekspirasi. Kolagen berperan mencegah peregangan berlebihan, kerusakan kapiler-kapiler halus dan kerusakan septa interalveolaris yang tipis (Junquiera dkk., 1997).



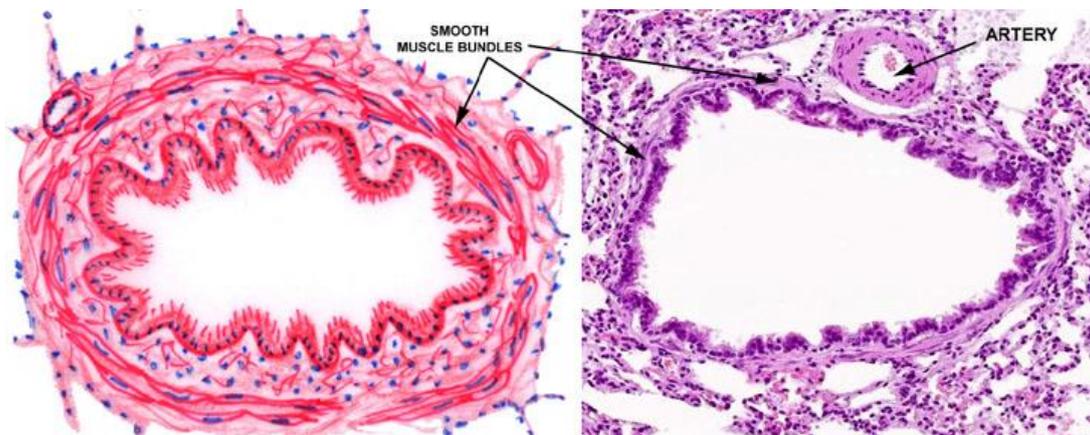
Gambar 2.13. Gambaran fotomikrograf pulmo (Junquiera dkk., 1997)



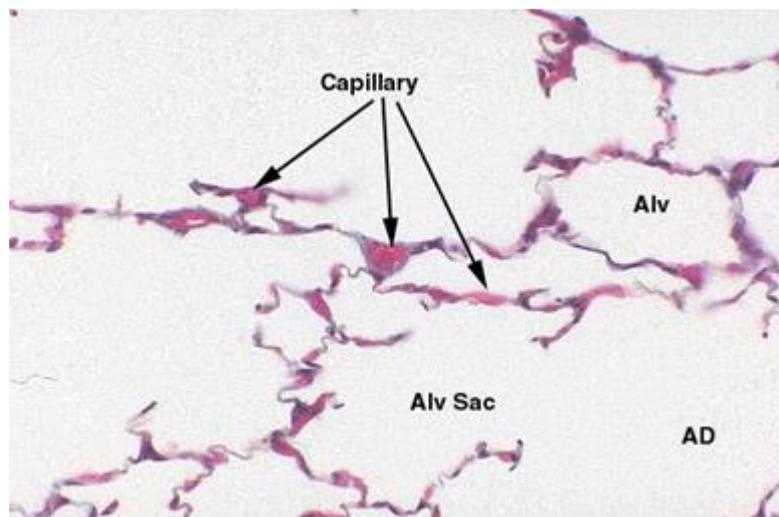
Gambar 2.14. Gambaran fotomikrograf pulmo terlihat bronkus dengan serat otot polos yang melingkarinya (Junquiera dkk., 1997)

Alveoli merupakan evaginasi kecil seperti kantung dari bronkiolus respiratorius, duktus alveolaris dan sakus alveolaris. Alveoli merupakan bagian terminal cabang-cabang bronkus dan bagian yang paling banyak pada struktur paru-paru yang menyerupai busa. Struktur dinding alveoli dikhususkan untuk menyelenggarakan difusi

antara lingkungan eksterna dan interna. Oksigen dalam alveoli masuk ke dalam kapiler darah melalui membran dan karbon dioksida berdifusi dengan arah berlawanan. Pelepasan CO_2 dari H_2CO dikatalisis oleh enzim anhidrase karbonat yang terdapat dalam sel-sel darah merah. Oleh karena itu di dalam eritrosit mengandung enzim anhidrase karbonat lebih banyak dibandingkan sel-sel lain dalam tubuh (Junquiera dkk., 1997).



Gambar 2.15. Gambaran fotomikrograf pulmo terlihat bronkus dengan serat otot polos yang melingkarinya (Junquiera dkk., 1997)



Gambar 2.16. Gambaran fotomikrograf pulmo terlihat alveolus dengan dinding yang disusun oleh epitel (Junquiera dkk., 1997)

Pleura disusun oleh jaringan ikat fibrosa tipis dengan serat-serat kolagen, serat elastis dan sel-sel (terutama fibroblas dan makrofag), dilapisi oleh selapis sel mesotel. Di dalam lapisan jaringan ikat terdapat banyak kapiler limfe dan kapiler darah serta serat saraf kecil. Pleura mengeluarkan sejumlah sekret berupa cairan yang selalu berada dalam keadaan lembab dan licin. Sekret digunakan untuk mempermudah gerakan antara lapisan parietal yang melapisi rongga dada dengan lapisan viseral yang membungkus permukaan paru-paru (Junquiera dkk., 1997).

2.7.Histopatologis Saluran Pernafasan Mencit

Sehat atau kesehatan adalah keadaan yang bebas dari penyakit, cacat dan kelemahan yang memungkinkan setiap individu hidup produktif secara sosial, ekonomi, dan intelektual. Derajat kesehatan dipengaruhi oleh empat faktor penentu yaitu faktor bawaan, pelayanan kesehatan, faktor perilaku dan faktor lingkungan (fisik, biologi dan kemasyarakatan). Dua faktor terakhir tersebut merupakan faktor penentu yang sangat besar pengaruhnya terhadap kesehatan masyarakat.

Beberapa komponen asap secara umum merupakan gas dan partikel yang dapat ikut terinhalasi ke dalam sistem pernafasan dan selanjutnya masuk ke sistem sirkulasi sehingga akan berpengaruh terhadap darah sebagai unsur pengangkut. Apabila konsentrasi gas berikot pencemar yang terikut dalam darah tinggi maka akan berpengaruh terhadap jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin (Hb) (Mulasari, 2005*dalam* Anindyajati, 2007).

Inhalasi asap akan mempengaruhi anatomi komponen utama epitel saluran pernafasan seperti trakea dan alevoli paru-paru, sehingga perlu diamati perubahan epitel pada trakea dan paru-paru. Menurut Sanjoto dkk. (2001)*dalam* Anindyajati (2007) terjadi pelebaran diameter alveoli paru-paru tikus yang terpapar asap rokok.Oleh karena itu dalam penelitian juga dilakukan pengukuran terhadap diameter alveoli paru-paru mencit yang dipapari asap obat nyamuk bakar herbal morizena. Selanjutnya Mozer (2012) menyatakan gas CO yang merupakan stres oksidatif ke paru dapat masuk sampai ke dalam alveoli paru-paru dan bagian lain yang sempit, merusak parenkim paru, dinding alveolus, menimbulkan modifikasi dari elastisitas saluran nafas, kerusakan

jaringan interstitial alveolus, iritasi dan radang atau inflamasi jaringan alveolus. Inflamasi jaringan alveolus menyebabkan terjadinya peningkatan jumlah makrofag, peningkatan elastase meningkat yang menyebabkan rusaknya enzim 1-antitripsin sehingga terjadi defisiensi enzim 1-antitripsin, komposisi elastase dan antielastase tidak seimbang, degradasi jaringan elastin yang pada akhirnya menyebabkan pelebaran diameter alveolus.

Obat nyamuk bakar merupakan salah satu faktor lingkungan yang dapat menyebabkan menurunnya kesehatan masyarakat. Obat nyamuk biasanya terbuat dari bahan aktif yang termasuk golongan *organofosfat*. Bahan aktif ini adalah *dichlorovynil edimethyl phosphate* (DDVP), *propoxur* (Karbamat), *diethyltoluamide* dan *piretrin* yang merupakan jenis insektisida pembunuh serangga. Umumnya bahan aktif yang digunakan pada obat nyamuk adalah bahan yang cepat terurai dan berdaya racun tinggi, dalam arti mematikan nyamuk dengan cepat. Sehingga pemakaian obat nyamuk yang tidak benar, dapat membahayakan kesehatan. Dampak pemakaian obat nyamuk tergantung pada jenis obat nyamuk, jumlah obat nyamuk, lama pemakaian dan bahan campurannya (Kardinan, 2001).

Bahan aktif obat nyamuk akan masuk ke dalam tubuh melalui pernafasan dan kulit kemudian akan beredar di dalam darah. Setelah itu menyebar ke dalam sel-sel tubuh. Ada yang menuju ke saluran pernafasan, ke encephalon (otak) dan lain-lain. Efek terbesar akan dialami oleh organ yang sensitif. Karena obat nyamuk lebih banyak terinhalasi pada saluran pernafasan, maka yang paling banyak mengalami gangguan adalah saluran pernafasan. Sementara efek samping pada kulit sangat tergantung pada kepekaan kulit (Tarumingkeng, 1992).

Gangguan-gangguan pada organ tubuh manusia akan terjadi jika penggunaan obat nyamuk tidak terkontrol atau berlebihan. Orang yang memiliki kepekaan akan lebih cepat menunjukkan reaksi. Alergi yang paling banyak muncul biasanya mengenai saluran pernafasannya sehingga menimbulkan batuk. Saluran pernafasan manusia dilengkapi suatu epitel atau pelapis saluran nafas. Epitel ini mempunyai silia seperti rambut getar yang berfungsi untuk mengeluarkan benda asing. Silia akan bereaksi terhadap sekret (cairan lendir) atau benda asing yang ada dalam saluran nafas. Jika epitel dan silia rusak, benda asing tersebut tidak dapat dihilangkan. Selain itu sel-sel di

bawah epitel juga akan terkena dampaknya. Akibatnya keluarlah lendir atau cairan kental (Nashibah, 2003).

Menurut Nashibah (2003) setiap jenis obat nyamuk mempunyai kelebihan dan kekurangan. Gejala-gejala yang biasa terlihat jika seseorang mengalami keracunan obat nyamuk adalah keringat keluar berlebihan, salivasi (pengeluaran air liur), muntah, diare, sulit bernapas dan jika parah dapat mengalami pingsan. Risiko terbesar terdapat pada obat nyamuk bakar karena secara langsung mengeluarkan asap yang dapat terhirup. Sedangkan obat nyamuk semprot berbentuk cair memiliki konsentrasi bahan aktif yang berbeda karena cairan yang dikeluarkan ini akan diubah menjadi gas. Artinya dosisnya lebih kecil. Sementara obat nyamuk elektrik lebih kecil lagi karena bekerja dengan cara mengeluarkan asap tetapi dengan daya elektrik.

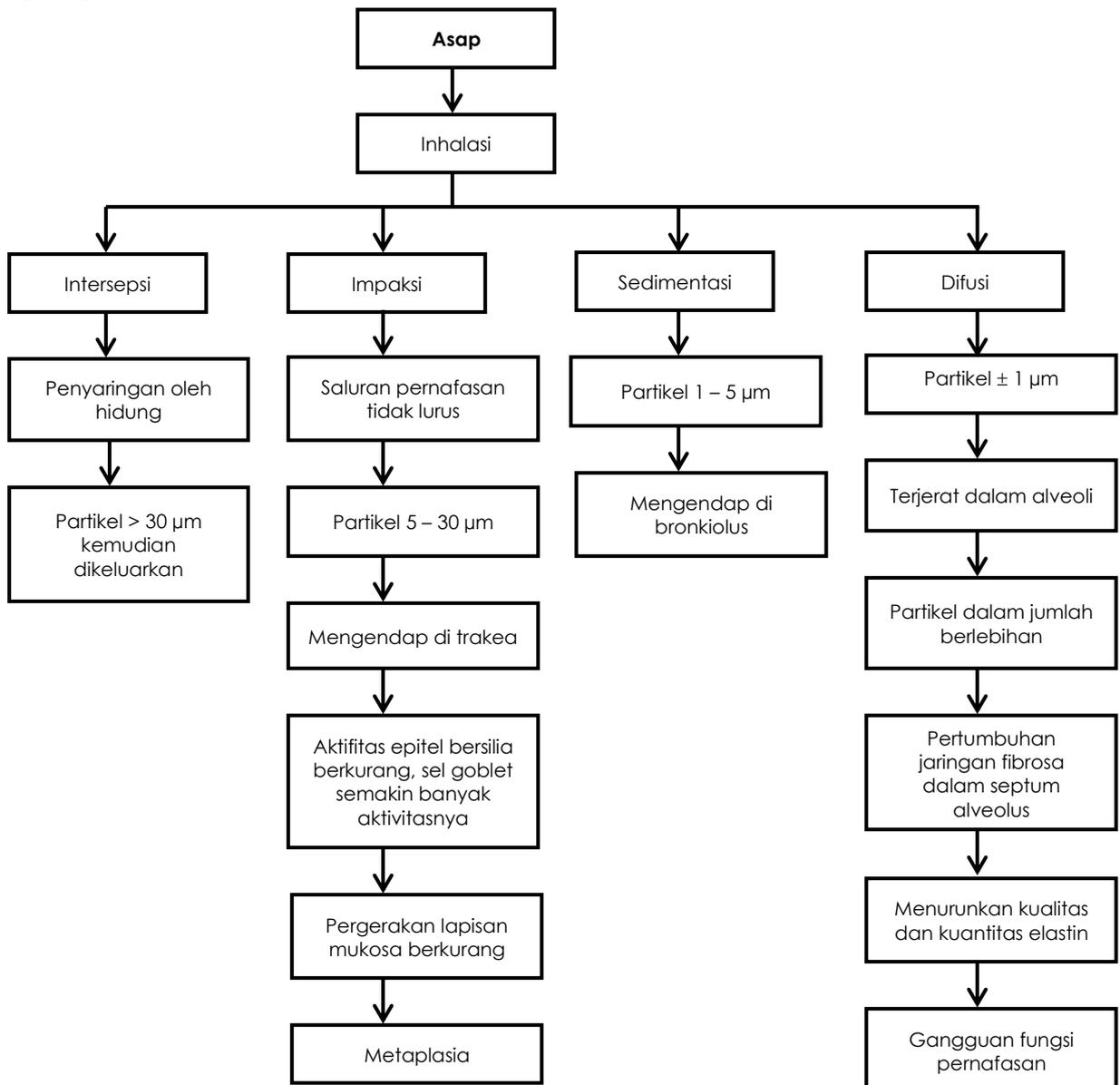
Untuk mengetahui gejala terjadinya metaplasia pada sel epitel trakea yang akan mengakibatkan penyempitan jalan udara maka diamati di bawah mikroskop dalam setiap slide dengan 3 bidang pandang untuk setiap irisan. Kemudian diamati perubahan epitel trakea dan diukur diameter trakea, tinggi epitel serta perbandingan diameter trakea dengan tinggi epitel (Nashibah, 2003).

Paru-paru merupakan alat tubuh yang sering mengalami kelainan patologi. Pemaparan partikel yang terkonsentrasi di udara dalam jangka pendek dapat menginduksi terjadinya inflamasi paru-paru tikus. Salah satu kelainan pada paru-paru adalah emfisema yang didefinisikan sebagai suatu pelebaran alveoli, duktus alveoli serta hilangnya dinding batas antara alveoli dengan duktus alveoli (Wahyono, 2005). Adanya pemaparan asap terhadap binatang dapat menyebabkan emfisema meskipun tidak terlalu meluas seperti pada manusia dapat juga meningkatkan sekresi sel mukosa dan perubahan vaskuler yang mengakibatkan hipertensi. Emfisema dapat terjadi karena adanya pertumbuhan jaringan fibrosa sehingga mengganggu serat-serat elastin yang menyokong alveoli (Wright dan Chung, 2002; Mahadeva dan Shapiro, 2002).

Dalam penelitian Sanjoto dkk (2001) dalam Anindyajati (2007) diameter alveoli paru-paru tikus yang terpapar asap rokok ternyata 15 μm lebih besar dibanding rata-rata diameter alveoli kelompok kontrol. Paparan asap rokok dapat mengakibatkan terjadinya penurunan kuantitas dan kualitas elastin yang berdampak pada menurunnya elastisitas jaringan paru-paru padahal serat-serat elastin yang merupakan komponen penting dari matriks ekstraseluler paru-paru yang dibentuk oleh komponen elastin yang

bertanggungjawab terhadap sifat elastis jaringan paru-paru termasuk alveolus, sakus alveolaris, duktus alveolaris serta bronkiolus respiratorius dan elastisitas sangat berpengaruh terhadap fungsi pernafasan serta emfisema.

Menurut Scott (2004) dalam Anindyajati (2007) area permukaan dari jaringan paru-paru kira-kira 120 m^2 yang diperlukan sebagai area permukaan terluas dari tubuh yang terpapar lingkungan. Sel-sel dari jaringan pernafasan dan surfaktan paru-paru merupakan jaringan tubuh yang pertama terpapar secara langsung beribu-ribu bahan kimia berbahaya yang terkandung dalam asap pembakaran tembakau. Berdasarkan berbagai sumber referensi seperti Sanjoto dkk (2001) dalam Anindyajati (2007), Wright dan Chung (2002) dapat diringkas mekanisme pengaruh asap pada saluran pernafasan seperti pada Gambar 2.17.

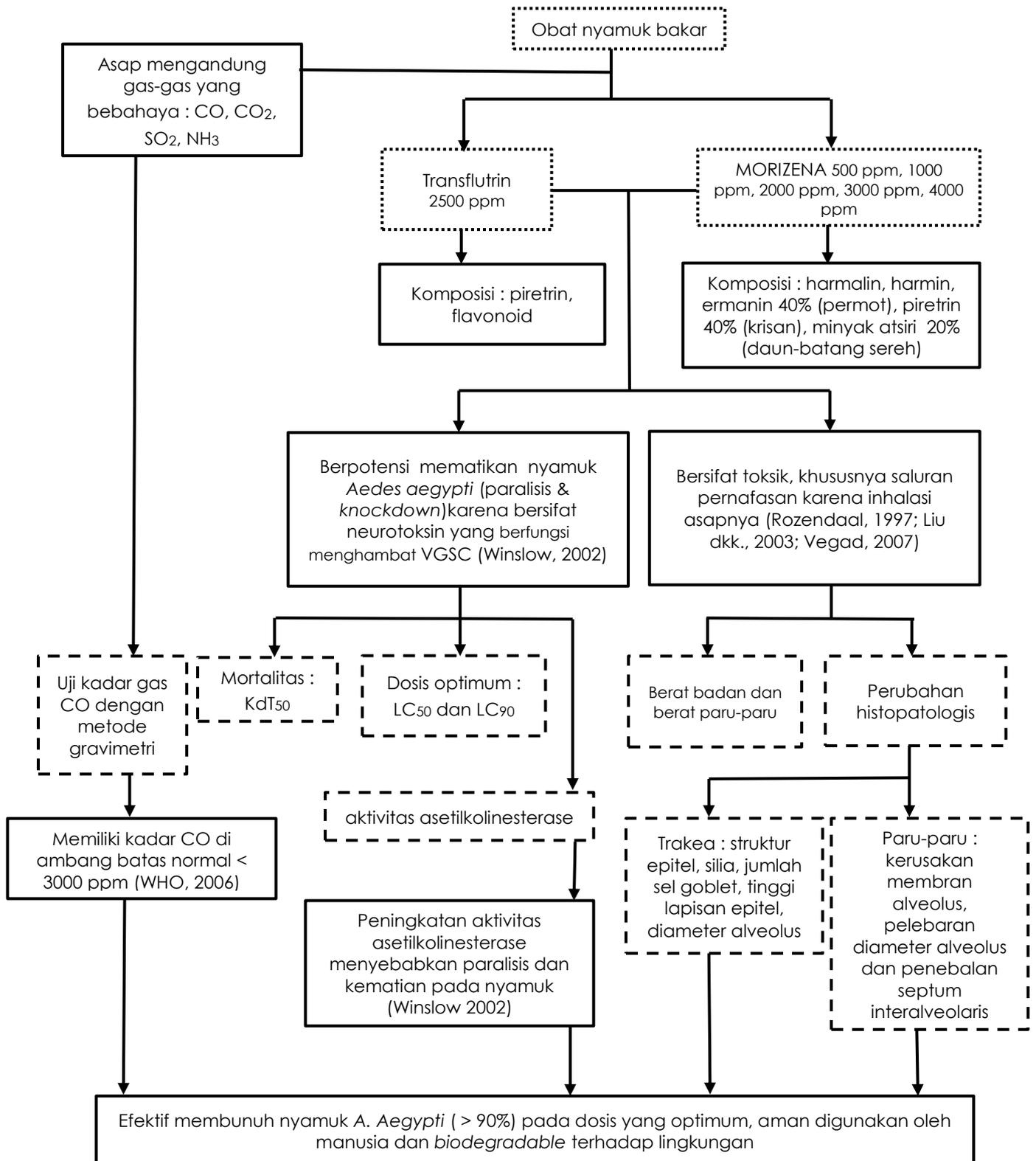




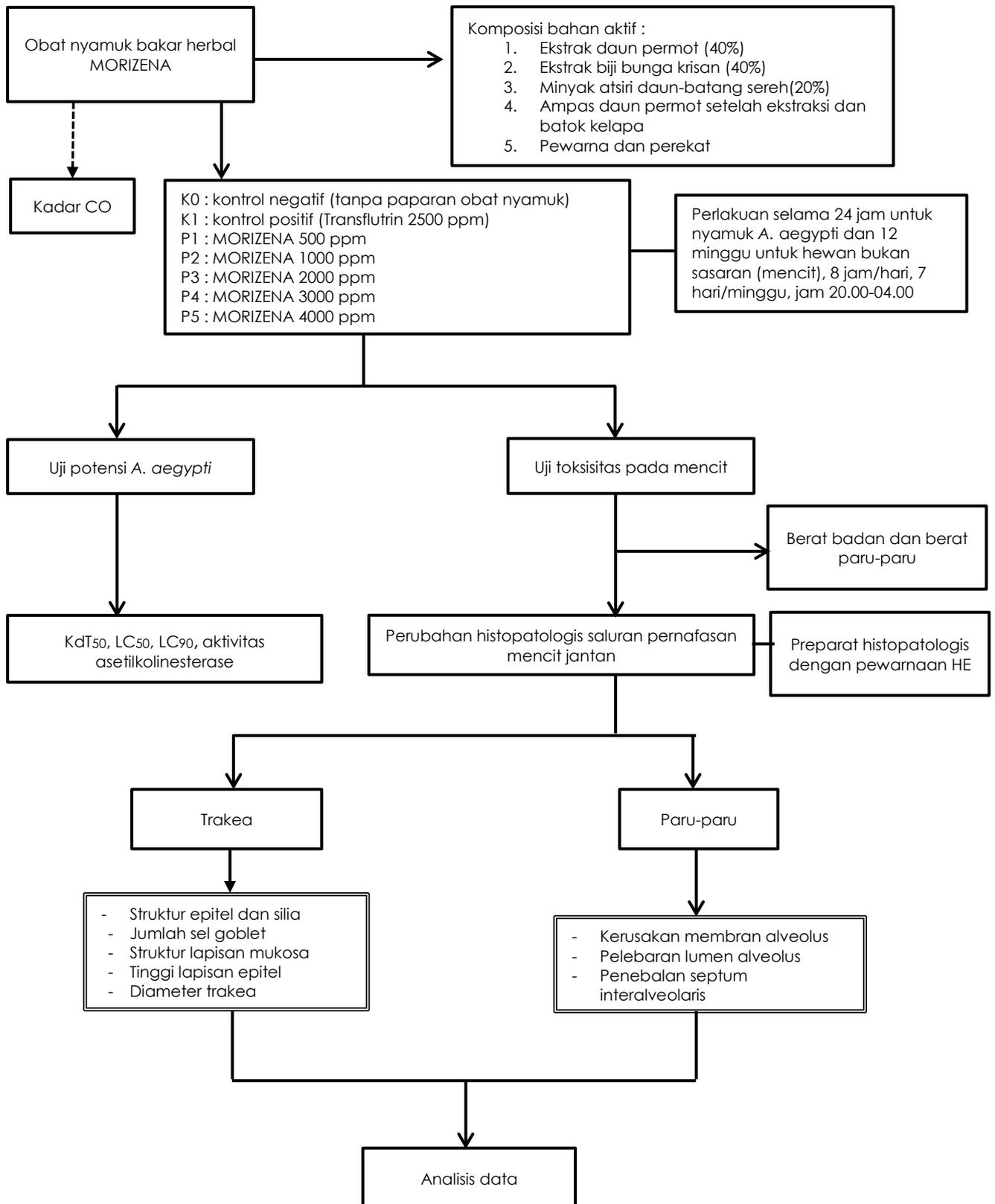
Gambar 2.17. Skema mekanisme pengaruh asap pada saluran pernafasan (Anindyajati, 2007).

BAB III HIPOTESIS DAN KONSEP ILMIAH

3.1. Kerangka Konseptual



3.2. Kerangka Operasional



3.3. Hipotesis Penelitian

Hipotesis dalam penelitian ini adalah :

1. Paparan asap obat nyamuk bakar herbal MORIZENA hingga dosis 4000 ppm memiliki kadar karbon monoksida (CO) yang lebih rendah daripada obat nyamuk bakar sintetik transflutrin 2500 ppm.
2. *A. aegypti* yang terpapar oleh obat nyamuk bakar herbal MORIZENA dengan dosis bertingkat akan menyebabkan kematian nyamuk (KdT_{50}) tersebut lebih dari >95%.
3. *A. aegypti* yang terpapar oleh obat nyamuk bakar herbal MORIZENA dengan LC_{50} yang menyebabkan kematiannya lebih dari 50% dan LC_{90} yang menyebabkan kematiannya lebih dari 90% serta merupakan dosis optimalnya.
4. *A. aegypti* yang terpapar oleh obat nyamuk bakar herbal MORIZENA hingga dosis 4000 ppm akan menyebabkan kenaikan aktivitas enzim asetilkolinesterase.
5. Mencit jantan yang terpapar oleh obat nyamuk bakar herbal MORIZENA hingga dosis 4000 ppm tidak akan menyebabkan perubahan berat badan dan berat paru-paru.
6. Mencit jantan yang terpapar oleh obat nyamuk bakar herbal MORIZENA hingga dosis 4000 ppm tidak akan menyebabkan perubahan histopatologis jaringan trakea yang meliputi hilangnya perubahan struktur epitel, silia, jumlah sel goblet, tinggi lapisan epitel dan diameter trakea.
7. Mencit jantan yang terpapar oleh obat nyamuk bakar herbal MORIZENA hingga dosis 4000 ppm maka tidak akan menyebabkan perubahan histopatologis paru-paru mencit jantan yang meliputi penebalan septum interalveolaris, dan pelebaran diameter alveolus pada organ paru-paru.

BAB IV METODE PENELITIAN

4.1. Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimen laboratorium, dengan teknik pengambilan data dilakukan melalui observasi langsung yaitu dengan mengadakan pengamatan langsung terhadap gejala-gejala obyek yang diteliti, baik dalam situasi sebenarnya maupun dalam situasi buatan. Pengambilan data dilakukan secara *cross sectional*.

4.2. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di dua tempat yaitu di Laboratorium Histologi, Departemen Biologi dan Laboratorium Kimia Organik, Departemen Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga Surabaya dan di Laboratorium Multi Fungsi Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Krida Wacana Jakarta.

4.3. Bahan dan Alat Penelitian

4.3.1. Bahan penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi bahan baku obat nyamuk bakar herbal MORIZENA, bahan untuk ekstraksi untuk daun permot dan biji bunga krisan, dan distilasi daun-batang sereh, bahan untuk membuat preparat histologi trakea dan pulmo, bahan untuk membuat *coil* obat nyamuk bakar, obyek penelitian nyamuk dewasa *A. aegypti* dan mencit jantan dewasa.

Bahan baku obat nyamuk bakar herbal MORIZENA yang digunakan dalam penelitian ini adalah campuran ekstrak daun permot (*Passiflora foetida*) sebesar 40%, ekstrak biji bunga krisan (*Chrysanthemum cinerariaefolium*) sebesar 40%, dan minyak atsiri daun-batang sereh (*Cymbopogon nardus*) sebesar 20%. Bahan perekat yang digunakan adalah tepung tapioka serta madu, serta pengisi atau *filler* digunakan dari modifikasi pembuatan obat nyamuk bakar menurut Samad (2001) yaitu ampas ekstrak daun permot dan batok kelapa. Untuk lebih jelasnya bentuk *coil* obat nyamuk bakar herbal MORIZENA yang telah jadi dapat dilihat pada Lampiran 1.

Pelarut untuk proses ekstraksi bahan baku daun permot dan biji bunga krisan antara lain n-hexane dan etil alkohol. Sedangkan pelarut untuk distilasi daun dan batang sereh antara lain hexane dan etil alkohol.

Obyek penelitian ini adalah nyamuk dewasa *A. aegypti*. Kolonisasi telur *A. aegypti* yang akan dikembangkan sebanyak dua generasi untuk mendapatkan galur yang murni bagi nyamuk dewasanya diperoleh dari Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor. Masing-masing perlakuan menggunakan 25 ekor *A. aegypti* (total nyamuk yang digunakan dalam penelitian adalah 600 ekor). Sementara untuk uji penentuan batas dosis aman bagi lingkungan atau organisme lain dengan menggunakan mencit jantan Balb/c dewasa yang juga merupakan hewan coba bukan sasaran dengan ciri keturunan murni, umur 8 – 10 minggu, berat badan 20 – 25 gram, sehat, tidak ada abnormalitas anatomis sebanyak 30 ekor yang diperoleh dari Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor dan dilakukan adaptasi pakan selama seminggu di Laboratorium Multi Fungsi, Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Krida Wacana, Jakarta. Sampel tidak diikutsertakan apabila sakit (gerakan tidak aktif) selama masa adaptasi.

Bahan pembuatan preparat histologi trakea dan mencit jantan adalah pentobarbital, larutan buffer formalin, larutan garam fisiologis, kertas kalender, alkohol dengan berbagai konsentrasi (70%, 80%, 96% dan absolut), xylol, parafin, pewarna Harris Hematoxylin-Eosin Y, akuades, Meyer's albumin dan entellan. Sedangkan bahan pakan mencit yaitu pellet BR-2 dan air minum berupa air ledeng yang diberikan secara *ad libitum*.

4.3.2. Alat penelitian

Alat yang akan digunakan dalam penelitian ini meliputi kandang untuk nyamuk (*rearing*) dan mencit jantan (bak plastik). Alat untuk membuat ekstrak daun permot dan biji bunga krisan seperti bejana maserasi. Alat untuk distilasi uap daun-batang sereh seperti labu distilasi, kondensor, erlenmeyer 100 mL, statis, corong pemisah, kertas saring, alat pemanas dan aluminium foil (Lampiran 2). Alat untuk membuat *coil* obat nyamuk bakar herbal MORIZENA seperti alat pencetak partikel bentuk spiral untuk obat nyamuk bakar, gelas beker, baki dan pengaduk. Alat untuk membuat preparat histologi trakea dan pulmo mencit seperti botol-botol untuk *processing*, rangkaian

staining jar untuk pewarnaan, pinset, kalpel, jarum pentul, *paraffin bath*, paraffin oven, kotak kertas untuk pembuatan blok parafin, mikrotom dan *holder, waterbath*, kuas kecil, kain kasa, gelas obyek dan penutup.

Ruang pengujian dan perlakuan *A. aegypti* ukuran $3 \times 3 \times 4 \text{ cm}^3$, kontainer plastik untuk membiakkan telur nyamuk hingga menjadi nyamuk dewasa, kotak nyamuk, sangkar uji atau rearing ($12 \times 12 \times 12 \text{ cm}^3$), termometer, pinset, timer, kapas, karet gelang, handuk basah, gelas ukur. Kandang uji mencit berupa bak plastik berukuran besar $70 \times 70 \times 70 \text{ cm}^3$.

4.4. Variabel Penelitian

4.4.1. Variabel bebas

Variabel bebas (independen) dalam penelitian ini adalah dosis bertingkat obat nyamuk bakar herbal MORIZENA mulai dari 500 ppm, 1000 ppm, 2000 ppm, 3000 ppm dan 4000 ppm, serta dosis obat nyamuk bakar sintetis Transflutrin 2500 ppm.

4.4.2. Variabel tergantung

Variabel tergantung (*dependen*) adalah jumlah kematian *A. aegypti*, nilai LC_{50} dan LC_{90} , aktivitas enzim asetilkolinesterase *A. aegypti*, berat badan yang ditimbang di awal penelitian dan akhir penelitian dan berat paru-paru mencit jantan, perubahan histopatologis trakea mencit jantan dan perubahan histopatologis paru mencit jantan.

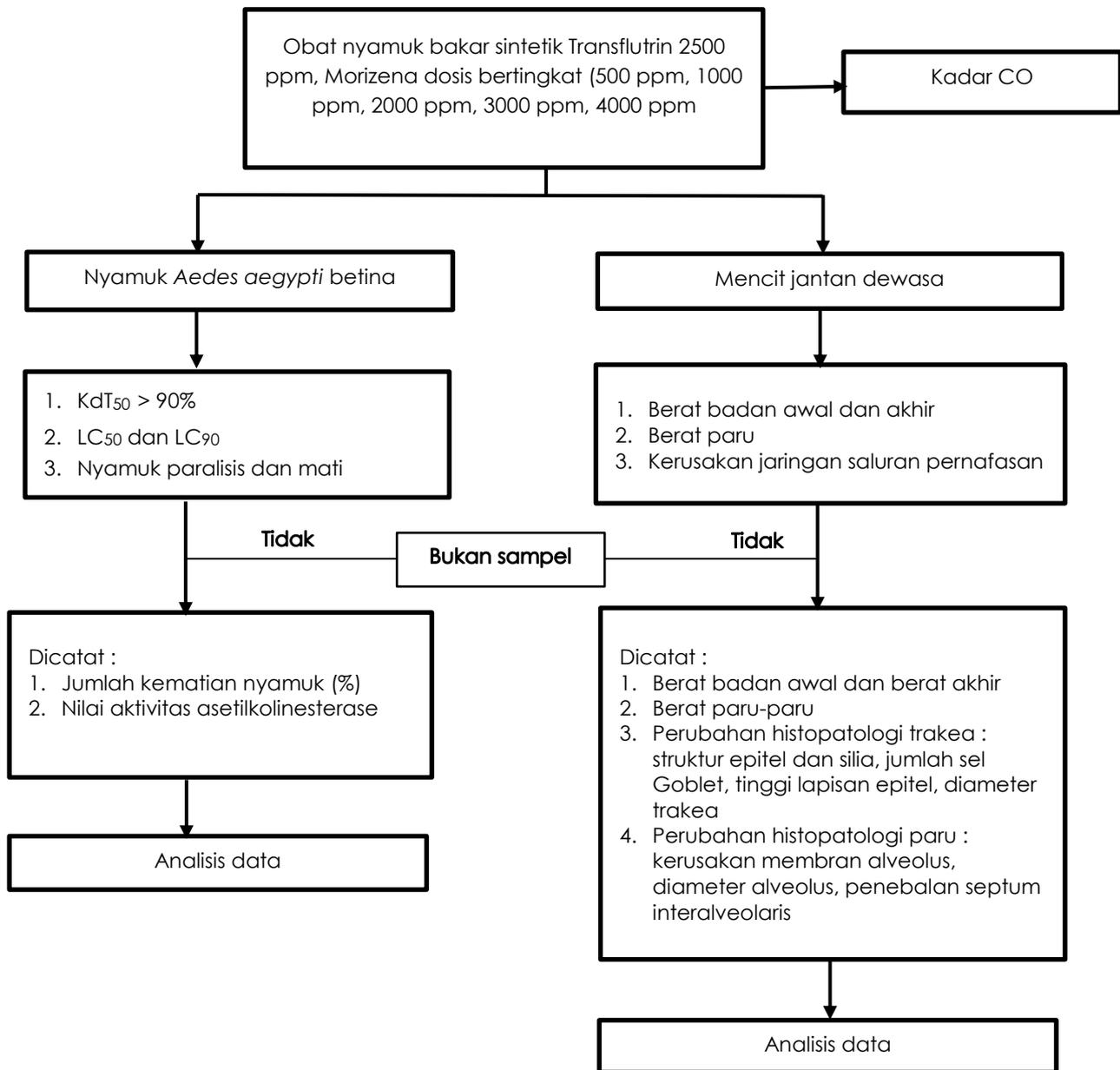
Definisi Operasional Variabel

Cara pengambilan sampel seperti Gambar 4.1 di bawah ini.

4.5. Rancangan Penelitian

Hasil pengujian pada nyamuk *A. aegypti* dengan Rancangan Acak Lengkap atau RAL yaitu *One-Way Anova* (Sudjana, 1991) dan dilanjutkan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT). Sedangkan untuk pengujian anti nyamuknya dilakukan pada *lethal concentration 50* (LC_{50}) dan *lethal concentration 90* (LC_{90}). Pengujian yang sama juga dilakukan pada hewan coba bukan sasaran yaitu mencit, yaitu Rancangan Acak

Lengkap atau RAL yaitu *One-Way* Anova (Sudjana, 1991) dan dilanjutkan Uji Beda Nyata Terkecil untuk berat badan dan berat paru-paru.



Gambar 4.1. Bagan definisi operasional variabel

4.6. Tahapan Penelitian

4.6.1. Penyiapan bahan obat nyamuk bakar herbal MORIZENA

1. Ekstraksi daun permot (Lampiran 3).
2. Ekstraksi biji bunga krisan (Lampiran 4).

3. Distilasi uap daun dan batang sereh (Lampiran 5).

4.6.2. Pembuatan obat nyamuk bakar herbal MORIZENA

Berdasarkan hasil penelitian Susilowati (2013) dan penelitian pendahuluan untuk menentukan dosis yang efektif, maka selanjutnya dibuat dosis bertingkat obat nyamuk bakar herbal MORIZENA dengan kombinasi sebagai berikut ekstrak daun permot (40%), ekstrak biji bunga krisan (40%) dan distilat daun serta batang sereh (20%). Proses ekstraksi daun permot terdapat pada Lampiran 3. Proses ekstraksi biji bunga krisan pada Lampiran 4. dan proses distilasi uap daun serta batang sereh terdapat pada Lampiran 5. dan hasilnya dicampur menjadi satu sesuai dengan prosentase yang telah ditetapkan yaitu 40% untuk ekstrak daun permot, 40% untuk ekstrak biji bunga krisan dan 20% untuk distilat daun serta batang sereh, lalu dicampur dengan bahan batok kelapa dan ampas daun permot sebagai pengisi. Campuran kemudian diaduk hingga menjadi adonan kental. Selanjutnya dimasukkan adonan ke dalam cetakan yang berbentuk cacing melingkar. Dijemur sampai kering dan dipisahkan obat nyamuk dari cetakan. Semua bahan-bahan penyusun obat nyamuk bakar selanjutnya dibuat adonan dengan mencampur perekat menggunakan tepung tapioka sebanyak 5% dari berat total. Berat partikel yang digunakan untuk satu contoh uji obat nyamuk adalah 52,24 g dan berat perekat 2,6 g. Adonan selanjutnya dicetak sesuai bentuk obat nyamuk bakar yang ditempa dengan tekanan 25 kg. Produk yang dihasilkan dikeringkan hingga kering udara atau dengan kadar air sekitar 12%.

4.6.3. Aklisasi hewan coba

Hewan coba *A. aegypti* tidak diaklimasi terlebih dahulu karena perubahan fase larva yang cepat ke bentuk dewasa. Sementara untuk hewan coba mencit jantan yang akan digunakan dalam pengujian toksisitas kronis pada jaringan saluran pernafasan terlebih dahulu dipelihara dalam kondisi laboratorik selama 10 – 15 hari.

4.6.4. Kolonisasi *A. aegypti*

Kolonisasi nyamuk dewasa *A. aegypti* dimulai dengan memasukkan telur yang berada pada kertas saring ke dalam baki plastik yang berisi akuades yang bersih. Setelah 1-3 hari telur akan menetas menjadi larva (jentik). Larva ini setiap hari diberi

pakan berupa pelet pakan ikan secukupnya (2-3 butir) agar air tidak cepat kotor. Apabila air di dalam baki plastik kotor maka diganti dengan air yang bersih. Setelah 4-9 hari larva akan menjadi pupa. Pupa kemudian diambil dengan pipet plastik dan dipindahkan ke dalam gelas plastik kemudian dimasukkan ke dalam kandang/sangkar nyamuk (*rearing*). Pupa yang telah menetas menjadi nyamuk setiap hari diberi makan larutan madu 20% yang diresapkan ke dalam kapas dan digantung di dalam sangkar. Setelah nyamuk berumur lebih dari 3 hari, nyamuk betina diberi pakan darah agar menghasilkan telur dengan cara memasukkan seekor mencit yang telah difiksasi dengan kandang kawat kasa di dalam sangkar nyamuk selama \pm 1 jam. Setelah itu disiapkan gelas plastik yang di dalamnya telah dilapisi kertas saring dan berisi air \pm setengah isi dari gelas plastik untuk *A. aegypti* bertelur. Bila telur sudah ada dan banyak menempel pada kertas saring maka kertas saring dan telur diganti dengan yang kertas saring baru. Kertas saring berisi telur dapat ditetaskan langsung atau disimpan dalam keadaan kering.

4.6.5. Perlakuan hewan coba

Hasil penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Rahayu (2008) menggunakan ekstrak *Allium sativum* yang dapat mematikan larva *A. aegypti* (L.) sekitar 30% pada konsentrasi 500 ppm, 60% pada konsentrasi 1000 ppm, dan 100% pada konsentrasi 2000 ppm. Selanjutnya berdasarkan penelitian tersebut dimodifikasi penelitian yang telah dilakukan oleh Susilowati (2013) terhadap larva *A. aegypti* yang terpapar oleh ekstrak daun permot dengan konsentrasi konsentrasi 250 ppm, 500 ppm, 1000 ppm, 1500 ppm dan 2000 ppm. Berdasarkan penelitian pendahuluan tersebut maka penelitian ini membagi kelompok perlakuan dengan konsentrasi atau dosis sebagai berikut :

1. Kontrol negatif K_0 : tanpa paparan obat nyamuk bakar.
2. Kontrol positif K_1 : paparan asap obat nyamuk bakar sintetik Transflutrin 2500 ppm.
3. Kelompok P_1 : paparan obat nyamuk bakar herbal MORIZENA 500 ppm.
4. Kelompok P_2 : paparan obat nyamuk bakar herbal MORIZENA 1000 ppm.
5. Kelompok P_3 : paparan obat nyamuk bakar herbal MORIZENA 2000 ppm.
6. Kelompok P_4 : paparan obat nyamuk bakar herbal MORIZENA 3000 ppm

7. Kelompok P₅ : paparan obat nyamuk bakar herbal MORIZENA 4000 ppm.

Mencit jantan sebanyak 35 ekor, umur \pm 2 bulan dengan berat badan 18-23 gram, digunakan untuk analisis morfometrik dan dikorbankan dengan menyuntikkan dosis tertentu dari pentobarbital. Setelah pembedahan mencit, trakea dan paru-paru dimasukkan dalam larutan fiksatif buffer formalin. Khusus untuk paru-paru selanjutnya diaspirasi dengan menggunakan *vacuum* selama 7-8 jam untuk mengeluarkan gelembung udaranya, setelah itu dibiarkan selama 24 jam. Sediaan paru-paru dibuat dengan metode parafin dan diwarnai dengan Hematoxylin dan Eosin (HE) berdasarkan pada metode standar.

4.6.6. Pengambilan organ dan pembuatan preparat mencit

Pada minggu ke-13, mencit dikorbankan dengan menyuntikkan pentobarbital dan dilakukan pembedahan untuk mengambil trakea dan pulmonya. Pembuatan sediaan histologis dilakukan dengan pembuatan preparat irisan dengan menggunakan metode parafin (Winarni dkk., 1990). Tahap-tahap pembuatan preparat irisan metode parafin dimulai dari pemotongan organ trakea dan pulmo sampai dengan pewarnaan. Preparat yang telah jadi diamati di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran mulai 40X sampai dengan 400X dan selanjutnya pengambilan foto dengan menggunakan kamera digital.

4.7. Prosedur Uji

4.7.1. Pengukuran kadar CO

Karbon monoksida (CO) adalah suatu gas tidak berwarna, tidak berbau yang dihasilkan oleh pembakaran tidak sempurna material yang mengandung zat arang atau bahan organik, baik dalam alur pengolahan hasil jadi industri ataupun proses di alam lingkungan. Karbonmonoksida terdiri dari satu atom karbon yang secara kovalen berikatan dengan satu oksigen. Dalam ikatan ini terdapat dua ikatan kovalen dan satu ikatan kovalen koordinasi antara atom karbon dan oksigen. Satuan konsentrasi CO yang dilepaskan ke udara adalah ppm (parts per million). Untuk mengukur kadar CO tersebut digunakan gas analyzer dengan satuan persen volume, dimana 1 ppm setara dengan 10^{-4} % (Anggreni, 2009).

4.7.2. Penentuan LC₅₀ dan LC₉₀ *A. aegypti*

Pada pengujian *bioassay*, digunakan *A. aegypti* yang berumur 3-5 hari yang sebelumnya telah dikenyangkan dengan air gula dimasukkan dalam *rearing* ukuran 12x12x12 cm³ dan ditempatkan 25 ekor setiap *rearing*-nya. Sebanyak 7 *rearing* (sesuai dengan jumlah 1 kelompok kontrol positif, 1 kelompok kontrol negatif dan 5 kelompok perlakuan) ditempatkan di sebelah kandang plastik mencit. Obat nyamuk bakar herbal MORIZENA ditempatkan ditengah-tengah antara *rearing* dengan kandang plastik mencit. Dilakukan pengamatan pada menit ke 5, 10, 15, 30, 45, 60, 120, 180, 240, 300, 360, 420 dan 480 dihitung jumlah nyamuk yang pingsan atau mati (*knockdown*). Kemudian nyamuk uji dipindahkan dari *rearing* ke cawan petri yang bersih untuk pengamatan dan dihitung persen kematiannya. Suhu dan kelembaban nisbi udara selama periode pengujian diukur dan dicatat.

Knockdown nyamuk dicatat pada 0,5 menit dengan interval 1 menit hingga 10 menit untuk *A. aegypti*. Kriteria untuk *knockdown* dimana nyamuk tidak dapat lagi menjaga keseimbangan tubuhnya dengan normal dan tidak lagi dapat terbang (Yap dkk. 1996). Kriteria efikasi diambil berdasarkan waktu kematian (KdT₅₀) 50% dari jumlah nyamuk uji (dihitung dari data telah dikoreksi dengan mortalitas dan kelumpuhan nyamuk uji) pada kontrol.

4.7.3. Uji aktivitas asetilkolinesterase (AChE)

Analisis aktivitas asetilkolinesterase dilakukan menurut metode Ellman dkk., (1961) yang dilakukan pada larva *A. aegypti* dan dimodifikasi untuk dilakukan pada nyamuk dewasa *A. aegypti*. Ke dalam tabung reaksi berisi 1,95 mL bufer kalium fosfat 0,1 M pH 7,5; ditambahkan 200 µL homogenat *A. aegypti*, 150 µL DTNB 0,0011 M dalam buffer fosfat dan 100 µL larutan insektisida uji dalam air dan pengemulsi alkilaril poliglikol eter 400 mg/L 0,1%. Pada campuran kontrol suspensi insektisida diganti dengan larutan bufer. Setelah dikocok sempurna dan dibiarkan selama 10 menit, selanjutnya ke dalam setiap tabung reaksi ditambahkan 100 µL asetilkolin iodida 0,0105 M dalam buffer fosfat. Pengujian dilakukan pada lima taraf konsentrasi insektisida. Campuran blanko berisi komponen yang sama dengan campuran uji, kecuali homogenat sumber enzim diganti dengan bufer fosfat. Reaksi dibiarkan selama 30 menit, kemudian

serapan cahaya larutan pada masing-masing tabung diukur pada panjang gelombang 412 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Aktivitas asetilkolinesterase dinyatakan dalam molar substrat terhidrolisis per menit per mg protein. Laju hidrolisis substrat dihitung dengan menggunakan rumus Ellman dkk., (1961):

$$(\text{mol/l/unit}) = \frac{\Delta \text{ absorban/menit}}{1,36 \times 10^4}$$

Δ absorban = serapan cahaya yang telah dikurangi dengan serapan cahaya blanko.

Persentase hambatan aktivitas asetilkolinesterase oleh insektisida tertentu dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ Hambatan} = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100\%$$

A_0 : aktivitas enzim asetilkolinesterase (M substrat/menit/mg protein) kontrol (tanpa paparan obat nyamuk bakar)

A_1 : aktivitas enzim asetilkolinesterase pada perlakuan obat nyamuk bakar

4.8. Pengumpulan Data

4.8.1. Data kadar CO obat nyamuk bakar herbal MORIZENA

Pembakaran obat nyamuk bakar dalam bentuk *coil* akan menghasilkan suatu emisi yaitu sisa hasil pembakaran. Emisi asap obat nyamuk bakar ini mengandung karbon monoksida (CO) dan karbon dioksida (CO₂). Pencemaran udara yang disebabkan oleh emisi asap rokok yang mengandung karbon monoksida dan karbon dioksida dinyatakan dengan besar faktor emisi. Faktor emisi adalah nilai representatif untuk menghubungkan jumlah polutan yang dilepaskan ke atmosfer dengan aktivitas yang terkait dengan pelepasan polutan itu sendiri (Valley, 2012).

Pengukuran konsentrasi gas CO menggunakan Gas Analyser Stargas Model 898 yang mampu mengetahui konsentrasi gas buang (CO, CO₂ dan HC) sumber polutan seperti gas buang hasil pembakaran obat nyamuk bakar. Pengukuran ini dilakukan di Laboratorium LIPI BATAN Serpong.

Pengambilan data pada penelitian ini dimulai dari obat nyamuk bakar ditempatkan pada pompa hisap dan kemudian dibakar dengan kecepatan hisap rokok

manusia normal yang telah dimodifikasi. Pada saat pembakaran, obat nyamuk bakar menghasilkan asap yang nantinya akan masuk pada *environmental chamber*. Setelah itu, asap hasil pembakaran ditampung pada *chamber* yang kemudian diserap oleh Stargas dan dicacah nilai jumlah konsentrasi gasnya tiap *coil* obat nyamuk bakar. Penampilan data jumlah konsentrasi gas yang dihasilkan oleh layar di Stargas harus direkam dengan kamera, karena alat ini tidak bisa menyimpan data dan tidak dapat dihubungkan oleh komputer. Untuk setiap *coil* obat nyamuk bakar dibutuhkan waktu ± 10 menit. Pengambilan data dilakukan sebanyak tiga kali perulangan setiap 1 jenis obat nyamuk bakar yaitu 1 obat nyamuk bakar sintesis transflutrin 2500 ppm dan 5 jenis obat nyamuk bakar herbal MORIZENA berdasarkan dosis bertingkat (500 ppm, 1000 ppm, 2000 ppm, 3000 ppm dan 4000 ppm) untuk melihat nilai deviasi pada setiap *coil* obat nyamuk bakar tersebut.

Semua proses pengolahan data dilakukan dengan menggunakan Microsoft excel 2010. Setelah itu menghitung total konsentrasi gas CO dengan software origin 8.1. Setelah variabel telah didapatkan semua, langkah selanjutnya yaitu menghitung besarnya faktor emisi untuk masing-masing jenis obat nyamuk bakar (Utomo, 2011; Utami dkk., 2010).

4.8.2. Data kematian *A. aegypti*

Persentase *A. aegypti* yang mati atau lumpuh (*knockdown* atau KdT_{50}) dihitung pada saat menit ke 5, 10, 15, 30, 45, 60, 120, 180, 300, 360, 420 dan 480. Persentase kematian ditentukan 24 jam setelah aplikasi. Analisis uji probit data pengamatan dilakukan untuk mengetahui KdT_{50} *A. aegypti*. Perbandingan toksisitas antar dosis dilakukan secara deskriptif terhadap persen kematian *A. aegypti*. Koreksi data (apabila persen angka kelumpuhan atau kematian) pada kontrol sebesar 5-20% dikoreksi menurut rumus Abbot (Komisi Pestisida, 1995), yaitu dimana $A_1 = (\%)$ angka kematian setelah dikoreksi, $A = (\%)$ angka kematian nyamuk uji, $B = (\%)$ angka kematian pada kontrol.

$$A_1 = \frac{\% A - \% B}{100 - \% B} \times 100 \%$$

Kematian *A. aegypti* pada kelompok kontrol lebih dari 20% penelitian dinyatakan gagal dan harus diulang. Efikasi dinyatakan baik apabila kematian *A. aegypti* sebesar 90% sampai dengan 100%. Kurang dari nilai tersebut dinyatakan tidak baik. Untuk mengetahui adanya pola hubungan antara peningkatan konsentrasi obat nyamuk bakar herbal MORIZENA dengan peningkatan jumlah kematian *A. aegypti* maka analisis dilakukan dengan menggunakan analisis *trend* regresi.

4.8.3. Data berat badan mencit

Penimbangan berat badan mencit dilakukan sebanyak dua kali, yaitu di awal penelitian dan setelah penelitian berakhir. Hal ini dilakukan untuk mengetahui uji toksisitas paparan asap obat nyamuk bakar herbal MORIZENA selama 12 minggu pada mencit jantan. Seperti yang dinyatakan oleh Siburian dan Marlinza (2009), bahwa berat badan dapat memberikan gambaran kesehatan hewan coba dan merupakan salah satu parameter untuk menentukan efek toksik suatu senyawa.

4.8.4. Data berat paru mencit

Penimbangan berat paru mencit dilakukan setelah penelitian berakhir. Hal ini dilakukan untuk mengetahui uji toksisitas paparan asap obat nyamuk bakar herbal MORIZENA dosis bertingkat dan Transflutrin 2500 ppm selama 12 minggu pada mencit.

Asap obat nyamuk bakar yang masuk ke dalam paru-paru akan menyebabkan gangguan pernapasan, dan kerusakan jaringan paru-paru, seperti alveolus yang melebar sehingga oksigen yang masuk ke alveolus menjadi banyak dan mengakibatkan organ paru-paru menjadi lebih ringan (terjadi perubahan berat paru-paru).

4.8.5. Data perubahan histopatologis trakea mencit

Setelah perlakuan, mencit dimatikan dengan cara disuntik pentobarbital. Kemudian organ trakea diambil, difiksasi ke dalam larutan buffer formalin 10%. Selanjutnya trakea diolah mengikuti metode baku histologis yaitu metode parafin. Setelah trakea beku dalam parafin dilakukan pemotongan *cross sectional* dengan ukuran $\pm 5 \mu\text{m}$ dengan menggunakan mikrotom dan dilakukan pewarnaan dengan menggunakan HE. Setiap trakea dibuat menjadi 5 preparat yang terdiri dari berbagai sisi

potongan, kemudian masing-masing preparat diamati di bawah mikroskop dalam 3 lapangan pandang, yaitu pada keempat sudut dan bagian tengah preparat dengan pembesaran 10x10, 40x10 dan 100x10.

Tabel 4.1. Skor derajat kerusakan jaringan trakea mencit antar kelompok perlakuan selama 12 minggu (Hsia dkk., 2010; Miller dkk., 2009)

| Kriteria kerusakan jaringan trakea | Skor |
|--|-------------|
| Epitel berlapis semu silindris, bersilia, jumlah sel Goblet normal, tidak ada lipatan mukosa | 1 |
| Epitel berlapis semu silindris, silia mereduksi, jumlah sel Goblet meningkat, tidak ada lipatan mukosa | 2 |
| Epitel berlapis semu silindris, silia mereduksi, jumlah sel Goblet meningkat, ada lipatan mukosa | 3 |
| Epitel berlapis pipih, silia mereduksi, jumlah sel Goblet meningkat, ada lipatan mukosa | 4 |

Potongan melintang dilakukan secara acak pada organ trakea bagian proksimal, tengah dan distal sebagai sampling trakea sepanjang aksis proksimal-distalnya. Gambaran digital yang memperlihatkan potongan melintang trakea difoto dan dianalisis. Analisis morfometrik dilakukan dengan menggunakan metode yang telah dilakukan oleh Hsia dkk. (2010) serta Miller dkk. (2009). Re-epitelisasi pada trakea diuji dengan skoring epitel yang terdapat di membran basal pada Tabel 4.1. Informasi ini digunakan untuk menentukan persentase area permukaan membran basalis yang ditutupi oleh struktur epitel yang berbeda.

4.8.6. Data perubahan histopatologis paru-paru mencit

Setelah perlakuan, mencit dimatikan dengan cara disuntik pentobarbital. Kemudian organ paru-paru diambil, ditimbang (diukur volumenya) dan difiksasi ke dalam larutan buffer formalin 10% selama 24 jam. Selanjutnya paru-paru diolah mengikuti metode baku histologis yaitu metode parafin. Setelah paru-paru beku dalam parafin dilakukan pemotongan *cross sectional* dengan ukuran $\pm 5 \mu\text{m}$ dengan menggunakan mikrotom dan dilakukan pewarnaan dengan menggunakan HE. Setiap paru-paru dibuat menjadi 5 preparat yang terdiri dari berbagai sisi potongan, kemudian

masing-masing preparat diamati di bawah mikroskop dalam 3 lapangan pandang, yaitu pada keempat sudut dan bagian tengah preparat dengan pembesaran 10x10, 40x10 dan 100x10.

Potongan histologi paru-paru digunakan untuk menentukan terjadinya inflamasi sel-sel paru-paru dan terwarnainya makrofag. Sasaran yang dibaca adalah persentase inflamasi sel-sel sekretori di dinding alveoli atau bronkiolus respiratorius yang diakibatkan karena reaksi oksidatif paparan asap obat nyamuk bakar herbal morizena yang dinyatakan dengan kriteria yang dapat dilihat pada Tabel 4.2 (Braber dkk. 2010; Tournoy dkk. 2000; Kwak dkk. 2003; Thurlbeck, 1967; Marianti, 2009).

Tabel 4.2. Skor derajat kerusakan jaringan paru-paru mencit antar kelompok perlakuan selama 12 minggu (Braber dkk. 2010; Tournoy dkk. 2000; Kwak dkk. 2003; Thurlbeck, 1967; Marianti, 2009)

| Gambaran histologis | Skor | | |
|--|-------|---------|------------------------|
| | 1 | 2 | 3 |
| Membran alveolus (utuh, berinti dan lengkap dengan sel-sel endotelium) | > 75% | 25-75% | Membran alveolus < 25% |
| Lumen alveolus (Membulat ukuran proporsional) | > 75% | 25%-75% | < 25% |
| Hubungan antar alveolus (rapat) | > 75% | 25%-75% | < 25% |
| Septum interalveolaris (penebalan) | - | + | ++ |

4.9. Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis dengan *One Way Anova* untuk jumlah kematian *A. aegypti* (KdT_{50}), LC_{50} dan LC_{90} dengan menggunakan analisis Uji Probit (Finney, 1978) dan *One-way Anova* untuk mengetahui pengaruh paparan

obat nyamuk bakar herbal MORIZENA terhadap aktivitas asetilkolinesterase *A. aegypti*, berat badan mencit, berat paru mencit, diameter trakea, tinggi lapisan epitel trakea dan diameter lumen alveolus mencit. Apabila hasil *one-way Anova* berbeda bermakna, maka dilanjutkan uji LSD atau BNT (beda nyata terkecil) taraf uji 5% untuk mengetahui beda bermakna antar perlakuan. Sedangkan untuk data kerusakan jaringan trakea dan paru-paru mencit jantan dilakukan dengan menggunakan uji Kruskal-Wallis pada taraf 5% dan uji Mann Whitney apabila ada perbedaan yang bermakna.

BAB V HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Pada umumnya komponen asap merupakan gas dan partikel yang ikut terinhalasi ke dalam sistem pernafasan dan selanjutnya masuk ke sistem sirkulasi sehingga akan berpengaruh terhadap darah sebagai unsur pengangkut (Mulasari, 2005). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh paparan obat nyamuk bakar herbal MORIZENA terhadap dosis aman paparannya dengan mengetahui LC₅₀ dan LC₉₀ *A. aegypti*, tingkat kematian (KdT₅₀) *A. aegypti* serta perubahan histopatologi trakea dan paru-paru mencit jantan (*Mus musculus* L.).

5.1. Pengukuran Faktor Lingkungan Laboratorium

Yang dimaksudkan dengan faktor lingkungan selama dilakukan penelitian adalah lingkungan yang ada di dalam Laboratorium Multifungsi FK UKRIDA Jakarta. Faktor lingkungan merupakan salah satu faktor yang harus diperhatikan selama penelitian berlangsung. Sebagai akibat dari lingkungan yang tidak stabil dapat menyebabkan hasil penelitian tidak maksimal. Keadaan lingkungan di laboratorium yang harus diperhatikan selama penelitian berlangsung yaitu suhu, pH dan makanan untuk *A. aegypti*. Tetapi dalam penelitian ini faktor makanan dapat diabaikan karena pada waktu pendedahan selama 24 jam tidak diberi makanan/pakan.

Tabel 5.1. Pengukuran faktor-faktor lingkungan di laboratorium selama masa penelitian 12 minggu

| Faktor lingkungan | Pengukuran | | | |
|-------------------|-----------------|-------|---------------|-------|
| | Uji pendahuluan | | Uji penentuan | |
| | Awal | Akhir | Awal | Akhir |
| Suhu | 26°C | 26°C | 26°C | 26°C |
| pH | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 |

Pengukuran suhu dan pH media dilakukan baik saat awal (masa adaptasi nyamuk *A. aegypti* dan mencit jantan) maupun akhir pelaksanaan penelitian. Hasil pengukuran suhu media pada uji pendahuluan menunjukkan bahwa suhu awal sekitar 26°C dan suhu akhir sebesar 26°C. Sementara itu hasil pengukuran suhu media pada uji

penentuan menunjukkan bahwa suhu awal juga sama yaitu 26°C dan suhu akhir sebesar 26°C. Hasil pengukuran pH media dengan menggunakan kertas indikator, baik saat awal maupun akhir uji pendahuluan dan uji penentuan menunjukkan pH netral yaitu 7,0.

5.2. Pengukuran Kadar CO Dalam Obat Nyamuk Bakar

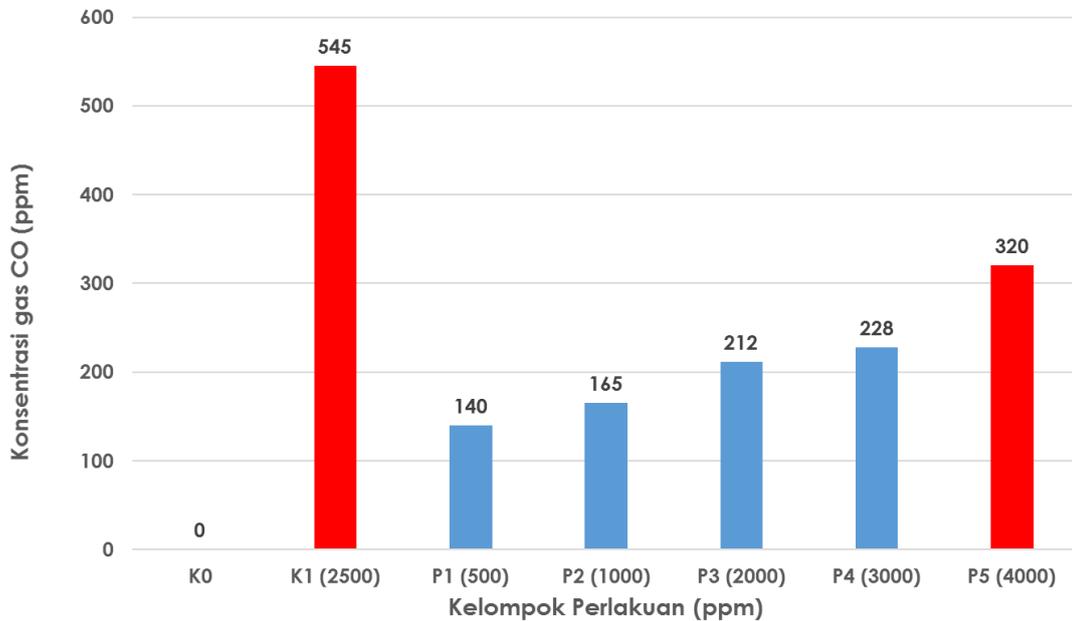
Asap obat nyamuk bakar dikategorikan sebagai sumber polusi udara dalam lingkungan (DepKes RI, 2008). Obat nyamuk bakar mengandung sejumlah polutan dalam bentuk gas seperti CO, CO₂, NO, NO₂ dan NH₃ (Nashibah, 2006). Polutan bentuk gas yang terdapat pada obat nyamuk bakar memiliki efek pada sistem pernafasan seperti iritasi hidung dan tenggorokan, edema tenggorokan, penyakit paru kronik, batuk dan asam (Yunda, 2010).

Karbon monoksida (CO) dan karbon dioksida (CO₂) tergolong gas yang dapat mencemari udara. Menurut Eugene dan Bruce (2003) bahwa keracunan gas karbon monoksida (CO) dapat menyebabkan turunnya kapasitas transportasi oksigen dalam darah oleh hemoglobin dan penggunaan oksigen di tingkat seluler. Gas CO₂ sebenarnya tidak beracun bagi organisme perairan, namun pada konsentrasi tertentu dapat mengganggu sistem pernafasan pada manusia dan hewan yang dapat mengakibatkan mati lemas karena kekurangan oksigen (Susana, 1988).

Konsentrasi gas karbon monoksida (CO) yang dikeluarkan oleh asap obat nyamuk bakar sintetik transflutrin 2500 ppm dan obat nyamuk bakar herbal MORIZENA dosis bertingkat dapat dilihat pada Gambar 5.1. Konsentrasi gas karbon monoksida dilakukan dengan metode gravimetri. Adapun ambang baku mutu standard untuk gas karbon monoksida yang tidak menyebabkan kerusakan kesehatan penggunaannya adalah sekitar 300 ppm (Departemen Kesehatan RI, 2004).

Selain keuntungannya membunuh nyamuk, asap yang muncul dari membakar obat nyamuk bakar memiliki efek yang merugikan terhadap sistem biologi. Hal ini disebabkan karena adanya gas-gas yang terdapat di dalam asap obat nyamuk bakar, antara lain CO dan CO₂ yang bersifat toksik pada hewan bukan sasaran. Sifat toksiknya tergantung pada dosis asap obat nyamuk bakar dan berhubungan dengan ukuran tubuh hewan bukan sasaran. Frekuensi paparan obat nyamuk bakar memainkan peranan

penting pada tingkatan kerusakan yang disebabkan oleh gas-gas yang ada di dalam asap (Johnson, 1997; Offor, 2014).



Gambar 5.1. Konsentrasi gas CO antar kelompok perlakuan

Obat nyamuk bakar telah terbukti mengusir, menghentikan dan bahkan mematikan aktivitas nyamuk rumah tangga yang diikuti dengan *knockdown* (MacIver, 1964; Fales dkk., 1968; Mace, 1969; Teshima, 1993), meskipun mortalitas nyamuk yang disebabkan oleh obat nyamuk bakar masih rendah (Smith dan Chadwick, 1964; Smith dan Obudho, 1967; Smith dkk., 1973; Mosha dkk., 1989). Oleh karena itu, maka melalui penelitian ini coba dilakukan dengan membuat obat nyamuk bakar herbal MORIZENA yang merupakan campuran dari ekstrak daun permot (40%), ekstrak biji bunga krisan (40%) dan minyak atsiri daun-batang sereh wangi (20%). Diharapkan gas-gas yang terdapat di dalam asap obat nyamuk bakar herbal MORIZENA, khususnya gas CO tidak menyebabkan kerusakan saluran pernafasan.

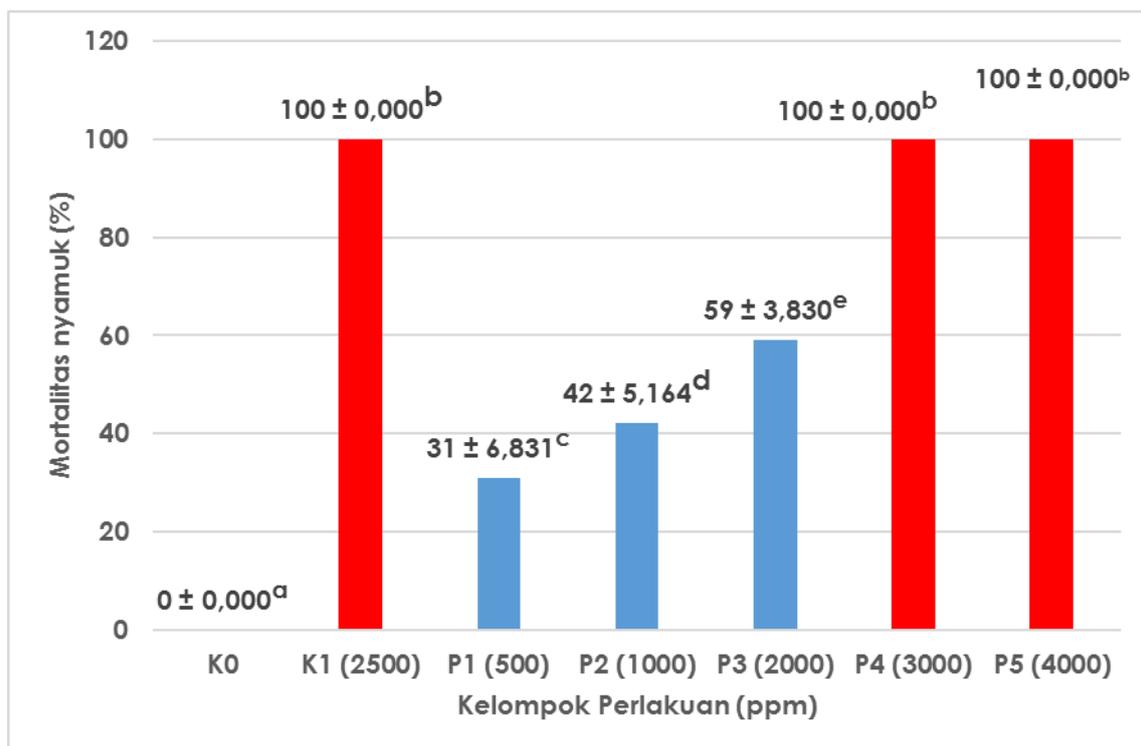
5.3. Hasil Pengamatan Pada *A. aegypti*

5.3.1. Uji Mortalitas KdT_{50} *A. aegypti*

Uji penentuan yang dilakukan terhadap *A. aegypti* setiap jam selama 8 jam memperlihatkan terjadinya peningkatan jumlah kematian (mortalitas) akibat pemberian

paparan obat nyamuk bakar herbal MORIZENA dosis bertingkat serta paparan obat nyamuk bakar sintetik transflutrin 2500 ppm yang hasilnya dapat dilihat pada grafik Gambar 5.2.

Uji *one-way* Anova bertujuan untuk melihat perbedaan yang bermakna dari kelompok MORIZENA dosis bertingkat, kelompok Transflutrin 2500 ppm, dibandingkan dengan kontrol negatif (tanpa paparan obat nyamuk bakar) terhadap mortalitas *A. aegypti*.



Gambar 5.2. Mortalitas *A. aegypti* antar kelompok perlakuan setelah 8 jam pengamatan

Dari hasil uji *one-way* Anova sebagaimana terlihat pada Tabel 5.2, menunjukkan bahwa nilai probabilitas adalah 0,000. Hal ini berarti terdapat perbedaan yang sangat bermakna ($p < 0,01$) antara kelompok kontrol tanpa paparan obat nyamuk bakar dengan kelompok Transflutrin 2500 ppm dan kelompok MORIZENA dosis bertingkat terhadap mortalitas *A. aegypti*. Selanjutnya untuk membandingkan kemaknaan efek setiap dosis MORIZENA, Transflutrin 2500 ppm dengan kontrol negatif (tanpa paparan obat nyamuk bakar) terhadap mortalitas *A. aegypti*, maka analisis dilanjutkan dengan menggunakan uji beda nyata terkecil (BNT) yang hasilnya dapat dilihat pada Tabel 5.3.

Tabel 5.2. Uji *One-way* Anova mortalitas *A. aegypti* antar kelompok perlakuan setelah 8 jam pengamatan

| Sumber Keragaman | Derajat Bebas | Jumlah Kuadrat | Kuadrat Tengah | F-hitung | Sig. |
|------------------|---------------|----------------|----------------|-----------|-------|
| Antar grup | 6 | 38181,714 | 6363,619 | 506,197** | 0,000 |
| Dalam grup | 21 | 264,000 | 12,571 | | |
| Total | 27 | 38445,714 | | | |

** berbeda sangat bermakna ($p < 0,01$)

Tabel 5.3. Uji beda nyata terkecil mortalitas *A. aegypti* antar kelompok perlakuan setelah 8 jam pengamatan

| Kel (ppm) | 0 | 2500 | 500 | 1000 | 2000 | 3000 | 4000 |
|-----------|---|----------|---------|---------|---------|----------|----------|
| 0 | - | 100,000* | 31,000* | 42,000* | 59,000* | 100,000* | 100,000* |
| 2500 | - | - | 69,000* | 58,000* | 41,000* | 0,000 | 0,000 |
| 500 | - | - | - | 11,000* | 28,000* | 69,000* | 69,000* |
| 1000 | - | - | - | - | 17,000* | 58,000* | 58,000* |
| 2000 | - | - | - | - | - | 41,000* | 41,000* |
| 3000 | - | - | - | - | - | - | 0,000 |
| 4000 | - | - | - | - | - | - | - |

* berbeda bermakna ($p < 0.05$)

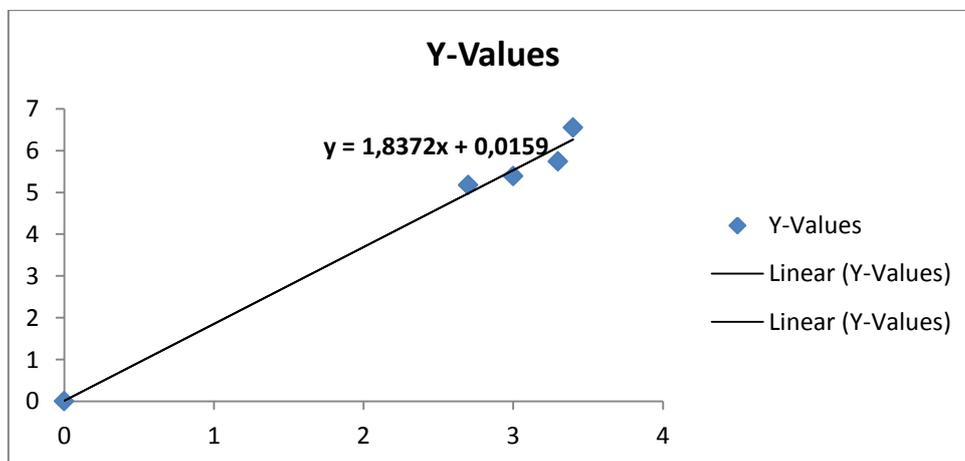
Dari hasil uji beda nyata terkecil pada Tabel 5.3, menunjukkan bahwa mortalitas *A. aegypti* kelompok tanpa paparan obat nyamuk bakar berbeda bermakna dengan kelompok Transflutrin 2500 ppm dan kelompok MORIZENA dosis bertingkat. Sedangkan antara kelompok Transflutrin 2500 ppm tidak berbeda bermakna dengan kelompok MORIZENA dosis 3000 ppm dan dosis 4000 ppm. Hal ini berarti bahwa kelompok Transflutrin 2500 ppm dan kelompok MORIZENA dosis 3000 ppm dan 4000 ppm menyebabkan kematian *A. aegypti* lebih dari 90%.

Hasil penelitian obat nyamuk bakar sintetik transflutrin 2500 ppm tidak berbeda jauh dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Permatasari dkk. (2015) yang menyatakan bahwa insektisida yang berbahan transflutrin sebesar 25% memiliki daya bunuh 100% terhadap nyamuk *A. aegypti* pada menit ke 45.

5.3.2. Uji toksisitas LC₅₀ dan LC₉₀ pada *A. aegypti*

Uji toksisitas (*bioassay*) bertujuan untuk mengetahui daya bunuh dari masing-masing konsentrasi yang diuji terhadap *A. aegypti*. Uji toksisitas dilakukan pada *A. aegypti* menggunakan tingkatan dosis obat nyamuk bakar herbal MORIZENA 500 ppm, 1000 ppm, 2000 ppm, 3000 ppm hingga 4000 ppm serta menggunakan obat nyamuk bakar sintetik transflutrin 2500 ppm. Data uji toksisitas LC₅₀ dan LC₉₀ pada kontrol tanpa paparan tidak terdapat *A. aegypti* yang mati, maka data mortalitas tersebut dikoreksi dengan menggunakan rumus Abbot (Busvine, 1971) sehingga didapatkan mortalitas terkoreksi terhadap *A. aegypti* yang selanjutnya akan dianalisis dengan uji probit.

Setelah diketahui mortalitas terkoreksi maka data dihitung dengan menggunakan analisis regresi linier (SAS, 1996). Persamaan regresi yang diperoleh dari hasil analisis adalah $Y = 1,8372X + 0,0159$ (Y adalah mortalitas *A. aegypti* dan X adalah dosis obat nyamuk bakar herbal MORIZENA dengan dosis bertingkat). Dari persamaan regresi tersebut nilai dosis MORIZENA yang menyebabkan mortalitas *A. aegypti* sebanyak 50% (LC₅₀) hasilnya sebesar 999 ppm dan LC₉₀ sebesar 2977 ppm.



Gambar 5.3. Estimasi hubungan antara kelompok perlakuan terhadap mortalitas *A. aegypti*

Pada Gambar 5.3 dapat diketahui bahwa semakin tinggi dosis MORIZENA yang diberikan maka semakin tinggi pula persentase mortalitas *A. aegypti*. Selain itu, dari grafik dapat dilihat rata-rata mortalitas *A. aegypti* 50% (LC₅₀) terletak di antara

MORIZENA dosis 500 ppm dan 1000 ppm, sedangkan untuk LC₉₀ terletak di antara dosis 2000 ppm dan 3000 ppm. Dari hasil penelitian tersebut didapatkan bahwa nilai LC₅₀ yang dapat menyebabkan kematian 50% *A. aegypti* adalah pada dosis 999 ppm dan nilai LC₉₀ yang dapat menyebabkan kematian 90% *A. aegypti* adalah pada dosis 2977 ppm dengan waktu pengamatan selama 8 jam.

Hasil *trend* regresi yang digunakan untuk melihat pola hubungan tingkat konsentrasi MORIZENA dengan besarnya mortalitas *A. aegypti* menunjukkan hasil terjadinya hubungan yang positif antara peningkatan dosis MORIZENA yang diberikan dengan besarnya mortalitas *A. aegypti*.

Berdasarkan uji toksisitas ini menunjukkan bahwa paparan MORIZENA dosis bertingkat yang dilakukan dalam penelitian ini merupakan faktor utama yang mempengaruhi mortalitas *A. aegypti*. Hal tersebut dapat dibuktikan dengan semakin tingginya dosis paparan MORIZENA semakin besar jumlah kematian nyamuknya. Heterogenitas yang diperlihatkan dalam analisis uji probit tersebut adalah disebabkan karena adanya variasi dari dosis MORIZENA yang digunakan dalam uji potensi pada *A. aegypti*.

Sebagaimana dikemukakan Hartati (2000) bahwa daya insektisida dari setiap konsentrasi obat nyamuk bakar dapat mempengaruhi laju konsumsi oksigen dan proses metamorfosis *A. aegypti*. Daya bunuh insektisida hayati ini dikarenakan terdapat zat toksik yang merupakan racun lambung dan racun kontak pada hewan berbadan lunak. Disamping itu penggunaan insektisida hayati dimaksudkan untuk meninggalkan insektisida sintesis tetapi hanya merupakan suatu cara alternatif dengan tujuan agar pengguna tidak harus bergantung pada insektisida sintetik. Tujuan lain juga adalah agar penggunaan insektisida sintesis dapat diminimalkan sehingga kerusakan lingkungan yang diakibatkan dapat dikurangi. Disamping itu penggunaan insektisida hayati akan meningkatkan perkembangan argo industri khususnya industri pedesaan, pertumbuhan usaha baru dan pelestarian lingkungan.

Tarumingkeng (1989) menyatakan bahwa langkah pertama dalam pengamatan terhadap efek keracunan adalah pengamatan terhadap respon fisik tingkah laku hewan uji. Respon yang dihasilkan merupakan dasar bagi klasifikasi bahan racun. Dijelaskan lebih lanjut bahwa gejala-gejala yang diperlihatkan akibat pengaruh dari perlakuan yang

diberikan akan menunjukkan 4 tahap respon hewan antara lain eksitasi, konvulsi, paralisis dan akhirnya mati.

Pada nyamuk dewasa seperti yang dikemukakan oleh WHO (1984), bahwa gejala yang diperlihatkan sebagai akibat dari pengaruh insektisida adalah timbulnya kekakuan pada tubuh nyamuk akibat bekerjanya insektisida yang menyerang sistem saraf yang ditunjukkan dengan nyamuk tidak dapat terbang (pingsan atau *knock down*) beberapa saat dan akhirnya mati. Kematian nyamuk juga disebabkan karena racun yang bekerja dalam sistem pencernaan (spirakel) yang menyebabkan nyamuk menjadi mati.

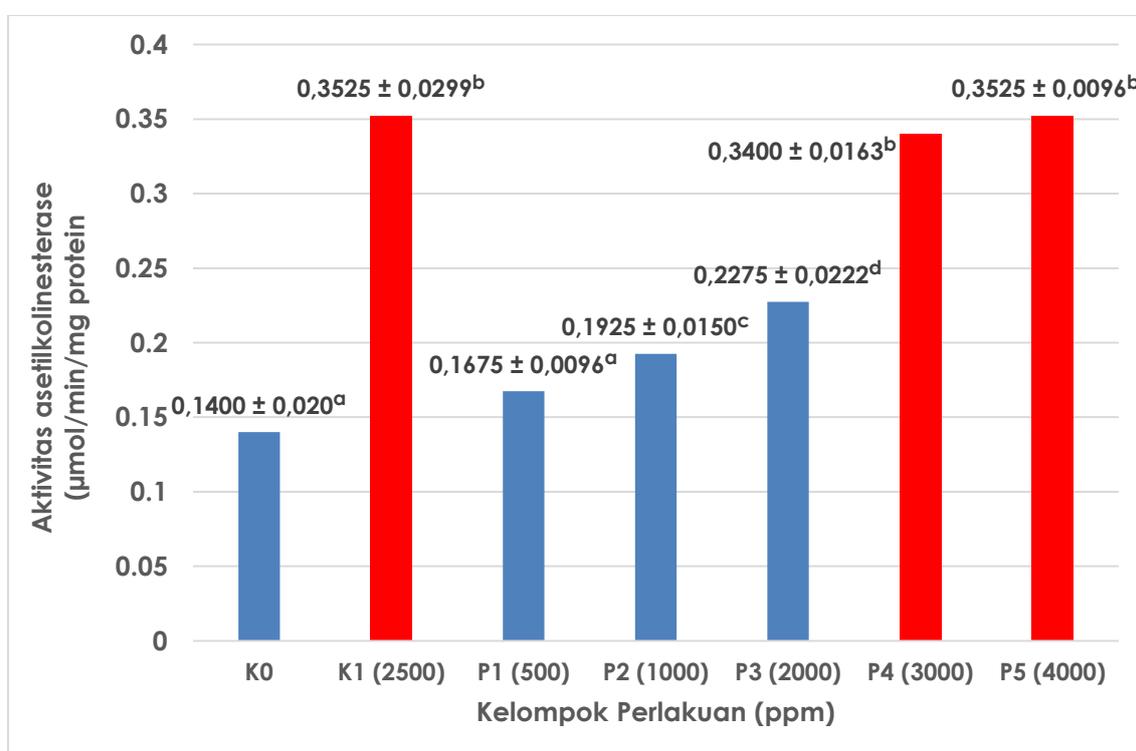
Secara umum racun saraf menimbulkan 4 tahap gejala yaitu : eksitasi, konvulsi (kekejangan), paralisis (kelumpuhan) dan kematian. Tahap-tahap ini tidak senantiasa lengkap dan hanya beberapa yang dapat diamati. Waktu antara aplikasi racun dengan timbulnya gejala tahap pertama disebut periode laten. Periode laten sering dijumpai pada aplikasi racun-racun perut. Tahap eksitasi sering didahului dengan kegelisahan (*anxiety*). Pada tahap *anxiety* nyamuk menunjukkan gerakan-gerakan seperti membersihkan badan yaitu tampak bahwa nyamuk membersihkan antena atau bagian tubuh lain. Proses keracunan tersebut menimbulkan tanda-tanda berikut seperti gerakan yang cepat, gelisah dengan mengangkat kaki dengan cara menggulung dan kepala bergerak-gerak. Pada masa akhir eksitasi nyamuk akan kehilangan keseimbangan dan terbang sempoyongan (*ataxia*) dan jatuh (Tarumingkeng, 1989).

Dari penelitian ini didapatkan bahwa LC_{50} yang dapat menyebabkan kematian *A. aegypti* adalah dosis 999 ppm dan dosis 2977 ppm untuk LC_{90} . Hasil di atas dapat dikatakan bahwa paparan MORIZENA yang diujicobakan terhadap *A. aegypti* mempunyai efek toksik (racun) yang tinggi sehingga dapat digolongkan sebagai bioinsektisida. Menurut WHO (1976) bahwa insektisida dikatakan baik bila memperlihatkan tingkat konsentrasi yang tinggi dengan waktu yang digunakan lebih pendek.

5.3.3. Aktivitas enzim asetilkolinesterase nyamuk *A. aegypti*

A. aegypti yang digunakan pada penelitian ini setelah mati dilakukan uji aktivitas enzim asetilkolinesterase. Uji aktivitas enzim asetilkolinesterase perlu dilakukan karena ada hubungan antara keadaan paralisis dan *knockdown* pada *A. aegypti* dengan meningkatnya aktivitas enzim asetilkolinesterase. Masing-masing nyamuk

dihomogenisasi pada larutan *buffer* yang sesuai pada suhu 4°C dan 10 g supernatan yang kemudian digunakan untuk menentukan aktivitas enzim. Metode untuk menentukan ensensitif enzim asetilkolinesterase (IChE) berdasarkan metode yang telah dilakukan oleh Constant dan Bonning (1989). Hasil pengukuran aktivitas asetilkolinesterase dinyatakan dalam molar substrat terhidrolisis per menit per mg protein seperti yang tertera pada Gambar 5.4. Pengukuran aktivitas enzim asetilkolinesterase pada *A. aegypti* dilakukan dengan menggunakan modifikasi metode Ellman dkk. (1961).



Gambar 5.4. Aktivitas enzim asetilkolinesterase *A. aegypti* antar kelompok perlakuan setelah 8 jam pengamatan

Uji *One-way* Anova bertujuan untuk melihat perbedaan yang bermakna dari kelompok kontrol tanpa paparan, kelompok kelompok MORIZENA dosis bertingkat dan kelompok Transflutrin 2500 ppm terhadap aktivitas enzim asetilkolinesterase *A. aegypti* yang hasilnya dapat dilihat pada Tabel 5.4.

Dari hasil uji *one-way* Anova sebagaimana yang terlihat pada Tabel 5.4, menunjukkan bahwa nilai probabilitas adalah 0,000. Hal ini berarti bahwa terdapat

perbedaan yang sangat bermakna ($p < 0,01$) pada kelompok kontrol tanpa paparan, kelompok MORIZENA dosis bertingkat, dan kelompok Transflutrin 2500 ppm terhadap aktivitas enzim asetilkolinesterase *A. aegypti*.

Tabel 5.4. Uji *one-way* Anova aktivitas enzim asetilkolinesterase *A. aegypti* antar kelompok perlakuan setelah 8 jam pengamatan

| Sumber Keragaman | Derajat Bebas | Jumlah Kuadrat | Kuadrat Tengah | F-hitung | Sig. |
|------------------|---------------|----------------|----------------|----------|-------|
| Antar grup | 6 | 0,207 | 0,035 | 98,254** | 0,000 |
| Dalam grup | 21 | 0,007 | 0,000 | | |
| Total | 27 | 0,214 | | | |

** berbeda sangat bermakna ($p < 0,01$)

Dari hasil uji *one-way* Anova sebagaimana yang terlihat pada Tabel 5.4, menunjukkan bahwa nilai probabilitas adalah 0,000. Hal ini berarti bahwa terdapat perbedaan yang sangat bermakna ($p < 0,01$) pada kelompok kontrol tanpa paparan, kelompok MORIZENA dosis bertingkat dan kelompok Transflutrin 2500 ppm terhadap aktivitas enzim asetilkolinesterase *A. aegypti*.

Selanjutnya untuk membandingkan kemaknaan pada kelompok kontrol tanpa paparan, kelompok MORIZENA dosis bertingkat, dan kelompok Transflutrin 2500 ppm terhadap aktivitas enzim asetilkolinesterase *A. aegypti*, maka analisis dilanjutkan dengan menggunakan uji beda nyata terkecil (BNT) yang hasilnya dapat dilihat pada Tabel 5.5.

Tabel 5.5. Uji beda nyata terkecil aktivitas asetilkolinesterase *A. aegypti* antar kelompok perlakuan setelah 8 jam pengamatan

| Kel (ppm) | 0 | 2500 | 500 | 1000 | 2000 | 3000 | 4000 |
|-----------|---|---------|---------|---------|---------|----------|---------|
| 0 | - | 0,2125* | 0,0275 | 0,0683* | 0,1000* | 0,1592* | 0,1617* |
| 2500 | - | - | 0,1217* | 0,0950* | 0,0633* | 0,0042 | 0,0017 |
| 500 | - | - | - | 0,0267 | 0,5833* | 0,1175* | 0,1200* |
| 1000 | - | - | - | - | 0,0317 | 0,0908* | 0,0933* |
| 2000 | - | - | - | - | - | 0,05917* | 0,0617* |
| 3000 | - | - | - | - | - | - | 0,0250 |
| 4000 | - | - | - | - | - | - | - |

* berbeda bermakna ($p < 0,05$)

Dari hasil uji beda nyata terkecil pada Tabel 5.5, menunjukkan bahwa aktivitas enzim asetilkolinesterase *A. aegypti* kelompok tanpa paparan asap obat nyamuk bakar berbeda bermakna dengan kelompok Transflutrin 2500 ppm dan kelompok MORIZENA dosis bertingkat. Sedangkan antara kelompok Transflutrin 2500 ppm tidak berbeda bermakna dengan kelompok MORIZENA dosis 3000 ppm dan 4000 ppm. Hal ini berarti bahwa kelompok Transflutrin 2500 ppm dan kelompok MORIZENA 3000 ppm serta 4000 ppm menyebabkan meningkatnya aktivitas enzim asetilkolinesterase *A. aegypti*.

A. aegypti yang digunakan pada penelitian ini setelah mati dilakukan uji untuk enzim asetilkolinesterase. Hal ini disebabkan ada hubungan antara kelumpuhan (paralisis) nyamuk yang berdampak pada kematian nyamuk yang disebabkan karena meningkatnya aktivitas enzim asetilkolinesterase. Penghitungan aktivitas enzim asetilkolinesterase dilakukan pada jam ke-1, ke-4 dan ke-8 setelah *A. aegypti* mati.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kelompok MORIZENA dosis 3000 ppm sampai dosis 4000 ppm mampu menyebabkan mortalitas *A. aegypti* yang tinggi (> 90%). Dari pengamatan setelah paparan MORIZENA dosis bertingkat, mortalitas *A. aegypti* pada kelompok MORIZENA dosis 4000 ppm dan kelompok Transflutrin 2500 ppm terjadi serentak dalam jangka waktu pendek. Namun adapula *A. aegypti* pada kelompok MORIZENA dosis 500 ppm hingga 2000 ppm hanya mengalami pingsan (paralisis), kemudian nyamuk pulih kembali. Hal ini dikarenakan jumlah racun pada kelompok MORIZENA kurang dari dosis 2000 ppm, yaitu tidak cukup mematikan *A. aegypti* (Suriati dan Kardinan, 1999; Winslow, 2002).

Serangga sasaran dalam hal ini *A. aegypti* akan mati bila menghirup asap MORIZENA dosis bertingkat, terutama dosis 3000 ppm dan 4000 ppm yang mengandung racun pernafasan dalam jumlah yang cukup (campuran senyawa harmalin, harmin dan ermanin dari ekstrak daun permot, piretrin dari ekstrak biji bunga krisan dan sitronelol dari distilat daun-batang sereh). Adapun racun kontak menyebabkan kematian serangga karena kontak langsung dengan insektisida melalui kulit (jaringan epidermis). Harris (1987) menyatakan bahwa sitronelol dan sitronelal bersifat racun dehidrasi (desiccant) saat kontak dengan serangga dan mati akibat kehilangan cairan terus menerus. Senyawa piretrin yang terdapat pada ekstrak biji bunga krisan dan senyawa harmalin, harmin serta ermanin pada ekstrak daun permot memiliki aktivitas

mekanisme kerja racun kontak sedangkan sitronelol dan sitronelal memiliki mekanisme kerja racun perut yang pada akhirnya akan menghambat enzim asetilkolinesterase, sehingga terjadi fosforilasi asam amino serin pada pusat asteratik enzim bersangkutan. Gejala keracunannya timbul karena adanya penimbunan asetilkolin yang menyebabkan gangguan sistem saraf pusat, kejang, kelumpuhan pernafasan dan kematian. Mortalitas yang terjadi pada *A. aegypti* disebabkan kemampuan bahan aktif MORIZENA yang dapat mengganggu aliran Na^+ (*sodium*) dalam sel saraf dan neurotransmitter (transmitter kimia) pada sinaps (Winslow, 2002).

Ermanin, harmalin, harmin dan piretrin dalam saraf akan memperpanjang aliran ion Na^+ masuk ke dalam membran dengan cara memperlambat atau menghalangi penutupan *channel*. Apabila ermanin, harmalin, harmin dan piretrin memperlambat penutupan *channel* maka saraf dalam keadaan depolarisasi cukup lama, sehingga ion Na^+ akan banyak masuk ke dalam membran. Hal ini akan menimbulkan gejala kejang dan gemetar. Ermanin, harmalin, harmin dan piretrin juga mampu menghalangi penutupan *channel*, keadaan ini akan menyebabkan membran kelebihan ion Na^+ yang akhirnya saraf menjadi tidak aktif. Ketidakaktifan saraf ini dikarenakan saraf terlalu positif dan sulit untuk repolarisasi (kembali ke keadaan semula). Gejala yang akan ditimbulkan adalah kelumpuhan atau paralisis (Winslow, 2002).

Keberadaan piretrin pada sinaps akan mengganggu transmitter kimia (neurotransmitter) yaitu asetilkolin (ACh) (Winslow, 2002). Piretrin akan meningkatkan asetilkolin dan menghambat enzim memecah dalam asetilkolin. Asetilkolin berfungsi memberikan sifat permeabilitas pada membran postsinaptik yang menyebabkan perpindahan ion Na^+ sehingga terjadi depolarisasi. Asetilkolin akan segera dihidrolisis oleh enzim asetilkolinesterase yang terdapat dalam jumlah besar pada sinaps (Winatasmita dan Soesilowaty, 1985). Dengan adanya piretrin, enzim tidak dapat memecah transmitter kimia asetilkolin, sehingga asetilkolin akan terus meningkat akibatnya membran akan kelenihan ion positif. Pada keadaan tersebut nyamuk akan mengalami paralisis dan akhirnya kematian (Winslow, 2002).

Insektisida berbahan piretrin mempunyai cara kerja menghambat enzim asetilkolinesterase, sehingga menimbulkan gangguan pada aktivitas saraf karena tertimbunnya asetilkolin pada ujung saraf. Fungsi dari enzim asetilkolinesterase adalah

menghidrolisa asetilkolin menjadi kolin dan asam cuka, sehingga bila enzim tersebut dihambat maka hidrolisa asetilkolin, tidak terjadi sehingga otot akan tetap berkontraksi dalam waktu lama maka akan terjadi kekejangan (Perumalsam, 2009; Ndione, 2007).

Pada ujung saraf dari sistem saraf serangga akan dihasilkan asetilkolin apabila saraf tersebut mendapatkan stimulasi atau rangsangan. Asetilkolin ini berfungsi sebagai mediator atau perantara, antara saraf dan otot daging sehingga memungkinkan impuls listrik yang merangsang otot daging untuk berkontraksi. Setelah periode kontraksi selesai, maka asetilkolin akan dihancurkan oleh enzim asetilkolinesterase menjadi kolin, laktat dan air. Bila asetilkolin tidak segera dihancurkan maka otot akan tetap berkontraksi dalam waktu lama sehingga akan terjadi kekejangan atau konvulsi. Dengan menggunakan obat nyamuk bakar berbahan piretrin, maka enzim asetilkolinesterase akan diikat atau dihancurkan sehingga terjadi kekejangan otot secara terus menerus, dan serangga akhirnya akan mati. Jadi seperti halnya senyawa organophosphat lainnya, obat nyamuk bakar berbahan piretrin juga bersifat anti asetilkolinesterase.

Efek kematian *A. aegypti* karena paparan asap MORIZENA dosis bertingkat dapat disebabkan juga oleh bahan aktif minyak atsiri daun-batang sereh yang diduga memiliki kandungan sitronela. Sitronela mempunyai sifat racun (*desiscant*), menurut cara kerjanya racun ini seperti racun kontak yang dapat memberikan kematian, karena kehilangan cairan secara terus-menerus sehingga tubuh kekurangan cairan. Mekanisme kerja sitronela yaitu menghambat enzim asetilkolinesterase dengan melakukan fosforilasi asam amino serin pada pusat asteratik enzim bersangkutan. Gejala keracunannya, karena adanya penimbunan asetilkolin yang menyebabkan terjadinya keracunan khusus yang ditandai dengan gangguan sistem saraf pusat, kejang, kelumpuhan pernafasan, dan kematian.

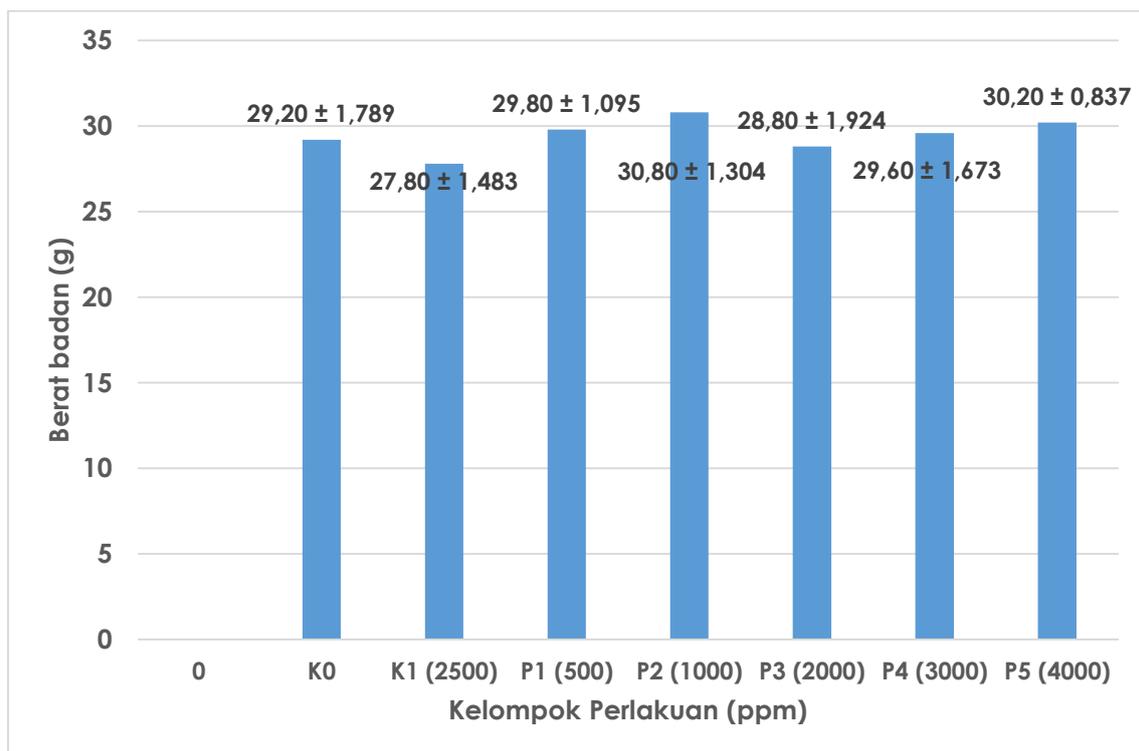
Penyebab kelemahan pada saraf serangga juga dapat yang disebabkan oleh bahan aktif flavonoid yang terdapat pada MORIZENA, dimana fungsinya adalah menghambat kerja enzim asetilkolinesterase. Asetilkolin yang dibentuk oleh sistem saraf pusat berfungsi untuk menghantarkan impuls dari sel saraf ke sel otot. Setelah impuls dihantarkan, proses dihentikan oleh enzim asetilkolinesterase yang memecah asetilkolin menjadi asetil ko-A dan kolin. Adanya flavonoid akan menghambat bekerjanya enzim ini sehingga terjadi penumpukan asetilkolin yang akan menyebabkan terjadinya

gangguan pada sistem penghantaran impuls ke otot yang dapat berakibat otot kejang, terjadi paralisis dan berakhir pada kematian.

5.4. Hasil Pengamatan Pada Mencit (*Mus musculus*)

5.4.1. Berat badan mencit

Penimbangan berat badan mencit dilakukan di awal penelitian dan setelah 12 minggu perlakuan (sebelum dikorbankan untuk dibuat preparat histologis saluran pernafasannya). Hasil pengamatan rata-rata berat badan mencit antara kelompok kontrol tanpa paparan obat nyamuk bakar, kelompok Transflutrin 2500 ppm dan kelompok MORIZENA dosis bertingkat disajikan pada Tabel 5.6. Rata-rata berat badan akhir mencit mengalami penurunan pada kelompok Transflutrin 2500 ppm dan kelompok MORIZENA dosis 4000 ppm, sedangkan pada kelompok kontrol tanpa paparan dan kelompok MORIZENA dosis 500 ppm, 1000 ppm, 2000 ppm dan 3000 ppm terjadi peningkatan berat badan setelah 12 minggu perlakuan (Gambar 5.5).



Gambar 5.5. Berat badan mencit antar kelompok perlakuan selama 12 minggu perlakuan, tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan ($p > 0,05$)

Uji *One-way Anova* bertujuan untuk melihat perbedaan yang bermakna dari kelompok MORIZENA dosis bertingkat dan kelompok Transflutrin 2500 ppm terhadap berat badan mencit, yang hasilnya dapat dilihat pada Tabel 5.6.

Dari hasil analisis uji *one-way Anova* sebagaimana yang terlihat pada Tabel 5.6, menunjukkan bahwa nilai probabilitas adalah 0,856. Hal ini berarti bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna ($p > 0,05$) dari efek setiap level dosis MORIZENA, kelompok Transflutrin 2500 ppm dan kontrol tanpa paparan obat nyamuk bakar terhadap berat badan mencit. Maka dapat dikatakan bahwa kelompok MORIZENA dosis bertingkat dan kelompok Transflutrin 2500 ppm tidak menyebabkan perubahan berat badan mencit setelah 12 minggu perlakuan. Hal ini sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Liu dan Wong (1988) yang menyatakan bahwa tikus yang terpapar obat nyamuk bakar sintesis piretroid selama 2 bulan, 8 jam per hari, 6 hari per minggu, memiliki berat badan yang lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol (tanpa paparan asap obat nyamuk bakar).

Tabel 5.6. Uji *one-way Anova* berat badan mencit antar kelompok perlakuan selama 12 minggu perlakuan

| Sumber Keragaman | Derajat Bebas | Jumlah Kuadrat | Kuadrat Tengah | F-hitung | Sig. |
|------------------|---------------|----------------|----------------|----------|-------|
| Antar grup | 6 | 28,686 | 4,781 | 2,159 | 0,078 |
| Dalam grup | 28 | 62,000 | 2,214 | | |
| Total | 34 | 597,611 | 27,875 | | |

Tidak berbeda bermakna ($p > 0,05$)

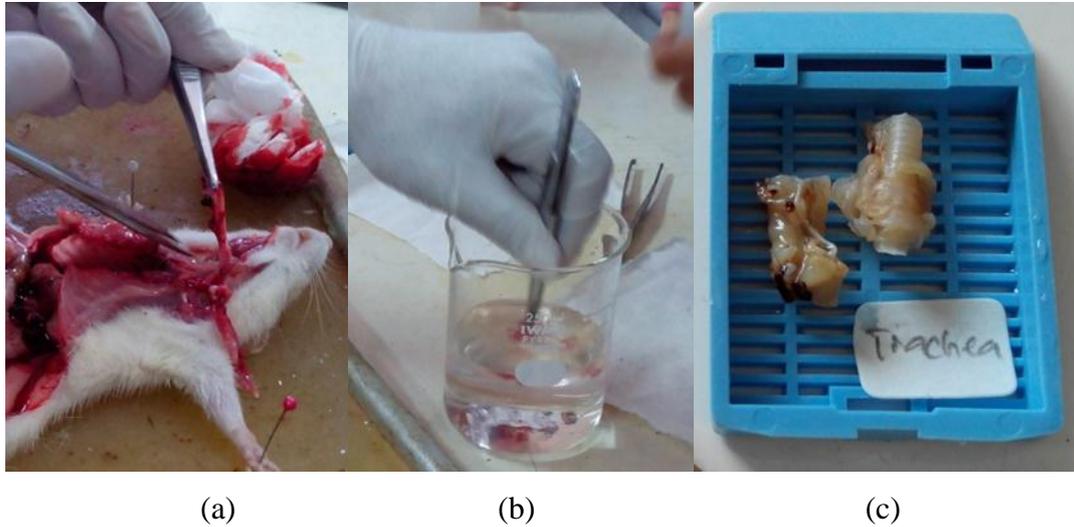
5.4.2. Trakea mencit

Pada minggu ke-13 mencit dikorbankan dan dilakukan pembedahan untuk mengambil trakea seperti pada Gambar 5.6. Pembuatan sediaan histologis dilakukan dengan pembuatan preparat irisan metode parafin menurut Winarni dkk. (2000).

5.4.2.1. Struktur sel epitel berlapis semu silindris bersilia

Pada umumnya komponen asap merupakan gas dan partikel yang ikut terinhalasi ke dalam sistem pernafasan (Anindyajati, 2007). Inhalasi asap, seperti asap obat nyamuk bakar (MORIZENA dosis bertingkat dan Transflutrin 2500 ppm) dapat berpengaruh terhadap perubahan histopatologi komponen utama epitel saluran

pernafasan seperti trakea mencit. Perubahan komponen utama sel epitel trakea setelah diberi paparan asap obat nyamuk bakar (MORIZENA dosis bertingkat dan Transflutrin 2500 ppm) selama 12 minggu ditampilkan pada Tabel 5.7.



Gambar 5.6. Struktur anatomi trakea mencit, (a) Pembedahan mencit, diambil trakea, (b) Potongan trakea mencit dibilas dengan menggunakan buffer formalin 10%, (c) Potongan trakea yang sudah bersih ditempatkan dalam kaset

Tabel 5.7. Perubahan histopatologis trakea mencit antar kelompok perlakuan

| Kelompok (ppm) | Perubahan histopatologis trakea mencit |
|----------------|--|
| 0 | epitel berlapis semu silindris, bersilia, jumlah sel goblet normal |
| 2500 | Epitel berlapis pipih, silia mereduksi, jumlah sel goblet meningkat |
| 500 | epitel berlapis semu silindris, bersilia, jumlah sel goblet normal |
| 1000 | epitel berlapis semu silindris, bersilia, jumlah sel goblet normal |
| 2000 | epitel berlapis semu silindris, bersilia, jumlah sel goblet normal |
| 3000 | epitel berlapis semu silindris, bersilia, jumlah sel goblet normal |
| 4000 | epitel berlapis semu silindris, silia mereduksi, jumlah sel goblet meningkat |

Berdasarkan hasil statistik deskriptif diketahui bahwa jumlah sampel yang digunakan adalah sebanyak 60. Rata-rata skor adalah 1,40 dengan standar deviasi 0,669. Nilai minimum skor adalah 1 dan maksimum adalah 3. Hasil uji Kruskal Wallis menunjukkan skor derajat kerusakan epitel trakea seperti pada Tabel 5.8. Skoring ini menunjukkan bahwa rata-rata skor 1 sebesar 10,50; skor 2 sebesar 25,50 dan skor 3 sebesar 10,50. Hasil uji statistik terakhir menunjukkan nilai Chi-square 27, 885 dengan

Asymp. Sig 0,000. Karena nilai Asymp. Sig < 0,05 maka dapat disimpulkan bahwa H_0 ditolak dan H_1 diterima, ada perbedaan kerusakan trakea berdasarkan skor derajat kerusakan.

Tabel 5.8. Uji Kruskal-Wallis skor derajat kerusakan trakea mencit antar kelompok perlakuan selama 12 minggu perlakuan

| Test Statistics ^{a,b} | |
|--------------------------------|--------|
| | skor |
| Chi-Square | 27,885 |
| df | 2 |
| Asymp. Sig. | ,000 |

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: kelompok

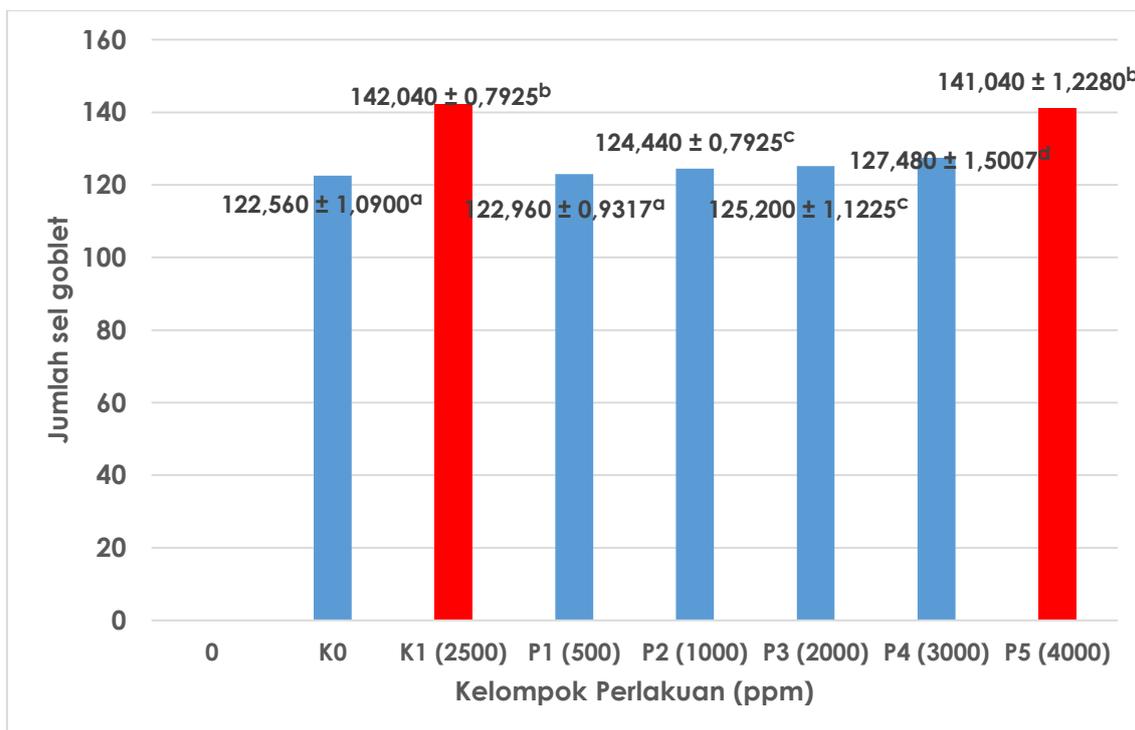
5.4.2.2. Jumlah sel goblet trakea

Salah satu sel yang juga berperan penting dalam mengatasi paparan asap obat nyamuk bakar adalah sel goblet yang terletak di antara sel-sel epitel berlapis semu silindris lapisan mukosa trakea. Penghitungan jumlah sel goblet pada lapisan mukosa trakea mengikuti metode yang dikemukakan oleh Ellefsen dan Tos (1972a; 1972b).

Bertambahnya jumlah sel goblet pada lapisan mukosa trakea mencit setelah 12 minggu perlakuan dapat dilihat pada Gambar 5.7. Uji *one-way* Anova bertujuan untuk melihat perbedaan yang bermakna dari kelompok MORIZENA dosis bertingkat dan kelompok Transflutrin 2500 ppm terhadap jumlah sel goblet trakea mencit yang hasilnya dapat dilihat pada Tabel 5.9.

Dari hasil uji *one-way* Anova sebagaimana yang terlihat pada Tabel 5.9, menunjukkan bahwa nilai probabilitas adalah 0,000. Hal ini berarti bahwa terdapat perbedaan yang sangat bermakna ($p < 0,01$) pada kelompok kontrol tanpa paparan, kelompok MORIZENA dosis bertingkat, dan kelompok Transflutrin 2500 ppm terhadap jumlah sel goblet trakea mencit.

Selanjutnya untuk membandingkan kemaknaan pada kelompok kontrol tanpa paparan, kelompok MORIZENA dosis bertingkat, dan kelompok Transflutrin 2500 ppm terhadap jumlah sel goblet trakea mencit, maka analisis dilanjutkan dengan menggunakan uji beda nyata terkecil (BNT) yang hasilnya dapat dilihat pada Tabel 5.10.



Gambar 5.7. Jumlah sel goblet trakea mencit antar kelompok perlakuan selama 12 minggu perlakuan

Tabel 5.9. Uji *one-way Anova* jumlah sel goblet trakea mencit antar kelompok perlakuan selama 12 minggu perlakuan

| Sumber Keragaman | Derajat Bebas | Jumlah Kuadrat | Kuadrat Tengah | F-hitung | Sig. |
|------------------|---------------|----------------|----------------|-----------|-------|
| Antar grup | 6 | 2147,227 | 357,871 | 300,660** | 0,856 |
| Dalam grup | 28 | 33,328 | 1,190 | | |
| Total | 34 | 2180,555 | | | |

** Berbeda sangat bermakna ($p < 0,01$)

Dari hasil uji beda nyata terkecil pada Tabel 5.10, menunjukkan bahwa jumlah sel goblet kelompok tanpa paparan asap obat nyamuk bakar berbeda bermakna dengan kelompok Transflutrin 2500 ppm, kelompok MORIZENA dosis 1000 ppm, 2000 ppm, 3000 ppm dan 4000 ppm, tetapi tidak bermakna dengan kelompok MORIZENA dosis 500 ppm. Sedangkan antara kelompok Transflutrin 2500 ppm tidak berbeda bermakna dengan kelompok MORIZENA dosis 4000 ppm. Hal ini berarti bahwa kelompok

Transflutrin 2500 ppm dan kelompok MORIZENA dosis 4000 ppm menyebabkan meningkatnya jumlah sel goblet trakea mencit.

Tabel 5.10. Uji beda nyata terkecil jumlah sel goblet trakea mencit antar kelompok perlakuan setelah 8 jam pengamatan

| Kel (ppm) | 0 | 2500 | 500 | 1000 | 2000 | 3000 | 4000 |
|-----------|---|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| 0 | - | 19,4800* | 0,4000 | 1,8800* | 2,6400* | 4,9200* | 18,4800* |
| 2500 | - | - | 19,0800* | 17,6000* | 16,8400* | 14,5600* | 1,0000 |
| 500 | - | - | - | 1,4800* | 2,2400* | 4,5200* | 18,0800* |
| 1000 | - | - | - | - | 0,7600 | 3,0400* | 16,6000* |
| 2000 | - | - | - | - | - | 2,2800* | 15,8400* |
| 3000 | - | - | - | - | - | - | 13,56* |
| 4000 | - | - | - | - | - | - | - |

* berbeda bermakna ($p < 0.05$)

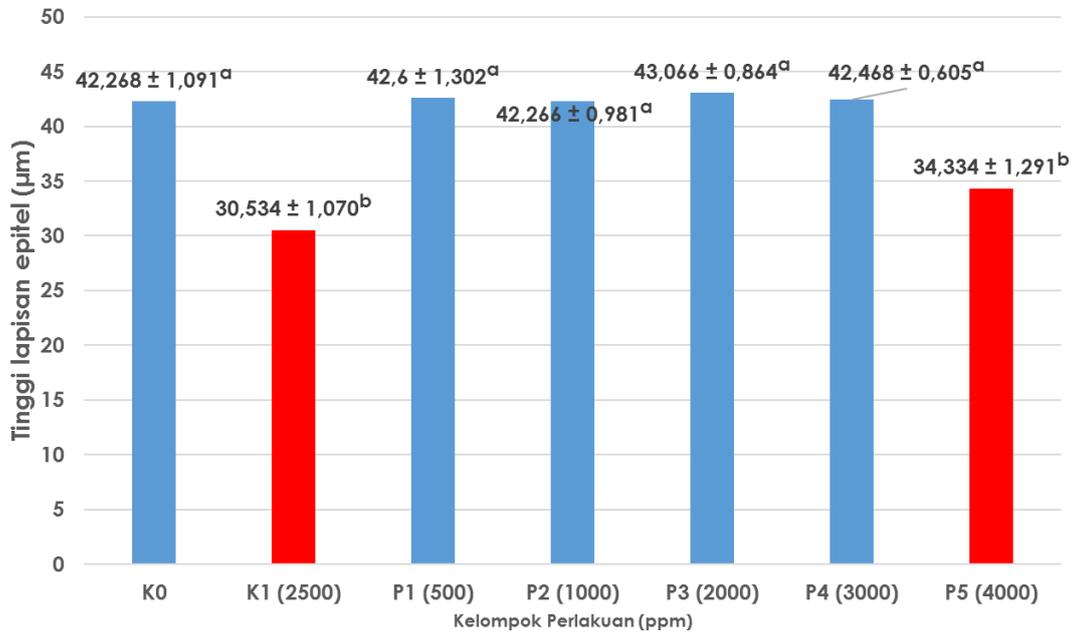
Hal ini sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Johansson dkk. (2013) yang menyatakan bahwa fungsi utama sel goblet pada lapisan mukosa jaringan trakea adalah untuk mensekresikan mukus untuk kebutuhan melindungi membran mukus. Selain itu, sel goblet mengeluarkan mucin dan sejumlah besar glikoprotein yang sebagian besar dibentuk oleh karbohidrat. Mucin disimpan dalam granula di dalam sel goblet sebelum dilepaskan ke lumen suatu organ. Sekresi kemungkinan dirangsang oleh bahan-bahan iritan seperti debu dan asap dalam hal ini asap MORIZENA dosis bertingkat dan Transflutrin 2500 ppm, terutama pada saluran nafas.

5.4.2.3. Tinggi lapisan epitel trakea

Kerusakan silia pada permukaan epitel trakea dapat mempengaruhi tinggi lapisan epitelnya. Hasil pengukuran tinggi lapisan epitel trakea mencit setelah 12 minggu perlakuan dapat dilihat pada Gambar 5.8. Uji *one-way* Anova bertujuan untuk melihat perbedaan yang bermakna dari kelompok MORIZENA dosis bertingkat dan kelompok Transflutrin 2500 ppm terhadap tinggi lapisan epitel trakea mencit yang hasilnya dapat dilihat pada Tabel 5.11.

Dari hasil uji *one-way* Anova sebagaimana yang terlihat pada Tabel 5.11, menunjukkan bahwa nilai probabilitas adalah 0,000. Hal ini berarti bahwa terdapat perbedaan yang sangat bermakna ($p < 0,01$) dari efek setiap level kelompok

MORIZENA dosis bertingkat, kelompok Transflutrin 2500 ppm dan kelompok kontrol tanpa paparan asap obat nyamuk bakar terhadap tinggi lapisan epitel trakea mencit.



Gambar 5.8. Rerata tinggi lapisan epitel trakea mencit antar kelompok perlakuan selama 12 minggu perlakuan

Tabel 5.11. Uji *one-way* Anova tinggi lapisan epitel trakea mencit antar kelompok perlakuan selama 12 minggu perlakuan

| Sumber Keragaman | Derajat Bebas | Jumlah Kuadrat | Kuadrat Tengah | F-hitung | Sig. |
|------------------|---------------|----------------|----------------|-----------|-------|
| Antar grup | 6 | 766,857 | 127,809 | 115,143** | 0,000 |
| Dalam grup | 28 | 31,080 | 1,110 | | |
| Total | 34 | 797,937 | 138,919 | | |

** berbeda sangat bermakna ($p < 0,01$)

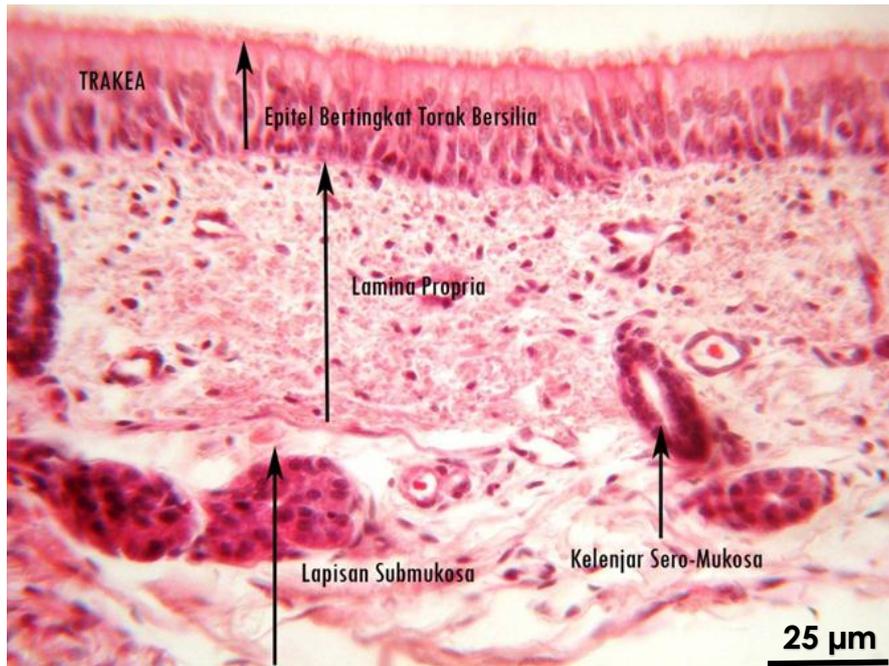
Selanjutnya untuk membandingkan kemaknaan efek setiap level konsentrasi kelompok MORIZENA, kelompok Transflutrin 2500 ppm dan tanpa paparan asap obat nyamuk bakar terhadap tinggi lapisan epitel trakea mencit, maka analisis dilanjutkan dengan menggunakan uji beda nyata terkecil yang hasilnya dapat dilihat pada Tabel 5.12.

Tabel 5.12. Uji beda nyata terkecil tinggi lapisan epitel trakea mencit antar kelompok perlakuan selama 12 minggu perlakuan

| Kel (ppm) | 0 | 2500 | 500 | 1000 | 2000 | 3000 | 4000 |
|----------------------|----------|-------------|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 0 | - | 11,734* | 0,332 | 0,002 | 0,798 | 0,200 | 7,934* |
| 2500 | - | - | 12,066* | 11,732* | 12,532* | 11,934* | 3,800* |
| 500 | - | - | - | 0,334 | 0,466 | 0,132 | 8,266* |
| 1000 | - | - | - | - | 0,800 | 0,202 | 7,932* |
| 2000 | - | - | - | - | - | 0,598 | 8,732* |
| 3000 | - | - | - | - | - | - | 8,134* |
| 4000 | - | - | - | - | - | - | - |

* berbeda bermakna ($p < 0,05$)

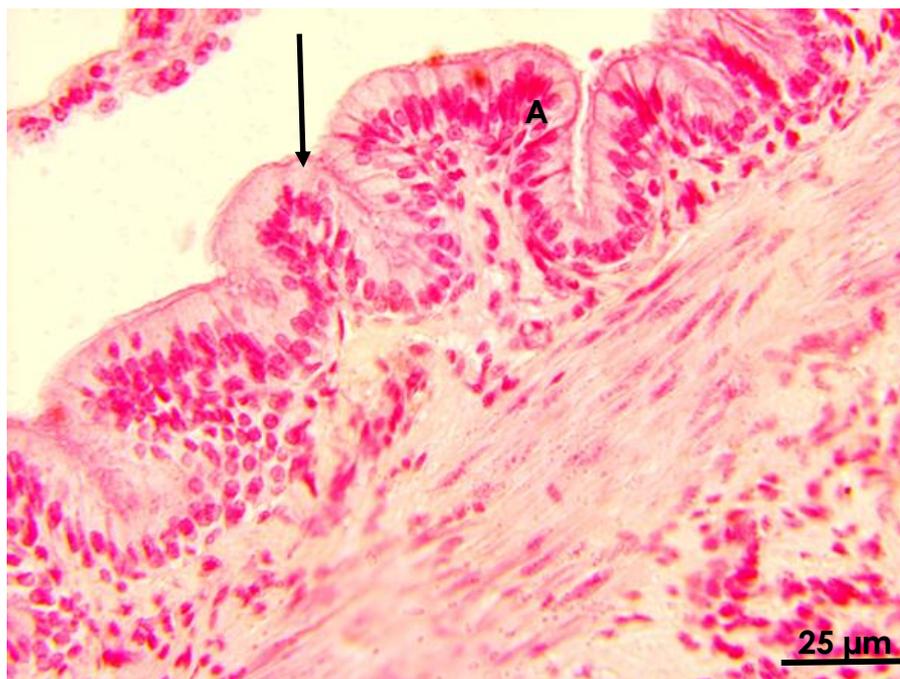
Hasil uji beda nyata terkecil yang diperhatikan pada Tabel 5.12, menunjukkan bahwa tinggi lapisan epitel trakea mencit kelompok kontrol tanpa paparan asap obat nyamuk bakar berbeda bermakna dengan kelompok Transflutrin 2500 ppm dan kelompok MORIZENA dosis 4000 ppm. Kelompok Transflutrin 2500 ppm berbeda bermakna dengan semua kelompok MORIZENA. Kelompok MORIZENA dosis 500 ppm hingga 3000 ppm berbeda bermakna dengan kelompok MORIZENA dosis 4000 ppm. Hal ini berarti bahwa paparan MORIZENA dosis 500 ppm hingga 3000 ppm tidak menyebabkan penurunan tinggi lapisan epitel trakea mencit namun paparan MORIZENA dosis 4000 ppm menyebabkan penurunan tinggi lapisan epitel trakea mencit. Sedangkan paparan Transflutrin 2500 ppm paling berdampak pada penurunan tinggi lapisan epitel trakea mencit.



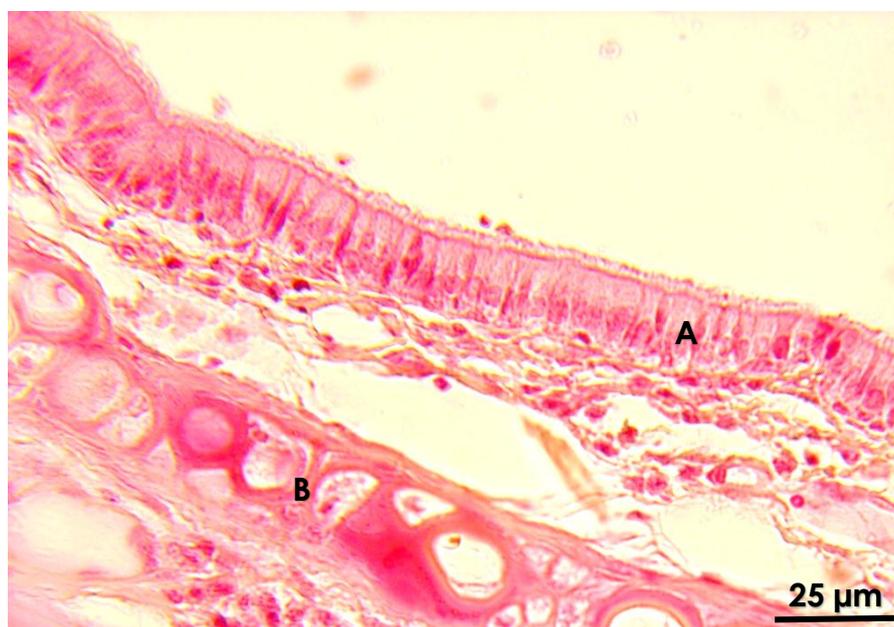
Gambar 5.9. Potongan melintang trakea mencit pada kelompok kontrol dengan tinggi lapisan epitel $42,2680 \pm 1.09047 \mu\text{m}$ (pewarnaan HE). (A) Epitel berlapis semu silindris bersilia, (B) Tulang rawan hialin

Pada umumnya komponen asap merupakan gas dan partikel yang ikut terinhalasi ke dalam sistem pernafasan (Mulasari, 2005). Inhalasi asap seperti asap obat nyamuk bakar (MORIZENA dosis bertingkat dan Transflutrin 2500 ppm) dapat berpengaruh terhadap struktur histologi komponen utama epitel saluran pernafasan seperti trakea mencit. Perbedaan rata-rata tinggi lapisan epitel trakea mencit pada masing-masing kelompok dapat lebih jelas melalui grafik pada Gambar 5.8.

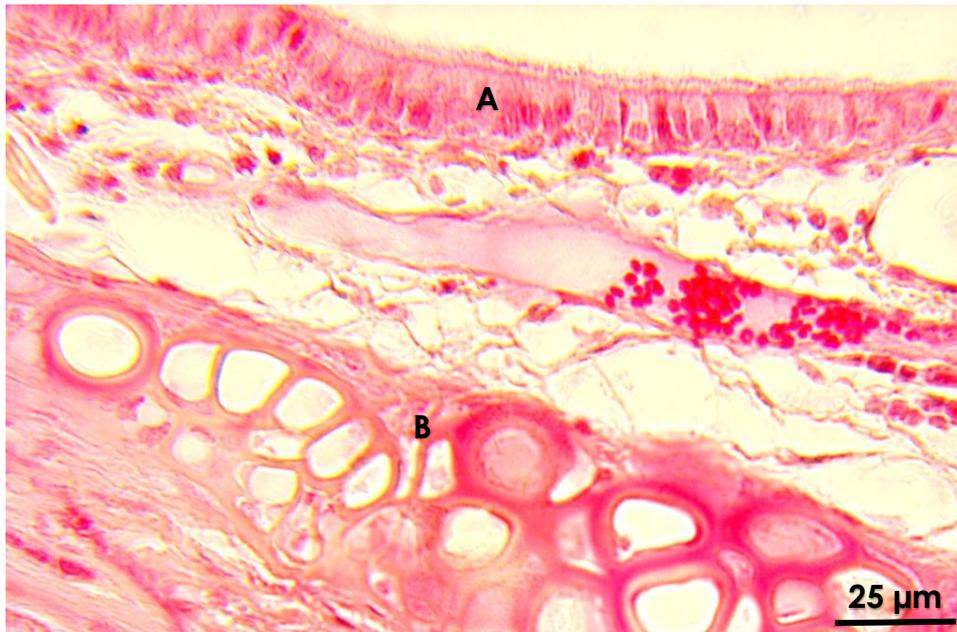
Menurut Burkitt dkk (1995) silia di lapisan permukaan epitel trakea yang sebagian mereduksi disebabkan oleh makrofag yang berusaha membersihkan partikel debu yang menempel pada silia. Karena pembersihan berlangsung terus menerus dan dalam waktu yang lama, maka disamping membersihkan partikel kemungkinan juga akan membersihkan silia yang mengalami kerusakan oleh adanya penumpukan partikel. Hal ini berkaitan erat dengan fungsi utama makrofag yang mampu untuk bergerak dan memfagositosis partikel asing yang masuk ke dalam saluran pernafasan, menelan sisa-sisa sel, mematikan jaringan sel yang telah berubah dan membunuh mikroorganisme. Tidak adanya silia pada sel epitel di saluran pernafasan akan berakibat buruk pada saluran pernafasan karena sistem respirasi tidak dapat berfungsi secara normal (Chretien dan Dusser, 1996).



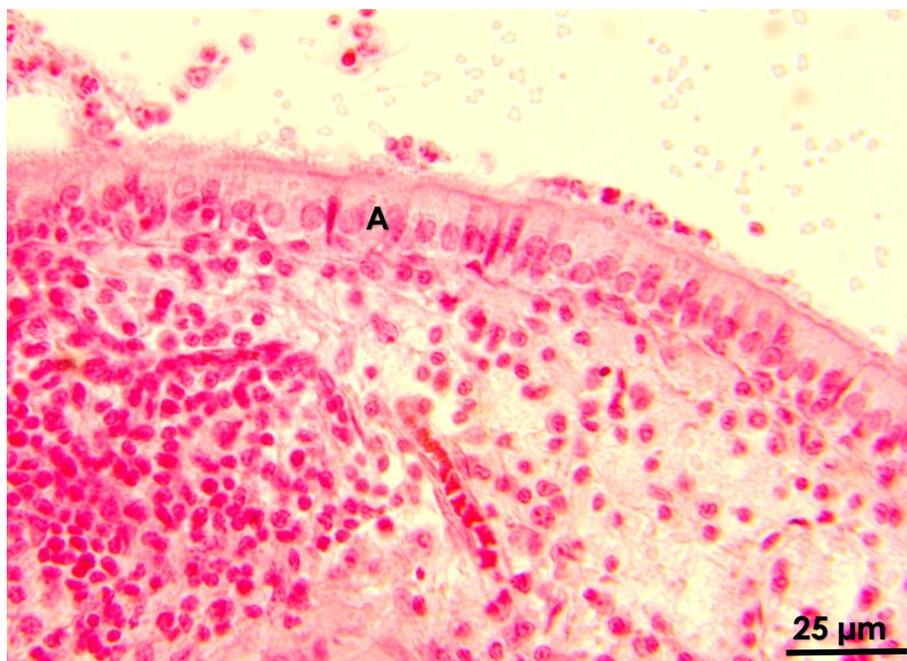
Gambar 5.10. Potongan melintang trakea mencit pada kelompok Transflutrin 2500 ppm dengan tinggi lapisan epitel $30,5340 \pm 1.07015 \mu\text{m}$, (pewarnaan HE). (A) Epitel berlapis semu silindris bersilia, terjadi lipatan pada lapisan mukosa (\rightarrow)



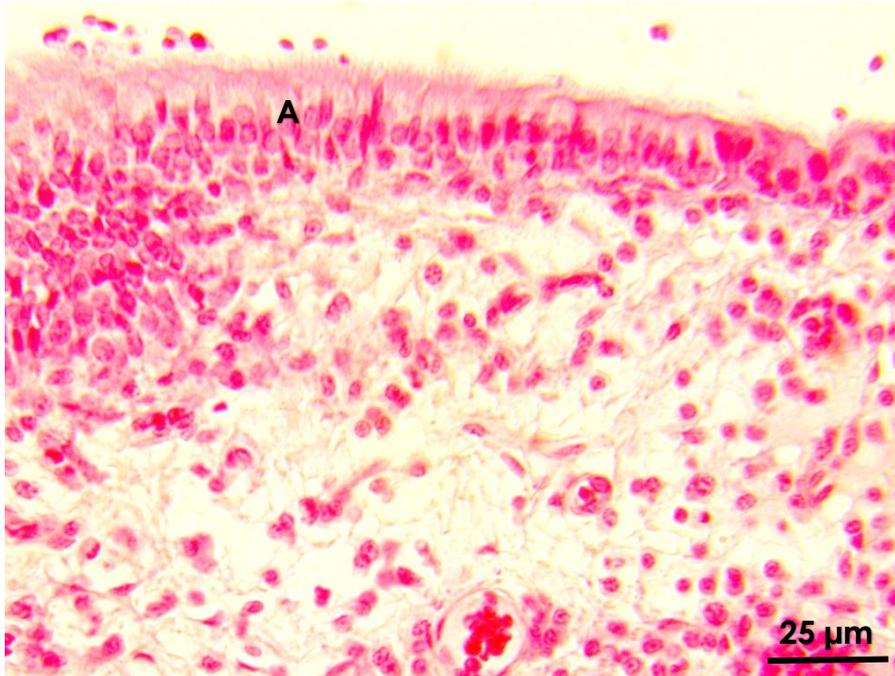
Gambar 5.11. Potongan melintang trakea mencit pada kelompok MORIZENA dosis 500 ppm dengan tinggi lapisan epitel $42,6000 \pm 1.30171 \mu\text{m}$ (pewarnaan HE). (A) Epitel berlapis semu silindris bersilia, (B) Tulang rawan hialin



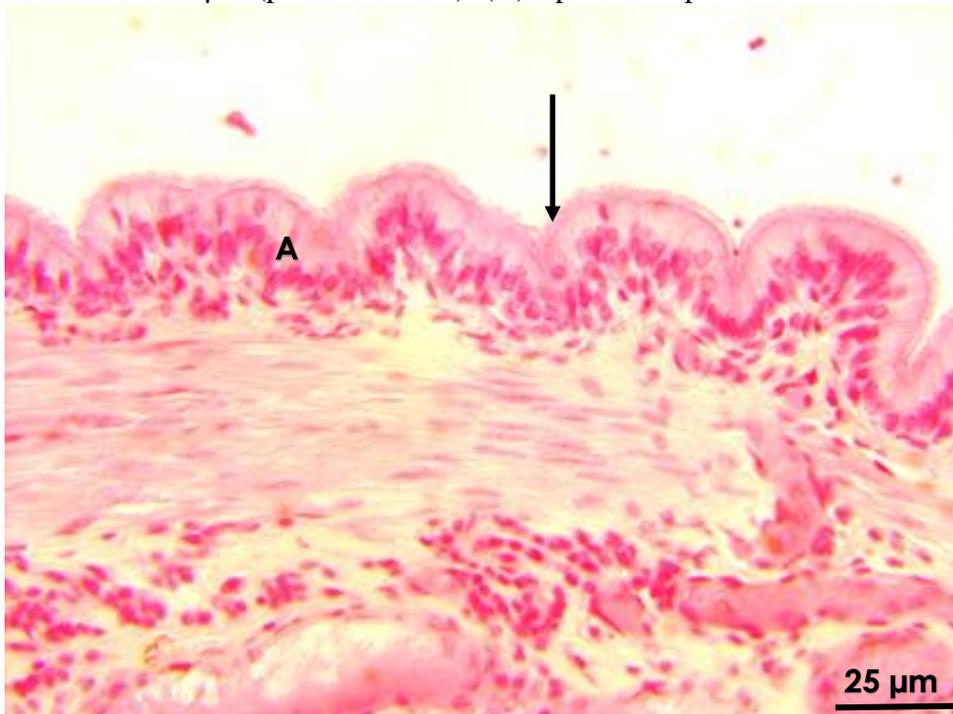
Gambar 5.12. Potongan melintang trakea mencit pada kelompok MORIZENA dosis 1000 ppm dengan tinggi lapisan epitel $42,2660 \pm 0.98116$ μm (pewarnaan HE). (A) Epitel berlapis semu silindris bersilia, (B) Tulang rawan hialin



Gambar 5.13. Potongan melintang trakea mencit pada kelompok MORIZENA dosis 2000 ppm dengan tinggi lapisan epitel $43,0660 \pm 0.86385$ μm (pewarnaan HE). (A) Epitel berlapis semu silindris bersilia



Gambar 5.14. Potongan melintang trakea mencit pada kelompok MORIZENA dosis 3000 ppm dengan tinggi lapisan epitel $42,4680 \pm 0.60471$ μm (pewarnaan HE). (A) Epitel berlapis semu silindris bersilia



Gambar 5.15. Potongan melintang trakea mencit pada kelompok MORIZENA dosis 4000 ppm dengan tinggi lapisan epitel $34,3340 \pm 1.29100$ μm (pewarnaan HE). (A) Epitel berlapis semu silindris, dengan silia sebagian mereduksi, terjadi lipatan mukosa (\rightarrow)

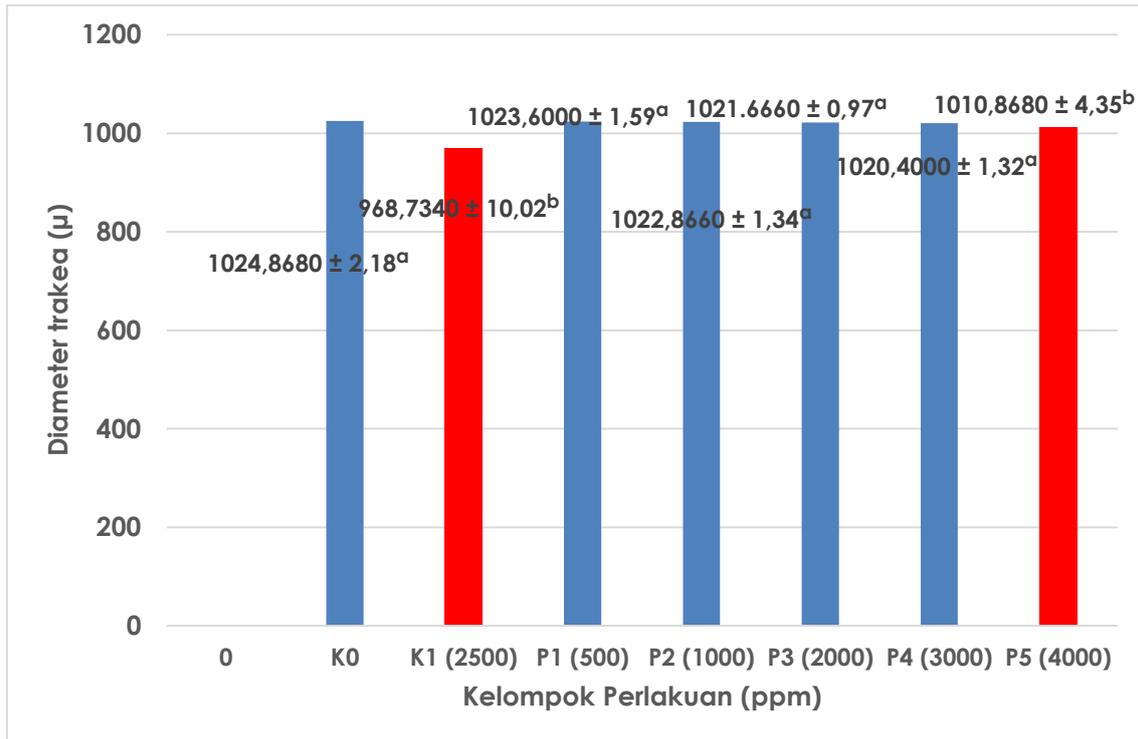
Hal ini terlihat pada Gambar 5.10 pada mencit kelompok obat nyamuk bakar sintetik transflutrin 2500 ppm dan pada Gambar 5.15 yaitu mencit kelompok MORIZENA dosis 4000 ppm. Hal ini seperti yang dinyatakan oleh Liu dan Sun (1988) yang memberi paparan obat nyamuk bakar sintetik piretroid selama 60 hari (8 jam/hari dan 6 hari/minggu) dan hasilnya terjadi *focal deciliation* atau hilangnya silia pada lapisan epitel trakea, berubah menjadi metaplasia sel-sel epitel dan perubahan morfologi alveolar makrofag pada tikus wistar.

Selanjutnya Junquiera dkk (1997) dan Leeson dkk (1996) menyatakan perubahan proporsi ini membantu membersihkan polutan partikel dan gas yang meningkat seperti CO dan SO₂. Meskipun aktivitas sel goblet yang lebih besar pada epitel dapat mempercepat pembersihan polutan, tetapi pengurangan sel bersilia akibat CO yang berlebihan berakibat kurangnya gerakan lapisan mukosa karena mukus hasil produksi sel goblet akan tetap berada di saluran pernafasan untuk menangkap partikel asing sehingga terjadi akumulasi mukus pada saluran pernafasan dan seringkali menyumbat saluran-saluran nafas yang lebih kecil.

5.4.2.4. Diameter trakea

Untuk mengetahui gejala terjadinya kerusakan jaringan trakea mencit yang akan mengakibatkan penyempitan jalan udara, maka diamati di bawah mikroskop dalam setiap preparat yang diikuti dengan perubahan diameter lumen trakea mencit seperti yang disajikan pada Gambar 5.16.

Pada kelompok kontrol tanpa paparan terlihat rata-rata diameter trakea sebesar 1024,868, MORIZENA dosis 500 ppm sebesar 1023,600 µm, MORIZENA dosis 1000 ppm sebesar 1022,866 µm, MORIZENA dosis 2000 ppm sebesar 1021,666 µm dan MORIZENA dosis 3000 ppm sebesar 1020,400 µm karena tidak terjadi pelipatan mukosa di permukaan lumen trakea. Sedangkan rata-rata diameter trakea MORIZENA dosis 4000 ppm sebesar 1010,868 µm dan transflutrin 2500 ppm sebesar 968,734 µm karena terjadi pelipatan mukosa di permukaan lumen trakea.



Gambar 5.16. Rerata diameter trakea mencit antar kelompok perlakuan selama 12 minggu perlakuan

Uji *one-way* Anova bertujuan untuk melihat perbedaan yang signifikan dari kelompok obat nyamuk bakar herbal MORIZENA dosis bertingkat dan obat nyamuk bakar sintetik transflutrin 2500 ppm terhadap diameter trakea mencit yang hasilnya dapat dilihat pada Tabel 5.13.

Tabel 5.13. Uji *one-way* Anova diameter trakea mencit antar kelompok perlakuan selama 12 minggu perlakuan

| Sumber Keragaman | Derajat Bebas | Jumlah Kuadrat | Kuadrat Tengah | F-hitung | Sig. |
|------------------|---------------|----------------|----------------|-----------|-------|
| Antar grup | 6 | 12219,293 | 2036,549 | 108,780** | 0,000 |
| Dalam grup | 28 | 524,209 | 18,722 | | |
| Total | 34 | 12743,502 | 2055,271 | | |

* berbeda sangat bermakna ($p < 0,01$)

Dari hasil uji *one-way* Anova sebagaimana yang terlihat pada Tabel 5.13, menunjukkan bahwa nilai probabilitas adalah 0,000. Hal ini berarti bahwa terdapat perbedaan yang sangat bermakna ($p < 0,01$) dari efek setiap level paparan MORIZENA

dosis bertingkat, kelompok Transflutrin 2500 ppm dan kelompok kontrol tanpa paparan asap obat nyamuk bakar terhadap diameter trakea mencit.

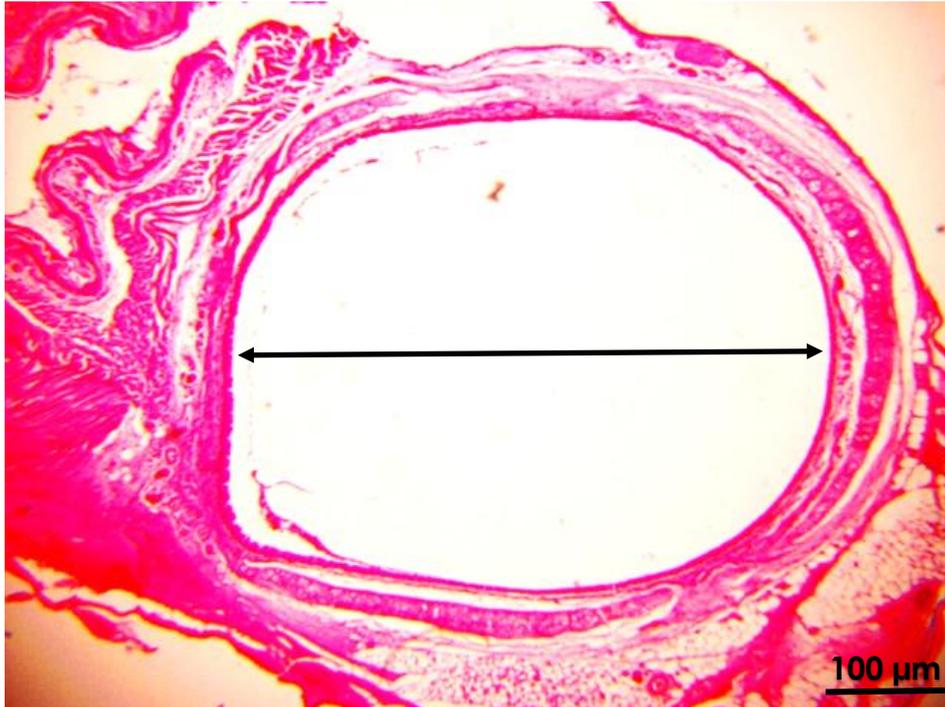
Selanjutnya untuk membandingkan kemaknaan efek setiap level konsentrasi MORIZENA, Transflutrin 2500 ppm dan tanpa paparan asap obat nyamuk bakar terhadap diameter trakea mencit, maka analisis dilanjutkan dengan menggunakan uji beda nyata terkecil yang hasilnya dapat dilihat pada Tabel 5.14.

Tabel 5.14. Uji beda nyata terkecil diameter trakea mencit antar kelompok perlakuan selama 12 minggu perlakuan

| Kel (ppm) | 0 | 2500 | 500 | 1000 | 2000 | 3000 | 4000 |
|-----------|---|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| 0 | - | 56,134* | 1,268 | 2,002 | 3,202 | 4,468 | 14,000* |
| 2500 | - | - | 54,866* | 54,132* | 52,932* | 51,666* | 42,134* |
| 500 | - | - | - | 0,734 | 1,934 | 3,200 | 12,732* |
| 1000 | - | - | - | - | 1,200 | 2,466 | 11,998* |
| 2000 | - | - | - | - | - | 1,266 | 10,798* |
| 3000 | - | - | - | - | - | - | 9,532* |
| 4000 | - | - | - | - | - | - | - |

* berbeda bermakna ($p < 0.05$)

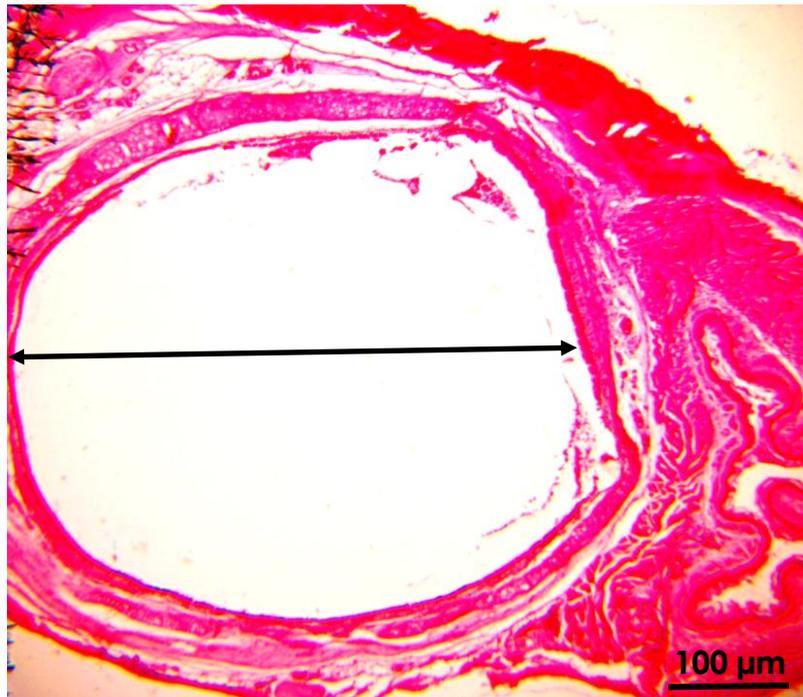
Dari hasil uji beda nyata terkecil yang diperhatikan pada Tabel 5.14, menunjukkan bahwa diameter trakea mencit kelompok kontrol tanpa paparan obat nyamuk bakar berbeda bermakna dengan kelompok Transflutrin 2500 ppm dan kelompok MORIZENA dosis 4000 ppm. Kelompok Transflutrin 2500 ppm berbeda bermakna dengan semua kelompok MORIZENA. Kelompok MORIZENA dosis 500 ppm hingga 3000 ppm berbeda bermakna dengan kelompok MORIZENA dosis 4000 ppm. Hal ini berarti bahwa pemberian paparan MORIZENA dosis 500 ppm hingga 3000 ppm tidak menyebabkan penurunan diameter trakea mencit, namun pemberian MORIZENA dosis 4000 ppm menyebabkan penurunan diameter trakea mencit. Sedangkan pemberian paparan Transflutrin 2500 ppm paling berdampak pada penurunan diameter trakea mencit.



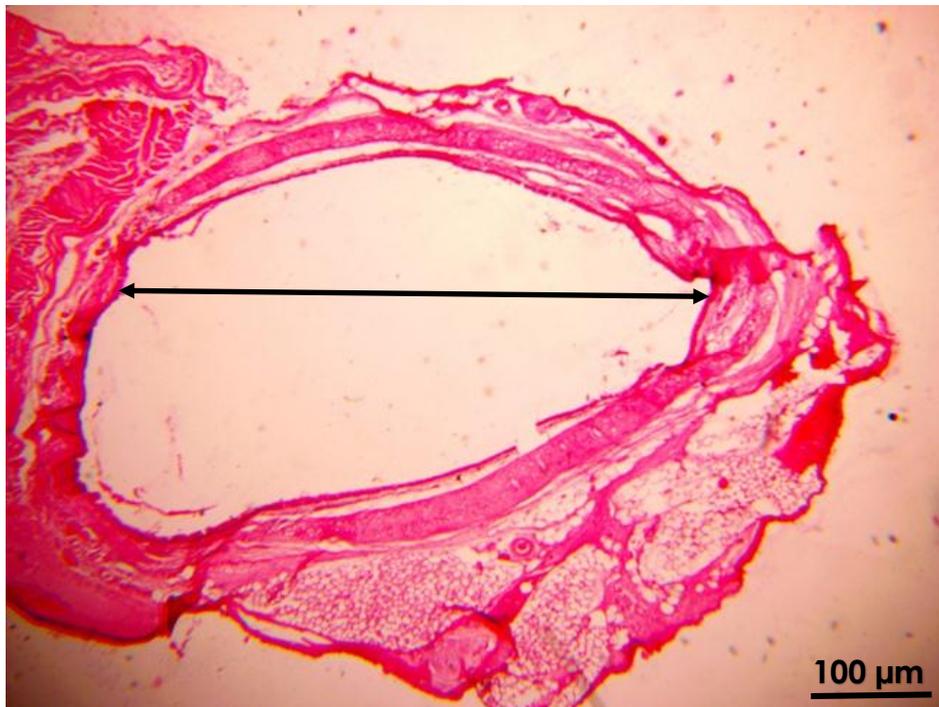
Gambar 5.17. Potongan melintang trakea mencit pada kelompok kontrol (pewarnaan HE). Diameter lumen trakea $1024,868 \pm 2.18108 \mu\text{m}$



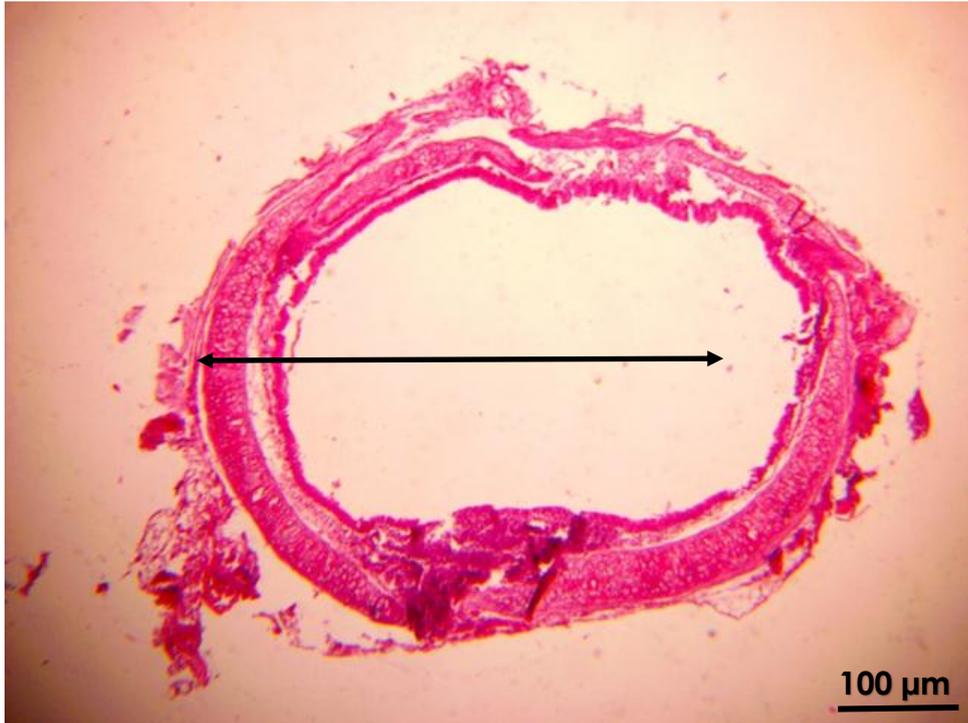
Gambar 5.18. Potongan melintang trakea mencit pada kelompok Transflutrin 2500 ppm (pewarnaan HE). Diameter lumen trakea $968,734 \pm 10.01815 \mu\text{m}$. Terjadi lipatan mukosa (dilingkari)



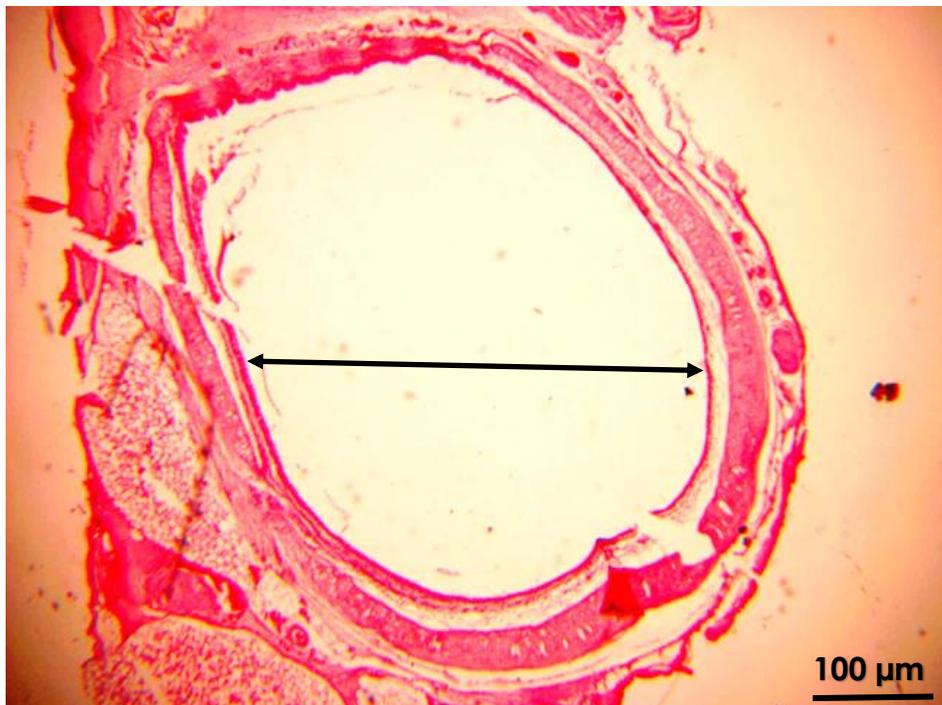
Gambar 5.19. Potongan melintang trakea mencit pada kelompok MORIZENA dosis 500 ppm (pewarnaan HE). Diameter lumen trakea $1023,600 \pm 1.58885$ μm



Gambar 5.20. Potongan melintang trakea mencit pada kelompok MORIZENA dosis 1000 ppm (pewarnaan HE). Diameter lumen trakea $1022,866 \pm 1.34508$ μm



Gambar 5.21. Potongan melintang trakea mencit pada kelompok MORIZENA dosis 2000 ppm (pewarnaan HE). Diameter lumen trakea $1021,666 \pm 0.97069$ μm



Gambar 5.22. Potongan melintang trakea mencit pada Morizena dosis 3000 ppm (pewarnaan HE). Diameter lumen trakea $1020,400 \pm 1.31867$ μm . Terjadi pelipatan mukosa (\rightarrow)



Gambar 5.23. Potongan melintang trakea mencit pada kelompok MORIZENA dosis 4000 ppm (pewarnaan HE). diameter lumen trakea $1010,868 \pm 4.34938$ μm . Terjadi pelipatan mukosa (bagian yang dilingkari)

Terjadinya penurunan nilai diameter trakea mencit ini kemungkinan akan terjadi pula penyempitan saluran udara. Penyempitan saluran udara ini kemungkinan dikarenakan bertambahnya ketebalan lapisan mukosa. Menurut Leeson dkk (1996) pelebaran lapisan mukosa disebabkan adanya proses peradangan atau pembesaran jaringan penyokong lapisan mukosa tersebut, karena adanya perubahan cairan dalam lapisan mukosa. Kemungkinan lain karena gas dan partikel pada kelompok Transflutrin 2500 ppm dan kelompok MORIZENA dosis 4000 ppm dapat menghambat keseimbangan cairan yang masuk dan keluar dari lapisan mukosa sehingga dapat meningkatkan jumlah cairan dalam lapisan mukosa dengan ditandai adanya pembesaran ruang di antara jaringan penyokongnya (Wahyono, 2005).

Berdasarkan Gambar 5.18 yaitu pada kelompok Transflutrin 2500 ppm dan Gambar 5.23 yaitu pada kelompok MORIZENA dosis 4000 ppm terlihat adanya pelipatan mukosa epitel di bagian posterior. Pelipatan mukosa seperti ini tidak tampak pada kelompok kontrol tanpa paparan obat nyamuk bakar (Gambar 5.17), kelompok MORIZENA dosis 500 ppm (Gambar 5.19), kelompok MORIZENA dosis 1000 ppm

(Gambar 5.20), kelompok MORIZENA dosis 2000 ppm (Gambar 5.21) dan kelompok MORIZENA 3000 ppm (Gambar 5.22).

Menurut Junquiera dkk (1997) pelipatan mukosa dapat terjadi karena pengerutan otot trakea. Pada bagian posterior trakea, di bagian celah di antara ujung masing-masing tulang rawan berbentuk tapal kuda (huruf c) ini terdapat anyaman berkas serat otot polos (*musculus trachealis*). Terjadinya pelipatan mukosa ini seperti saat terjadinya kontraksi otot sehingga terjadi penyempitan lumen trakea dan memperkecil diameter trakea. Diameter trakea yang lebih kecil akan meningkatkan kecepatan udara ekspirasi, yang membantu membersihkan jalan nafas, sehingga terjadinya perubahan histologis ini kemungkinan juga karena adanya pengaruh dari paparan Transflutrin 2500 ppm dan paparan MORIZENA dosis 4000 ppm mencit jantan selama 12 minggu.

5.4.3. Berat paru-paru mencit

Paru-paru adalah salah satu organ pada sistem pernafasan yang berfungsi sebagai tempat pertukaran oksigen, karbondioksida dan partikel-partikel lain yang terinhalasi. Rata-rata berat paru-paru mencit yang telah ditimbang terlihat pada Gambar 5.24.

Uji *one-way* Anova bertujuan untuk melihat perbedaan yang signifikan dari kelompok MORIZENA dosis bertingkat dan kelompok Transflutrin 2500 ppm terhadap berat paru-paru mencit yang hasilnya dapat dilihat pada Tabel 5.15.

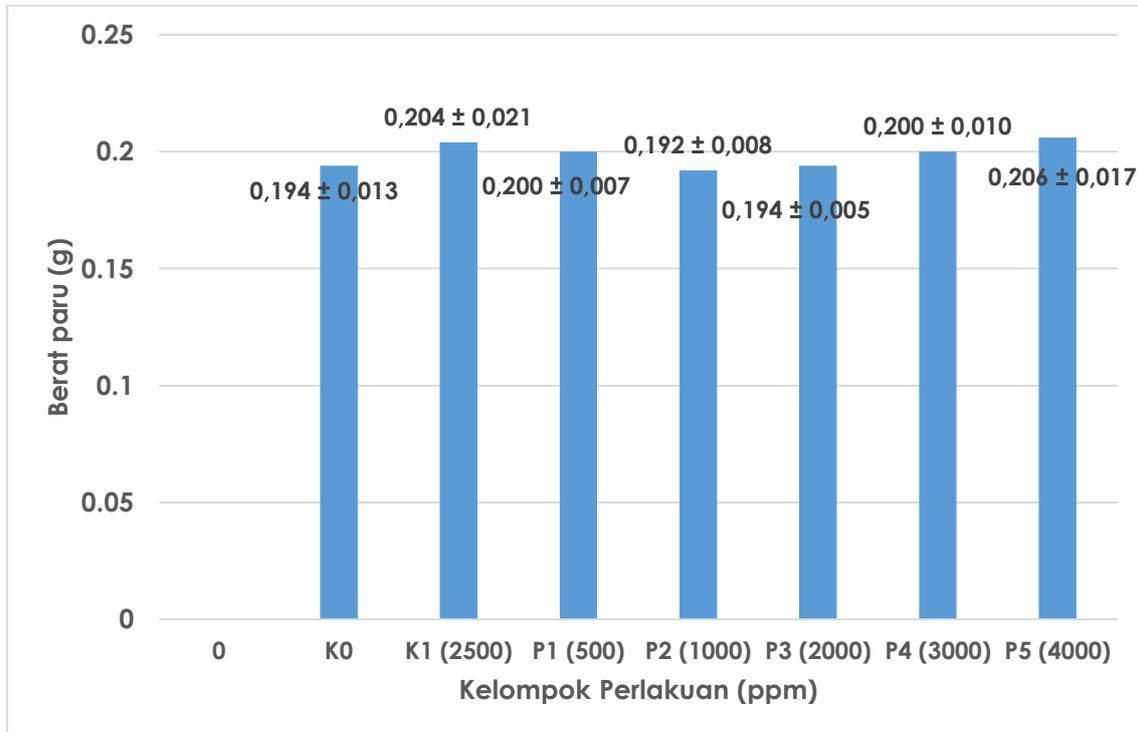
Tabel 5.15. Uji *one-way* Anova berat paru-paru mencit antar kelompok perlakuan selama 12 minggu perlakuan

| Sumber Keragaman | Derajat Bebas | Jumlah Kuadrat | Kuadrat Tengah | F-hitung | Sig. |
|------------------|---------------|----------------|----------------|----------|-------|
| Antar grup | 6 | 0,001 | 0,000 | 0,889 | 0,516 |
| Dalam grup | 28 | 0,005 | 0,000 | | |
| Total | 34 | 0,006 | 0,000 | | |

Tidak berbeda bermakna ($p > 0,05$)

Dari hasil uji *one-way* Anova sebagaimana yang terlihat pada Tabel 5.15, menunjukkan bahwa nilai probabilitas adalah 0,183. Hal ini berarti bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna ($p > 0,05$) dari kelompok MORIZENA dosis bertingkat, kelompok Transflutrin 2500 ppm dan kelompok kontrol tanpa paparan obat nyamuk

bakar terhadap berat paru-paru mencit. Kelompok MORIZENA dosis bertingkat dan kelompok Transflutrin 2500 ppm selama 12 minggu perlakuan tidak menyebabkan perubahan berat paru-paru mencit.



Gambar 5.24. Rerata berat paru-paru mencit antar kelompok perlakuan selama 12 minggu perlakuan, Tidak terdapat perbedaan yang bermakna ($p > 0,05$)

5.4.4. Perubahan histopatologis paru-paru mencit

Paparan asap obat nyamuk bakar yang masuk ke paru-paru akan menyebabkan gangguan pernafasan dan kerusakan jaringan paru-paru seperti alveolus yang melebar sehingga oksigen yang masuk ke alveolus menjadi banyak dan mengakibatkan organ paru-paru menjadi lebih ringan. Setelah dilakukan pembuatan preparat histologi paru-paru mencit jantan dengan metode paraffin, maka dilakukan pengamatan histologis pada sel paru-paru mencit dengan pembesaran 100x, 200x dan 400x.

5.4.4.1. Histopatologis alveolus paru-paru mencit

Perubahan komponen utama pada alveoli paru-paru mencit pada kelompok MORIZENA dosis bertingkat dan kelompok Transflutrin 2500 ppm selama 12 minggu perlakuan disajikan pada Tabel 5.16.

Tabel 5.16. Struktur histopatologis alveoli paru-paru mencit antar kelompok perlakuan selama 12 minggu perlakuan

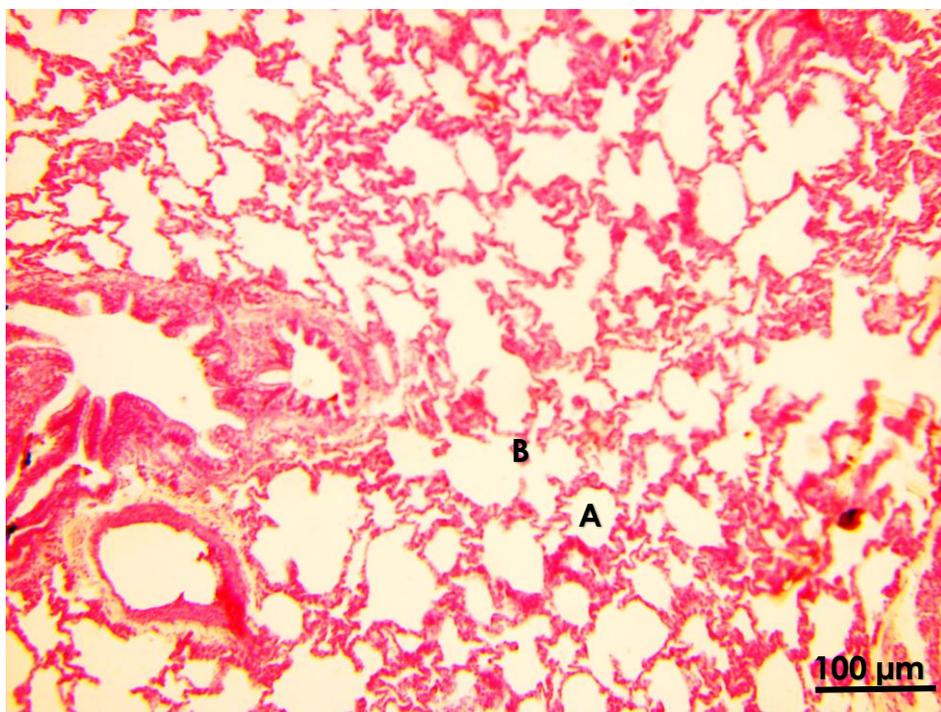
| Kelompok (ppm) | Struktur Histopatologis |
|-----------------------|--|
| 0 | Normal, tidak terjadi penebalan septum interalveolaris |
| 2500 | Kerusakan membran alveoli, ada penebalan septum interalveolaris (++) |
| 500 | Normal, tidak terjadi penebalan septum interalveolaris |
| 1000 | Normal, tidak terjadi penebalan septum interalveolaris |
| 2000 | Normal, tidak terjadi penebalan septum interalveolaris |
| 3000 | Normal, tidak terjadi penebalan septum interalveolaris |
| 4000 | Kerusakan membran alveoli, ada penebalan septum interalveolaris (+) |

Berdasarkan data yang disajikan pada Tabel 5.16 tampak bahwa pada kelompok Transflutrin 2500 ppm dan kelompok MORIZENA dosis 4000 ppm mengalami perubahan histopatologis paru-paru seperti penebalan septum interalveolaris. Dari hasil foto mikroanatomi (Gambar 5.25 sampai dengan Gambar 5.38) dapat dilihat bahwa kerusakan yang terjadi antara kelompok kontrol tanpa paparan obat nyamuk bakar dengan kelompok MORIZENA dosis bertingkat berbeda bermakna dengan kelompok Transflutrin 2500 ppm.

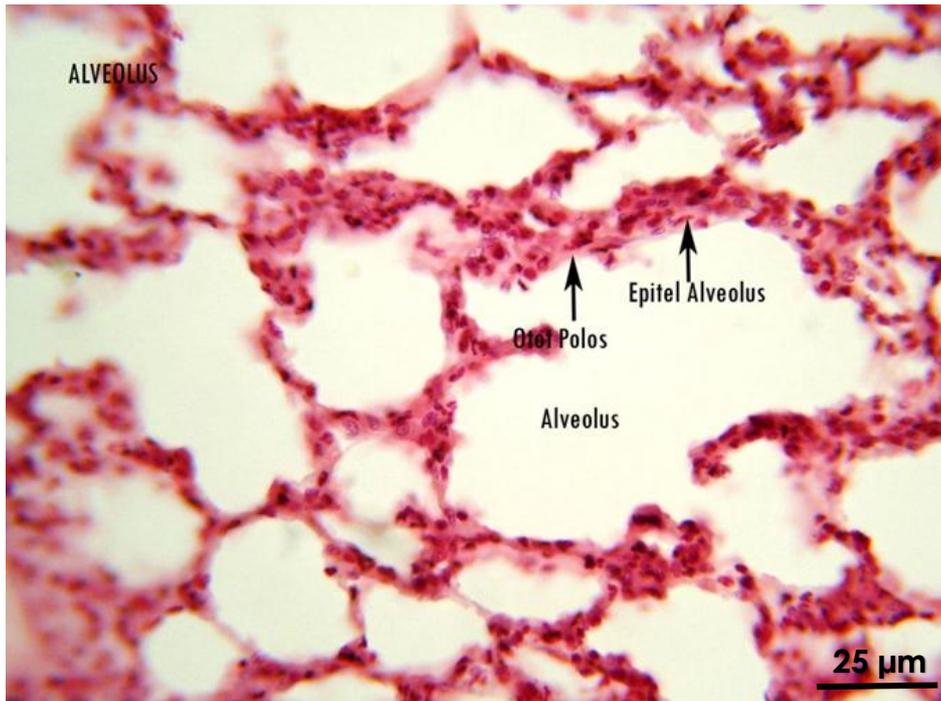
Hal ini sesuai dengan hasil analisis statistik dari data kerusakan jaringan paru-paru mencit. Untuk skor 1, alveolus tersusun atas sel-sel endotel lengkap dan berinti, bentuk alveolus utuh membulat, struktur alveolus rapat dan septum interalveolaris tidak mengalami penebalan. Pada skor 2, membran alveolus relatif masih utuh dengan endotel disekelilingnya, bentuk alveolus masih relatif membulat, alveolus relatif rapat, dan septum interalveolaris mengalami penebalan (+). Sedangkan pada skor 3, sel membran alveolus tidak berinti, sel-sel endotel disekelilingnya tidak tampak, alveolus melebar, hubungan antar alveolus merenggang dan septum alveolaris mengalami penebalan (++)

Hubungan antar alveolus yang rapat pada kelompok kontrol tanpa paparan obat nyamuk bakar, kelompok MORIZENA dosis 500 ppm, kelompok MORIZENA dosis 1000 ppm, kelompok obat nyamuk bakar herbal MORIZENA dosis 2000 ppm, hingga kelompok MORIZENA dosis 3000 ppm menunjukkan bahwa matriks ekstraseluler terdiri atas serabut kolagen dan elastin masih utuh. Lumen alveolus nampak normal tidak membesar yang umum terjadi apabila ada kelainan paru-paru. Hal ini dapat disebabkan paru-paru mencit selama perlakuan 12 minggu tidak terpapar dengan toksikan yang terkandung dalam kelompok MORIZENA hingga dosis 3000 ppm

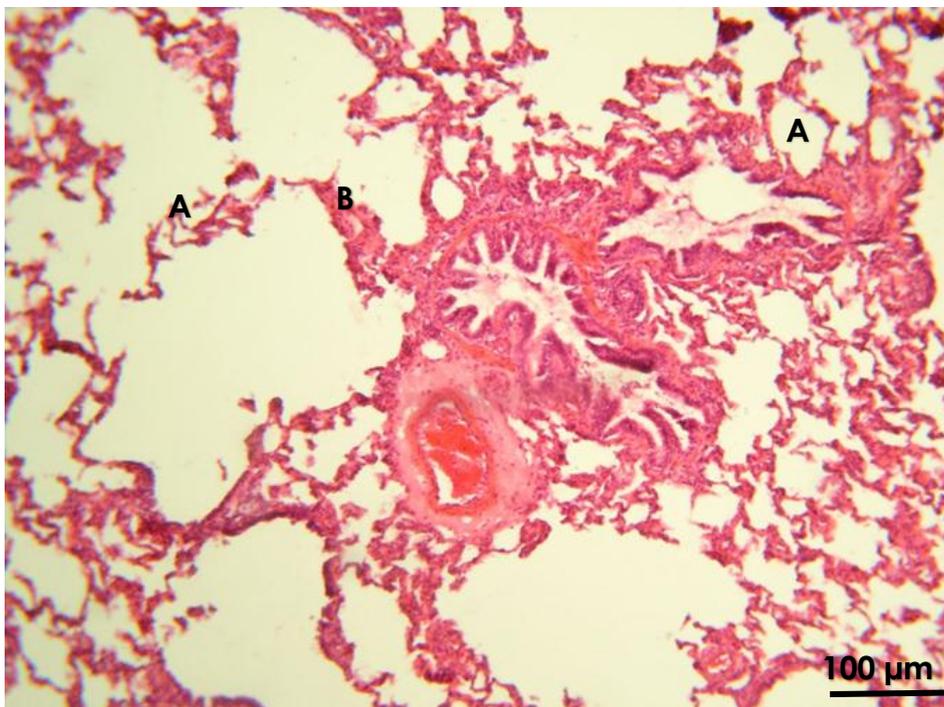
sehingga sel-selnya tidak mengalami kerusakan. Keadaan ini tampak sedikit berbeda dengan paru-paru mencit yang terpapar MORIZENA dosis 4000 ppm dan Transflutrin 2500 ppm selama 12 minggu. Pada mencit yang terpapar MORIZENA dosis 4000 ppm dan Transflutrin 2500 ppm secara terus menerus 8 jam/hari selama 12 minggu, terlihat terjadinya kerusakan pada struktur mikroanatomi atau histologi paru-parunya. Hal ini disebabkan telah terjadi perusakan sel-sel epitel pipih (endotel) alveolus oleh toksikan pada kedua kelompok perlakuan tersebut (toksikan terdapat pada MORIZENA dosis 4000 ppm dan Transflutrin 2500 ppm).



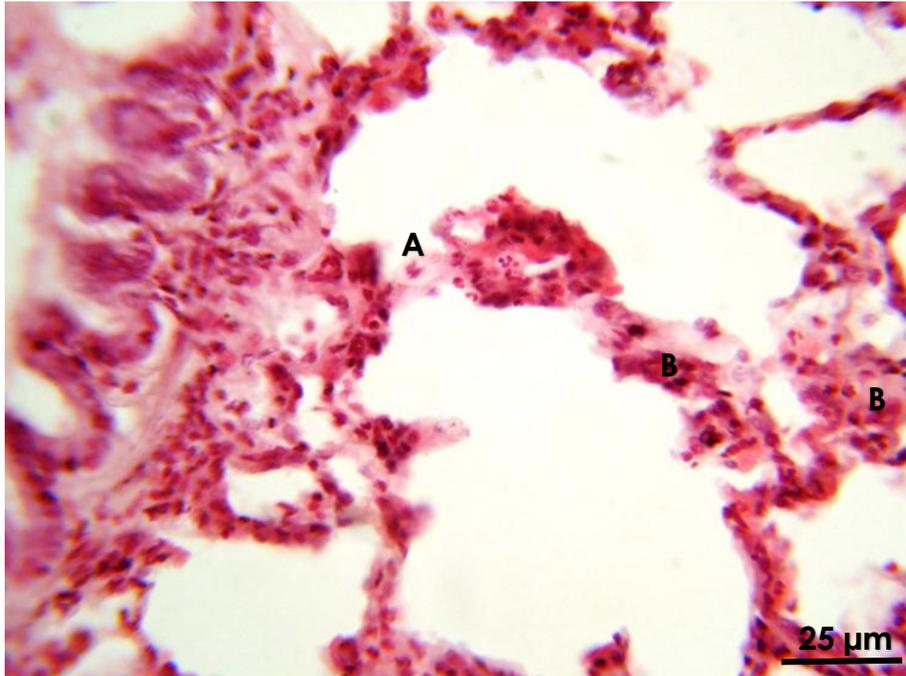
Gambar 5.25. Potongan melintang alveoli paru mencit kelompok kontrol tanpa paparan obat nyamuk bakar (pewarnaan HE). (A) Alveolus, membran alveolus normal, (B) Septum interalveolaris normal



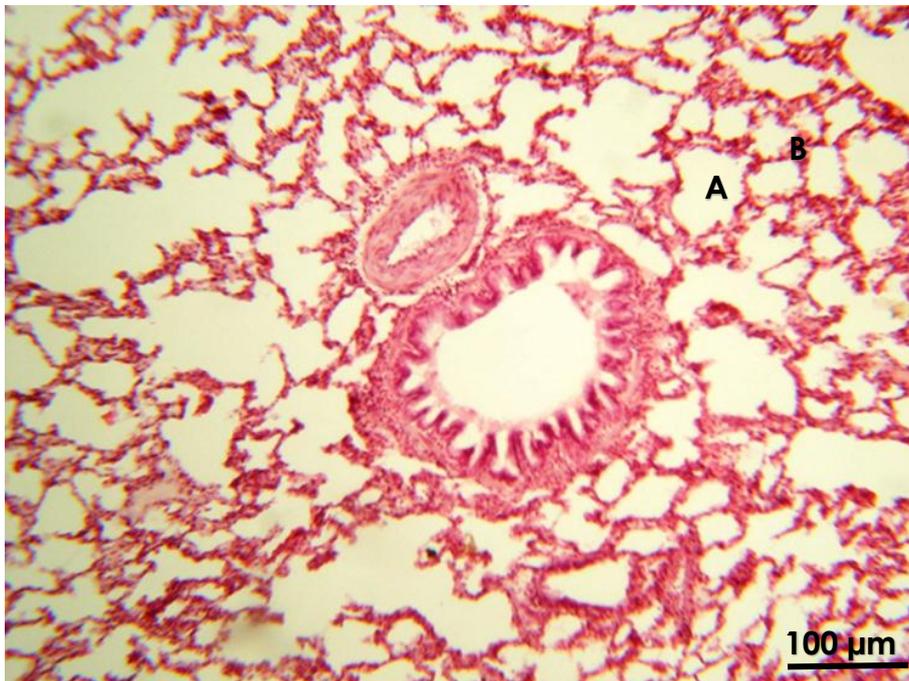
Gambar 5.26. Potongan melintang alveoli paru mencit kelompok kontrol tanpa paparan obat nyamuk bakar (pewarnaan HE). Diameter alveoli $23.3340 \pm 0.817 \mu\text{m}$



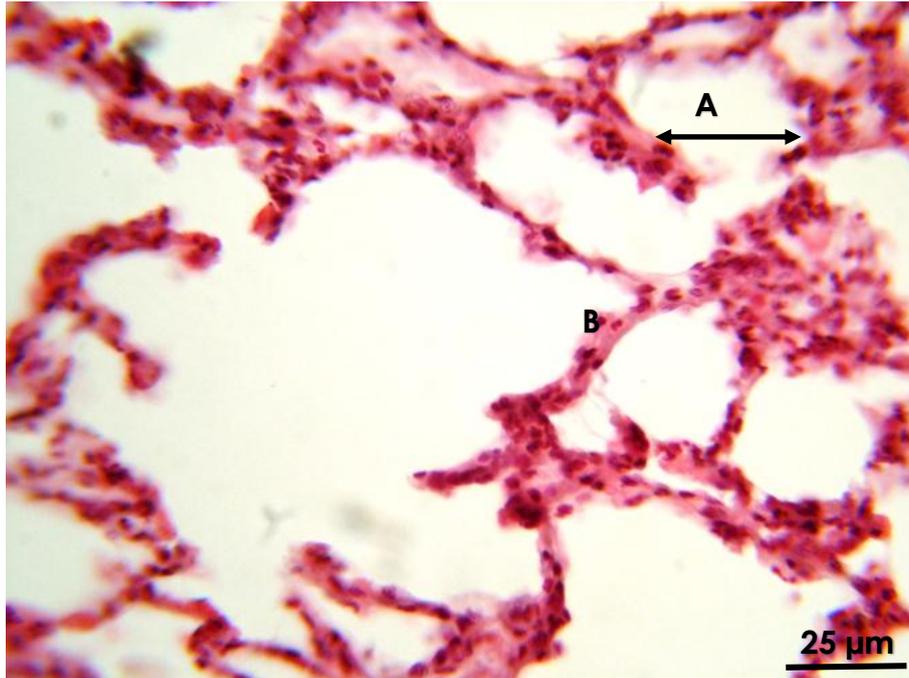
Gambar 5.27. Potongan melintang alveoli paru mencit kelompok Transflutrin 2500 ppm (pewarnaan HE). (A) Alveolus, membran alveolus rusak, (B) Septum interalveolaris menebal



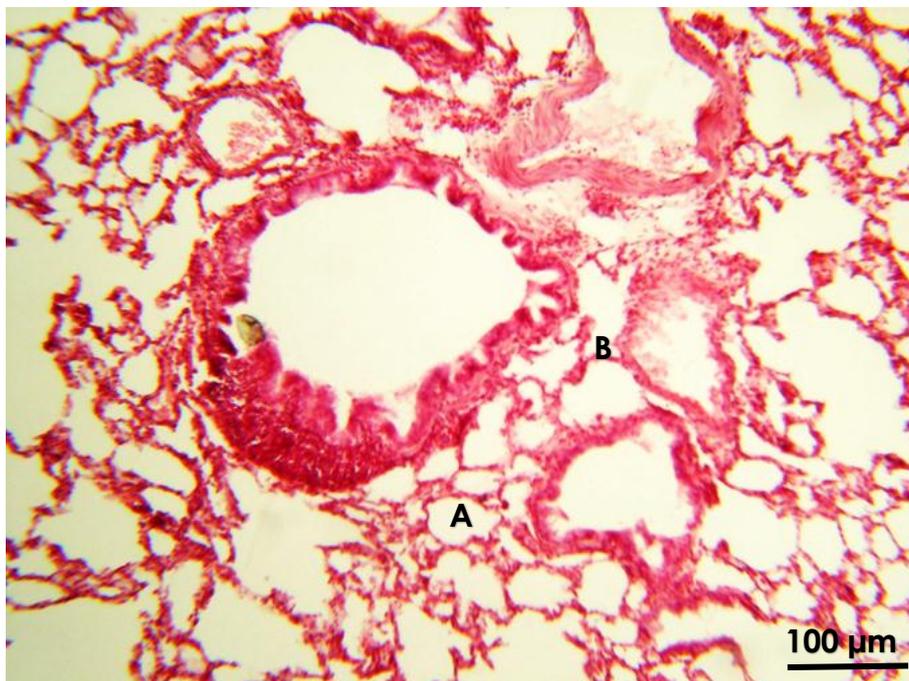
Gambar 5.28. Potongan melintang alveoli paru menciit kelompok Transflutrin 2500 ppm (pewarnaan HE). Diameter alveoli $32,800 \pm 1,895 \mu\text{m}$. (A) Makrofag alveolar, (B) Septum interalveolaris menebal



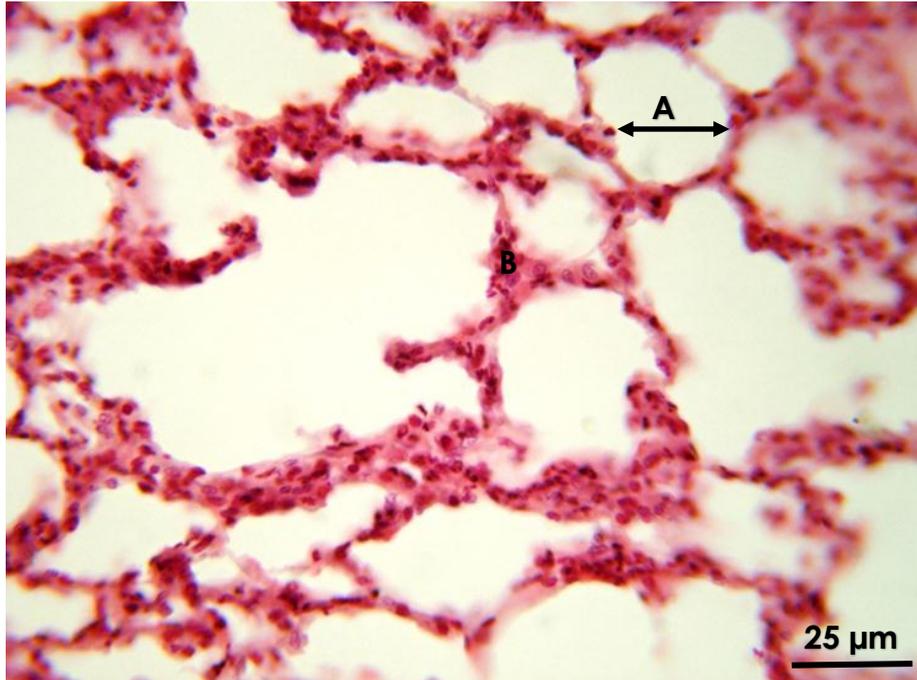
Gambar 5.29. Potongan melintang alveoli paru menciit kelompok MORIZENA dosis 500 ppm (pewarnaan HE). (A) Alveolus, membran alveolus normal, (B) Septum interalveolaris normal



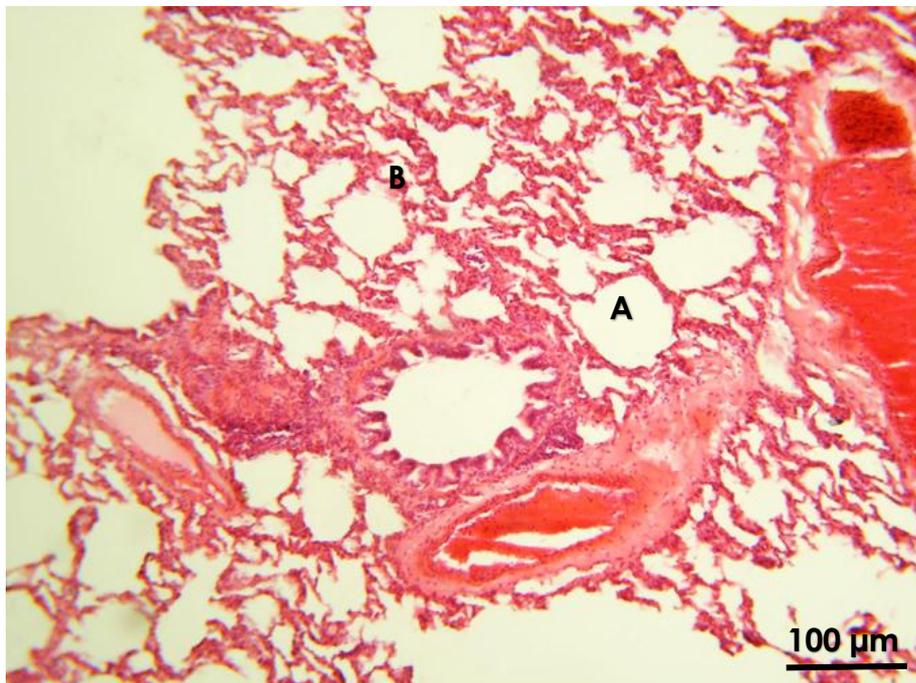
Gambar 5.30. Potongan melintang alveoli paru mencit kelompok MORIZENA dosis 500 ppm (pewarnaan HE). Diameter alveoli $23,468 \pm 0,605 \mu\text{m}$. (A) Alveolus, membran alveolus normal, (B) Septum alveolaris normal



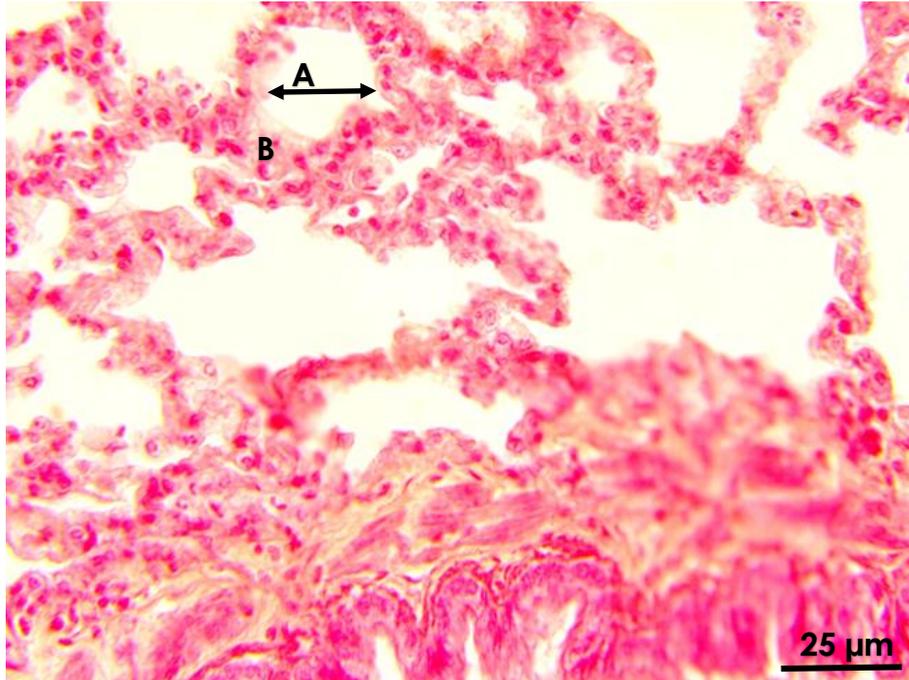
Gambar 5.31. Potongan melintang alveoli paru mencit kelompok MORIZENA dosis 1000 ppm (pewarnaan HE). (A) Alveolus, membran alveolus normal, (B) Septum interalveolaris normal



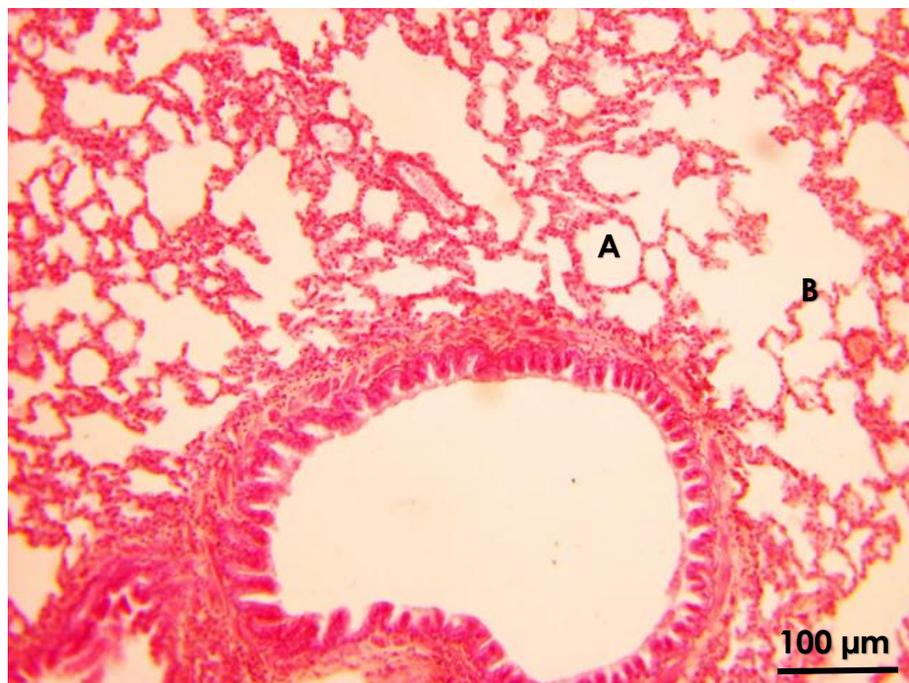
Gambar 5.32. Potongan melintang alveoli paru mencit kelompok MORIZENA dosis 1000 ppm (pewarnaan HE). Diameter alveoli $22,932 \pm 0,598 \mu\text{m}$. (A) Alveolus, membran alveolus normal, (B) Septum interalveolaris normal



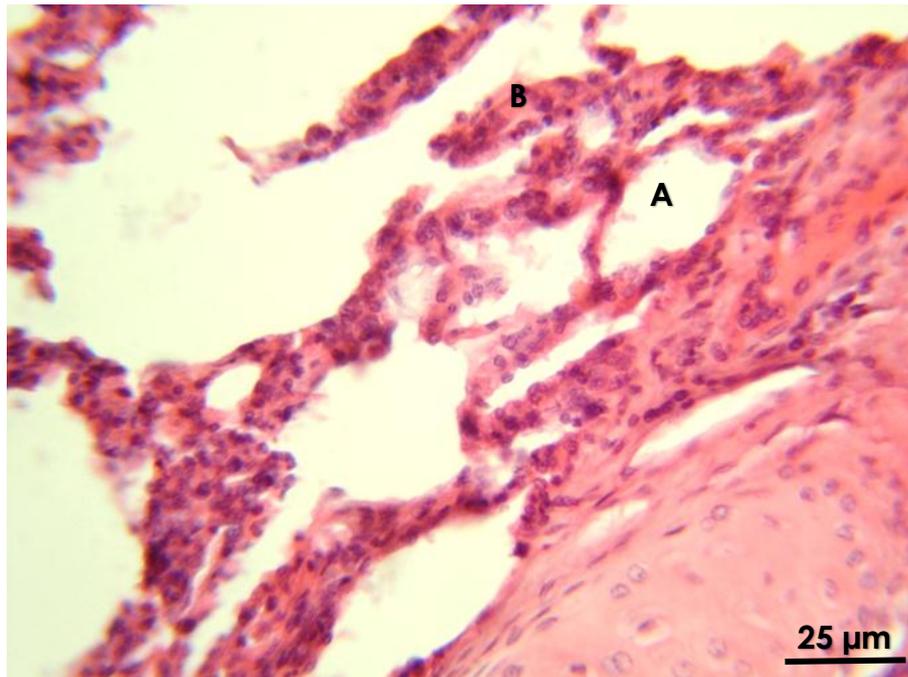
Gambar 5.33. Potongan melintang alveoli paru mencit kelompok MORIZENA dosis 2000 ppm (pewarnaan HE). (A) Alveolus, membran alveolus normal, (B) Septum interalveolaris normal



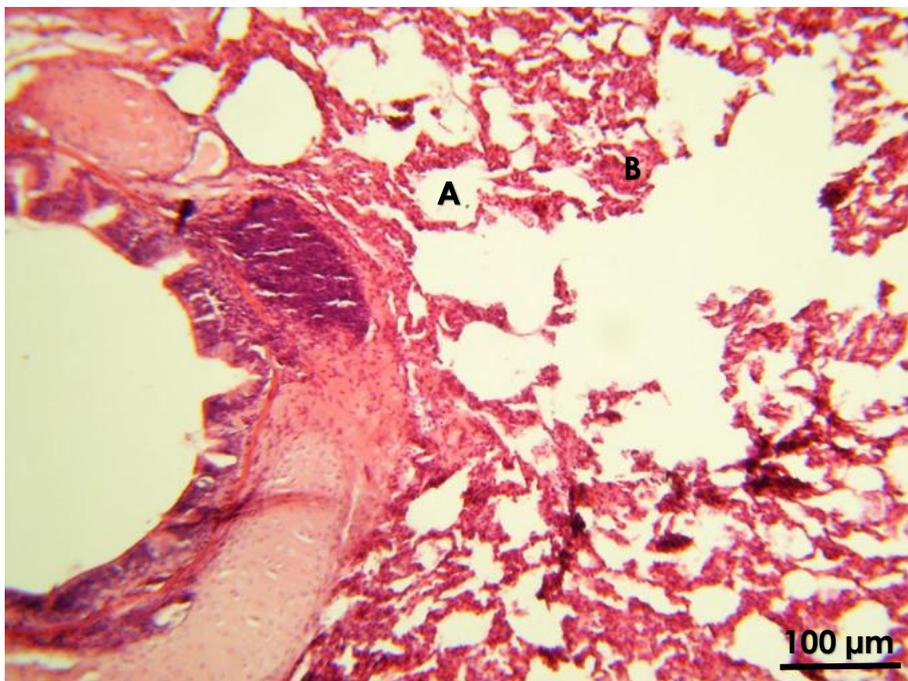
Gambar 5.34. Potongan melintang alveoli paru mencit kelompok MORIZENA dosis 2000 ppm (pewarnaan HE). Diameter alveoli $23,732 \pm 0,435 \mu\text{m}$. (A) Alveolus, membran alveolus normal, (B) Septum interalveolaris normal



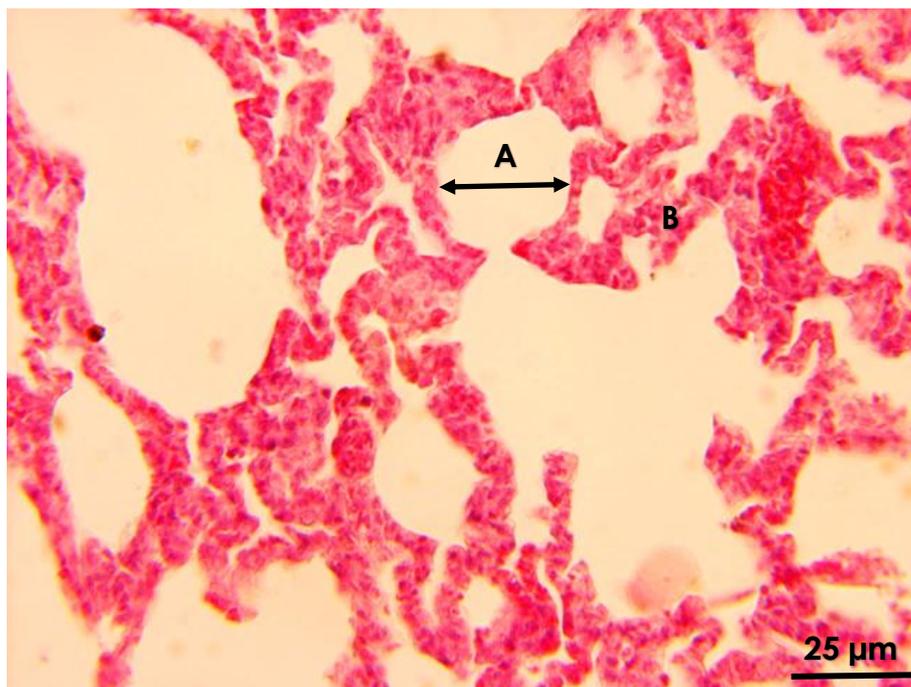
Gambar 5.35. Potongan melintang alveoli paru mencit kelompok MORIZENA dosis 3000 ppm (pewarnaan HE). (A) Alveolus, membran alveolus normal, (B) Septum interalveolaris normal



Gambar 5.36. Potongan melintang alveoli paru mencit kelompok MORIZENA dosis 3000 ppm (pewarnaan HE). Diameter alveoli $24,200 \pm 0,899 \mu\text{m}$. (A) Alveolus, membran alveolus normal, (B) Septum interalveolaris menebal



Gambar 5.37. Potongan melintang alveoli paru mencit kelompok MORIZENA dosis 4000 ppm (pewarnaan HE). (A) Alveolus, membran alveolus rusak, (B) Septum interalveolaris menebal



Gambar 5.38. Potongan melintang alveoli paru mencit kelompok MORIZENA dosis 4000 ppm (pewarnaan HE). Diameter alveoli $30,400 \pm 1,383 \mu\text{m}$. (A) Alveolus, membran alveolus rusak, (B) Septum interalveolaris menebal

5.4.4.2. Diameter alveolus paru-paru mencit

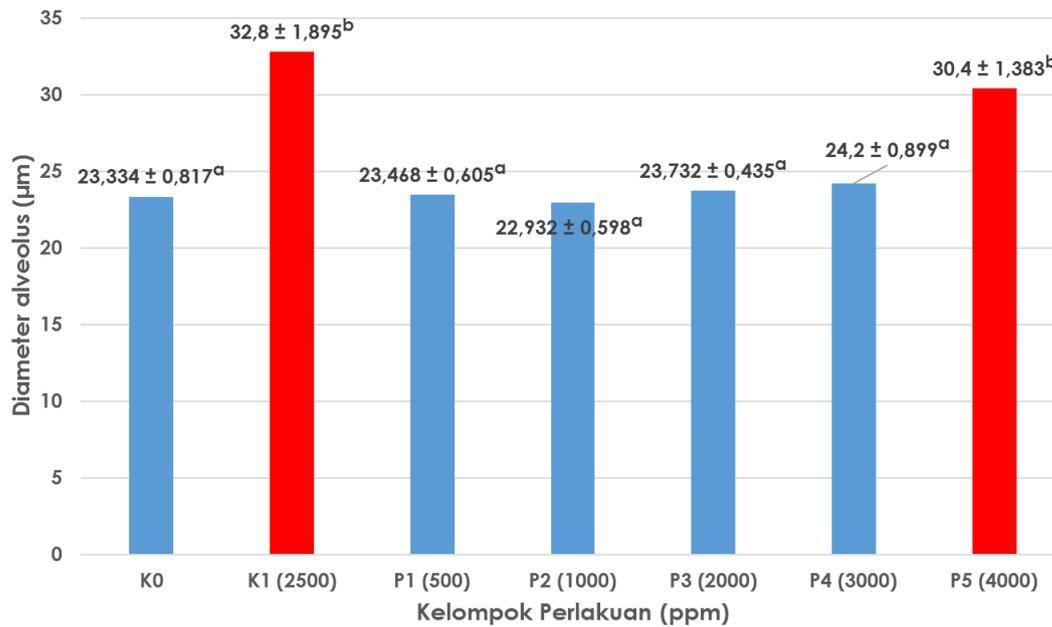
Hasil pengukuran diameter alveoli rata-rata pada masing-masing kelompok perlakuan dapat diketahui pada Gambar 5.39.

Uji *one-way* Anova bertujuan untuk melihat perbedaan yang signifikan dari kelompok obat nyamuk bakar herbal MORIZENA dosis bertingkat dan obat nyamuk bakar sintetik transflutrin 2500 ppm terhadap diameter alveolus mencit yang hasilnya dapat dilihat pada Tabel 5.17.

Tabel 5.17. Uji *one-way* Anova diameter alveolus mencit antar kelompok perlakuan selama 12 minggu perlakuan

| Sumber Keragaman | Derajat Bebas | Jumlah Kuadrat | Kuadrat Tengah | F-hitung | Sig. |
|------------------|---------------|----------------|----------------|----------|-------|
| Antar grup | 6 | 483,657 | 80,609 | 71,500** | 0,000 |
| Dalam grup | 28 | 31,567 | 1,127 | | |
| Total | 34 | 515,224 | 81,736 | | |

** berbeda sangat bermakna ($p < 0,01$)



Gambar 5.39. Rerata diameter alveolus mencit antar kelompok perlakuan selama 12 minggu perlakuan

Dari hasil uji *one-way* Anova sebagaimana yang terlihat pada Tabel 5.17, menunjukkan bahwa nilai probabilitas adalah 0,000. Hal ini berarti bahwa terdapat perbedaan yang sangat bermakna ($p < 0,01$) dari efek setiap level MORIZENA dosis bertingkat, kelompok Transflutrin 2500 ppm dan kelompok kontrol tanpa paparan asap obat nyamuk bakar terhadap diameter alveolus mencit.

Selanjutnya untuk membandingkan kemaknaan kelompok MORIZENA dosis bertingkat, kelompok Transflutrin 2500 ppm dan kelompok kontrol tanpa paparan asap obat nyamuk bakar terhadap diameter alveolus mencit, maka analisis dilanjutkan dengan menggunakan uji beda nyata terkecil yang hasilnya dapat dilihat pada Tabel 5.18.

Dari hasil uji beda nyata terkecil yang diperhatikan pada Tabel 5.18, menunjukkan bahwa diameter alveolus mencit kelompok kontrol tanpa paparan obat nyamuk bakar berbeda bermakna dengan kelompok Transflutrin 2500 ppm dan kelompok MORIZENA dosis 4000 ppm. Kelompok Transflutrin 2500 ppm berbeda bermakna dengan semua kelompok MORIZENA. kelompok MORIZENA dosis 500 ppm hingga 3000 ppm berbeda bermakna dengan kelompok MORIZENA dosis 4000 ppm. Hal ini berarti bahwa pemberian paparan MORIZENA dosis 500 ppm hingga 3000 ppm tidak menyebabkan pelebaran diameter alveolus mencit, namun pemberian

MORIZENA dosis 4000 ppm menyebabkan pelebaran diameter alveolus mencit. Sedangkan pemberian paparan Transflutrin 2500 ppm paling berdampak pada pelebaran diameter alveolus mencit.

Tabel 5.18. Uji beda nyata terkecil diameter alveolus mencit antar kelompok perlakuan selama 12 minggu perlakuan

| Kel (ppm) | 0 | 2500 | 500 | 1000 | 2000 | 3000 | 4000 |
|------------------|----------|-------------|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 0 | - | 9,466* | 0,134 | 0,402 | 0,398 | 0,866 | 7,066* |
| 2500 | - | - | 9,332* | 9,868* | 9,068* | 8,600* | 2,400* |
| 500 | - | - | - | 0,536 | 0,264 | 0,732 | 6,932* |
| 1000 | - | - | - | - | 0,800 | 1,268 | 7,468* |
| 2000 | - | - | - | - | - | 0,468 | 6,668* |
| 3000 | - | - | - | - | - | - | 6,200* |
| 4000 | - | - | - | - | - | - | - |

* berbeda bermakna ($p < 0,05$)

Inhalasi asap seperti paparan MORIZENA dosis bertingkat dan paparan Transflutrin 2500 ppm juga dapat berpengaruh terhadap struktur histologi komponen utama jaringan paru-paru mencit. Perbedaan rata-rata diameter alveoli mencit pada masing-masing kelompok dapat lebih jelas melalui grafik pada Gambar 5.38.

Untuk kerusakan jaringan paru-paru mencit dilakukan dengan uji Kruskal-Wallis untuk melihat perbedaan antara kelompok kontrol tanpa paparan obat nyamuk bakar, kelompok MORIZENA dosis bertingkat dan kelompok Transflutrin 2500. Dari hasil uji analisis statistik menunjukkan bahwa untuk kerusakan membran alveolus serta hubungan antara alveolus memiliki skor derajat kerusakan yang berbeda bermakna.

Bahan aktif yang terdapat di dalam asap obat nyamuk bakar akan masuk ke dalam tubuh melalui pernafasan dan kulit lalu akan beredar dalam darah, setelah itu menyebar pada sel-sel tubuh. Efek terbesar akan dialami oleh organ yang sensitif, karena obat nyamuk bakar lebih banyak mengenai hirupan, maka yang biasanya terkena adalah pernafasan (Dahniar, 2014).

Saluran nafas dilengkapi suatu epitel atau pelapis saluran nafas. Epitel ini mempunyai silia seperti rambut getar yang berfungsi untuk mengeluarkan sesuatu. Silia akan bereaksi terhadap sekret (cairan lendir) atau benda asing yang ada dalam saluran. Benda ini akan dikeluarkan ke atas dengan bantuan silia yang menyapu seperti

gelombang. Namun karena bahan kimia pada obat nyamuk terdiri dari zat aktif yang bersifat iritatif, bukan kuman, maka sel epitel lebih mudah rusak, begitu pula dengan silianya. Jika epitel dan silia rusak, benda-benda tersebut tidak dapat dikeluarkan dari saluran pernafasan bagian atas. Selain itu, sel-sel di bawah epitel juga akan terkena dampaknya. Akibatnya keluar lendir atau cairan kental yang menyebabkan saluran nafas menjadi mengkerut (pelipatan lapisan mukosa) karena saraf-sarafnya terganggu.

Melihat hasil yang didapat, secara keseluruhan tampak adanya pelebaran diameter alveoli bila dibandingkan dengan kelompok kontrol tanpa paparan obat nyamuk bakar. Pelebaran diameter alveoli ini kemungkinan dikarenakan berbagai macam kandungan gas dan partikel di dalam asap obat nyamuk bakar yang mengandung radikal bebas dan gas yang reaktif lainnya. Elemen-elemen yang ada di dalam asap obat nyamuk bakar, dalam kombinasinya dengan partikel karbon kemungkinan dapat memproduksi kerusakan jaringan yang spesifik akibat inhalasi asap obat nyamuk bakar, karena dapat terjadi interaksi dengan CO. Kerusakan jaringan tersebut merupakan hasil dari produk pembakaran yang melepaskan mediator. Mediator ini yang kemungkinan bertanggungjawab terhadap kerusakan jaringan karena pemaparan asap daripada sebuah efek langsung dari hasil pembakaran terhadap jaringan.

Menurut Sanjoto dkk. (2001) paparan asap yang mengandung radikal bebas, mengakibatkan inaktivasi α 1-antitripsin (AAT) yang merupakan enzim yang menghambat aktivitas proteolitik dari elastase, sehingga akan terjadi peningkatan aktivitas elastase yang disekresi neutrofil. Hal ini akan menyebabkan terganggunya keseimbangan elastase dan AAT sehingga terjadi proses degradasi proteolitik elastin oleh elastase. Proses degradasi ini menyebabkan penurunan kuantitas dan kualitas elastin yang berdampak pada menurunnya elastisitas jaringan paru-paru. Padahal serat-serat elastik yang merupakan komponen penting dari matriks ekstraseluler paru-paru dibentuk oleh komponen elastin yang bertanggungjawab terhadap sifat elastisitas jaringan paru-paru dan serat retikulin untuk mencegah pengembangan yang berlebihan serta mencegah kerusakan pada alveoli. Menurut Lesson dkk. (1996) serat elastin dan serat retikulin saling menjalin membentuk jala yang kemudian membatasi dua alveoli dan disebut septum interalveolaris. Ada tiga jenis sel utama yang terletak di dalam

septum interalveolaris ini yaitu sel alveolar pipih (tipe I), sel alveolar besar (tipe II) dan sel endotel.

Menurut Laffon dkk. (1999) adanya inhalasi asap mengakibatkan terjadinya perubahan pada epitel alveoli seperti denudasi lamina basal, pembengkakan dan pecahnya sel tipe I dari epitel alveoli. Sesungguhnya fungsi utama sel ini adalah mengadakan sawar dengan ketebalan minimal yang dengan mudah dilalui gas (Junquiera dkk., 1997). Selain itu gas dan partikel dalam asap obat nyamuk bakar kemungkinan besar juga mengganggu fungsi lapisan surfaktan yang dihasilkan sel alveolar tipe II. Lapisan surfaktan berfungsi membantu mengurangi tegangan permukaan dari sel-sel alveolar sehingga diperlukan sedikit kekuatan inspirasi untuk mengisi alveolus sehingga mengurangi kerja pernafasan. Tanpa surfaktan alveolus cenderung kolaps selama ekspirasi (Junquiera dkk., 1997).

Menurut Junquiera dkk. (1997) adanya inhalasi asap yang mengandung NO_2 seperti asap obat nyamuk bakar dapat berakibat rusaknya sebagian besar sel pelapis alveolus (sel tipe I dan sel tipe II). NO_2 adalah oksidator yang mengoksidasi ferro menjadi feri pada hemoglobin maupun oksihemoglobin. Perubahan ferro menjadi feri tersebut menyebabkan meningkatnya kadar methemoglobin dan kadar oksigen berkurang. Berkurangnya oksigen dapat menyebabkan kerusakan jaringan paru seperti rusaknya septum interalveolaris. NO_2 merupakan gas yang sangat beracun yang dapat menyebabkan kerusakan alveolus (Montmogery dkk., 1993). Maka jika sel-sel utama dalam septum interalveolaris ini terganggu fungsinya, akan menurunkan elastisitas jaringan paru yang kemungkinan besar mengganggu fungsi pernafasan, seperti emfisema yang terjadi pada kelompok obat nyamuk bakar herbal MORIZENA dosis 4000 ppm dan kelompok obat nyamuk bakar sintetik transflutrin 2500 ppm.

Emfisema merupakan rusaknya dinding alveoli yang diikuti pengurangan bagian respirasi paru. Emfisema terjadi akibat terlalu banyak volume udara yang berada di dalam alveoli sehingga menyebabkan beberapa alveoli yang berdekatan menyatu dengan membentuk kavum emfisematosa yang besar, tidak lagi alveoli yang kecil-kecil seperti biasa karena rusaknya dinding alveoli. Hal ini menyebabkan berkurangnya jumlah alveoli dalam paru-paru dan berkurangnya luas permukaan difusi udara paru-paru. Pada emfisema, struktur paru-paru bagian dalam menjadi lebih longgar (meregang) (Guyton dan Hall, 1997).

Gas-gas toksik dan partikel yang masuk ke dalam alveoli kemungkinan akan mengakibatkan perubahan pada sel-sel septum interalveolaris yang pada umumnya berupa peningkatan secara drastis aktivitas mitosis sel septalis (sel tipe II) sehingga septum interalveolaris menebal (Gambar 5.25 dan Gambar 5.38). Partikel terinhalasi dapat mencapai alveoli, terlebih jika silia di bagian konduksi dari sistem pernafasan mereduksi. Partikel-partikel seperti partikel karbon akan menyebabkan reaksi peradangan yang secara perlahan-lahan akan mengarah pada penimbunan partikel dalam alveoli. Partikel ini akan difagositosis oleh makrofag alveolar yang berada di dalam septum interalveolaris dan di lumen alveoli. Kemampuan makrofag alveolar dalam mempertahankan diri terhadap partikel asap, banyak berkurang karena kekurangan oksigen (Bavelender dan Ramaley, 1998).

Di samping gas dan uap, aerosol cair dan partikel-partikel di udara juga dapat diserap. Umumnya partikel besar ($> 10 \mu\text{m}$) tidak memasuki saluran nafas. Partikel berukuran $0,01 - 10 \mu\text{m}$ diendapkan dalam berbagai bagian saluran nafas. Partikel yang lebih besar mungkin diendapkan di nasofaring dan diserap lewat epitel di daerah ini atau lewat epitel saluran cerna setelah bahan tersebut tertelan bersama lendir (Lu, 1994).

Menurut Corwin (2008) penyumbatan aliran udara biasanya terjadi akibat penimbunan mukus dan obstruksi aliran udara bronkus yang mengalir suatu kelompok alveolus tertentu. Setiap keadaan yang menyebabkan akumulasi mukus seperti fibrosis kistik, pneumonia atau bronkitis kronis meningkatkan resiko atelektasia absorpsi (tidak adanya udara di dalam alveolus juga bisa menyebabkan kolapsnya paru-paru atau alveolus). Alveolus yang kolaps tidak mengandung udara sehingga tidak dapat ikut serta dalam pertukaran gas. Kondisi ini mengakibatkan penurunan luas permukaan yang tersedia untuk proses difusi dan kecepatan pernafasan berkurang.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan beberapa hal antara lain uji potensi pada *A. aegypti* dan uji toksisitasnya pada mencit (*Mus musculus*).

1. Konsentrasi gas karbon monoksida (CO) yang dikeluarkan oleh asap MORIZENA kurang dari dosis 3000 ppm relatif aman yaitu sebesar 228 ppm, sedangkan dosis 4000 ppm sebesar 320 ppm dan kelompok Transflutrin sebesar 545 ppm lebih tinggi dari dosis aman yang disarankan yaitu 300 ppm.
2. *A. aegypti* kelompok MORIZENA hingga dosis 4000 ppm dan kelompok Transflutrin 2500 ppm menyebabkan kematian nyamuk dengan KdT₅₀ lebih dari 90%.
3. Nilai LC₅₀ pada kelompok MORIZENA hingga dosis 4000 ppm sebesar 999 ppm.
4. Nilai LC₉₀ pada kelompok MORIZENA hingga dosis 4000 ppm sebesar 2977 ppm.
5. Dosis yang optimal dari kelompok MORIZENA terhadap efektivitas kematian *A. aegypti* adalah 2977 ppm.
6. Aktivitas enzim asetilkolinesterase *A. aegypti* mengalami kenaikan yaitu pada kelompok MORIZENA dosis 3000 ppm sebesar 0,3400 $\mu\text{mol}/\text{menit}/\text{mg}$ protein, dosis 4000 ppm sebesar 0,3525 $\mu\text{mol}/\text{menit}/\text{mg}$ protein dan kelompok Transflutrin 2500 ppm sebesar 0,3525 $\mu\text{mol}/\text{menit}/\text{mg}$ protein yang menyebabkan paralisis dan kematian nyamuk.
7. Kelompok MORIZENA hingga dosis 4000 ppm tidak bersifat toksik yang terlihat dari tidak adanya perubahan berat badan dan berat paru-paru mencit.
8. Kelompok MORIZENA tidak menyebabkan perubahan histopatologis pada jaringan trakea mencit hingga dosis 3000 ppm, dibandingkan dengan kelompok MORIZENA dosis 4000 ppm dan kelompok Transflutrin 2500 ppm. Perubahan histopatologis trakea meliputi perubahan struktur epitel berlapis semu silindris bersilia, jumlah sel Goblet, menipisnya diameter trakea dan menurunnya tinggi

lapisan epitel. Kelompok MORIZENA hingga dosis 3000 ppm tidak menyebabkan perubahan histopatologis paru-paru mencit jantan dibandingkan MORIZENA dosis 4000 ppm dan kelompok Transflutrin 2500 ppm. Perubahan histopatologis paru-paru mencit meliputi melebarnya diameter alveoli dan penebalan septum interalveolaris.

6.2. Saran

Saran yang dapat diberikan sehubungan dengan peningkatan penggunaan MORIZENA dosis bertingkat yang aman dan tidak merusak lingkungan antara lain adalah melakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui resistensi pada *A. aegypti* karena pemberian MORIZENA hingga dosis 4000 ppm.

Perlunya melakukan kajian terhadap aktivitas enzim asetilkolinesterase pada hewan coba mencit untuk mengetahui efek paralisisnya (tingkat molekuler). Selain itu diperlukan kajian untuk menghitung kadar enzim monooksigenase pada mencit untuk mengetahui terjadinya penurunan pengikatan hemoglobin dalam darah.

DAFTAR PUSTAKA

- Agrios. 1998. Plant Pathology. Academic Press, New York. p. 262.
- Akoso, B.T. 2000. Perlindungan Masyarakat Veteriner dan Pengembangan Produk Hewani. Paper dipresentasikan pada Rapat Koordinasi dan Konsultasi Penyusunan Program TA 2000 Jakarta.
- Anggraeni, NIS. 2009. Pengaruh Lama Paparan Asap Knalpot Dengan Kadar CO 1800 ppm Terhadap Gambaran Histopatologi Jantung Pada Tikus Wistar. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang.
- Anindyajati, E.A. 2007. Pengaruh Asap Pelelehan Lilin Batik (Malam) terhadap Struktur Histologis Trakea dan Alveoli Pulmo, Jumlah Eristrosit serta Kadar Hemoglobin Mencit (*Mus musculus* L). *Skripsi*. Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Aradilla, A.S. 2009. Uji Efektivitas Larvasida Ekstrak Etanol Daun Mimba (*Adzadirachta indica*) terhadap Larva *Aedes aegypti*. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro, Semarang.
- Asmaliyah. 2005. Prospek Pemanfaatan Bioinsektisida Sebagai Alternatif Dalam Pengendalian Hama Pada Hutan Tanaman. Makalah Penunjang Pada Seminar Hasil-Hasil Penelitian “Optimalisasi Peran IPTEK dalam Mendukung Peningkatan Produktivitas Hutan dan Lahan”. Jambi, 22 Desember 2005.
- Asmatullah, Andleeb, S., Akhtar, N. 2004. Developmental Defects Induced By Dichlorvos In Mice. *Journal of Research (Science)*, 15 : 3 [Internet] [sitasi 5 April 2013]. Didapat dari : <http://www.bzu.pdu.pk/jrscience/dichlorvos/htm>.
- Barnard, J., McCulloch, Meng, X.L. 2000. Modelling Covariance Matrices in Terms of Standard Deviations and Correlations with Application to Shrinkage. Harvard University.
- Bevelander, G., Ramaley, J.A. 1998. Dasar-dasar Histologi. Terjemahan oleh Wisnu Gunarso. Penerbit Erlangga, Jakarta.
- Blumenthal, Ed. 1997. Klein. Trans. German Commission E Therapeutic Monographs on Medicinal Herbs for Human Use. English Translation. American Botanical Council America, Texas.
- Benson, W.W, Brown, K.S., Gilbert, L.E. Jr. 1976. Coevolution of Plants and Herbivores : Passion Flower Butterflies. *Evolution*, 29 : 659-680.

- Braber, S., Henricks, P.A.J., Nijkamp, F.P., Kraneveld, A.D., Folkerts, G. 2010. Inflammatory Changes in the Airways of Mice Caused by Cigarette Smoke Exposure are Only Partially Reversed After Smoking Cessation. *Respiratory Research*, 11 : 99.
- Bramwell, S., Zito, W., Staba, E.J. 1969. Nuclear Magnetic Resonance Spectra of the Natural Pyrethrins and Related Compounds. *Tetrahedron*, 25 : 1727 – 1741.
- Bug. 2001. Pyrethroids. [Internet] [sitasi 26 September 2014]. Didapat dari : http://www.drbug.com/mosquito_killer.htm
- Busvine, J. R. 1971. A Critical Review of the Techniques for Testing Insecticides. 2nd Ed. Commonwealth Agricultural Bureaux, Slough, England.
- Casida, J.E. 1980. Pyrethrum Flowers and Pyrethroid Insecticides. *Environmental Health Perspective*, 34 : 189 – 202.
- Chandra, B. 2006. Pengantar Kesehatan Lingkungan. Penerbit EGC, Jakarta.
- Constant and Bonning. 1989. Pesticide Resistance in Arthropods. Ed. R Roush and BE Tabashnik. Springer, USA.
- Corwin, E. J. 2008. Buku Saku Patofisiologi Corwin. Penerbit Aditya Media, Jakarta.
- Cronquist, A. 1981. An Integrated System of Classification of Flowering Plants. Columbia University Press, New York.
- Dahniar, A.R. 2011. Pengaruh Asap Obat Nyamuk Terhadap Kesehatan dan Struktur Histologi Sistem Pernafasan. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala*, 11(1) : 52-58.
- Daswir, Indra, K. 2006. Pengembangan Tanaman Serai Wangi di Sawah Lunto Sumatera Barat (*Andropogon nardus* Java de JONE). *Jurnal Pengembangan Teknologi Tanaman Obat dan Rempah*, XVIII (1). Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik: Bogor. Hal. 12-15.
- Departemen Kesehatan RI. 2004. Perilaku Hidup Nyamuk *Aedes aegypti* Sangat Penting Diketahui Dalam Melakukan Kegiatan Pemberantasan Sarang Nyamuk Termasuk Pemantauan Jentik Berkala. *Bulletin Harian* [Internet] [sitasi 23 Maret 2014]. Didapat dari : <http://www.depkes.go.id/downloads/Bulletin%20Harian%2010032004.pdf>.
- Djojosumarto, P. 2008. Pestisida dan Aplikasinya. Agromedia Pustaka, Jakarta.
- Donatus, I.A. 2001. Toksikologi Dasar. Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi, Fakultas Farmasi, Universitas GajahMada, Yogyakarta.

- Dwiatmini, D., Herlina, D., Wuryaningsih, S. 1994. Pengaruh Naungan dan Mulsa terhadap Pertumbuhan dan Kualitas Bunga Krisan. *Buletin Penelitian Tanaman Hias*, 2(1) : 29-36.
- Eatau, D.L., Klaassen, C.D. 2001. Principle of Toxicology, in Klaassen, C.D. (Eds) : *Casarett and Doull's Toxicology, the Basic Science of Poison*. 6th Ed., Mc. Graw Hill, New York.
- Echeverri, F., Arango, V., Quinones, W., Torres, F., Escobar, G., Rosero, Y., Archbold, R. 2001. Passifloricins, Polyketides Alpha-pyrone from *Passiflora foetida* Resin. *Phytochemistry*, 56(8) : 881-885.
- Ellefsen, P., Tos, M. 1972a. Goblet cells in the human trachea, quantitative studies of normal trachea. *Anat Anz*, 130(5) : 501-20.
- Ellefsen, P., Tos, M. 1972b. Goblet cells in the human trachea : quantitative studies of a pathological biopsy material. *Arch Otolaryngol*, 95(6) : 547-555.
- Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres, V.Jr., Featherstone, R.M. 1961. A New and Rapid Calorimetric Determination of Acetylcholinesterase Activity. *Biochemistry Pharmacology*, 7: 88-95.
- Fales, J.H., Mills, G.D., Durbin, C.G. 1968. Evaluation of Smoke from Insecticidal Coils Against Mosquitoes. *Mosquito News*, 23:547-553.
- Fardiaz, S. 1992. Polusi Air dan Udara. Penerbit Kanisius, Yogyakarta.
- Felter, H.W., Lyod, J.U. 1998. The Plant : King's American Dispensatory. Henriette Kress, USA.
- Feriyanto, Y.E., Sipahutar, P.J., Mahfud, Prihatini, P. 2013. Pengambilan Minyak Atsiri dari Daun dan Batang Serai Wangi (*Cymbopogon winterianus*) Menggunakan Metode Distilasi Uap dan Air dengan Pemanasan Microwave. *Jurnal Teknik Pomits*, 2(1) : 2337-3539.
- Finney, D.J. 1978. Probit Analisis. 3rd ed. Cambridge University Press, London.
- Fradin, M.S. 1998. Mosquitoes and Mosquito Repellent : a Clinician's Guide. *Annual International Medicine*, 128 : 931-940.
- French-Constant, R.H., Bonning, B.C. 1989. Rapid Microtitre Plate Test Distinguishes Insecticide Resistant Acetylcholinesterase Genotype in the Mosquitoes *Anopheles albimanus*, *Anopheles nigerrimus* and *Culex pipiens*. *Medical and Veterinary Entomology*, 3: 9-16.
- Georgis, R. 1996. Present and Prospects of Biological Insecticides. Cornell Community Conference on Biological Control. 11-13 April 1996.

- Gibson, G.G., Skett, P. 1991. Pengantar Metabolisme Obat. UI Press, Jakarta.
- Gillot, C. 2005. Entomology. Plenum Press, New York.
- Guenther, E. 1988. *Minyak Atsiri*. Jilid I. Diterjemahkan oleh : S. Ketaren. UI Press, Jakarta.
- Guyton, A. C., Hall, J. E. 1997. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. Edisi 9. Penerbit EGC, Jakarta.
- Hadinegoro, S.R.H., Satari, H.I. 2002. Demam Berdarah Dengue. Balai Penerbit FKUI, Jakarta.
- Hambali, A. 2012. Uji Efektivitas Berbagai Tumbuhan Sebagai Pestisida Nabati. Laporan Penelitian. Laboratorium Pestisida dan Teknik Aplikasi Program Studi Agroekoteknologi. Fakultas Pertanian. Universitas Sumatera Utara, Medan.
- Hamijaya, M.Z., Asikin, A. 2005. Teknologi Indigenous dalam Mengendalikan Hama Padi di Kalimantan Selatan. Simposium Nasional Ketahanan dan Keamanan Pangan pada Era otonomi dan Globalisasi, Bogor.
- Handayani, Hasanuddin, I., Anwar. 2012. Efektivitas Ekstrak Daun Sirih (*Piper battle* L.) sebagai Bioinsektisida terhadap Kematian Nyamuk *Aedes aegypti*. *Laporan Penelitian*. Fakultas Kesehatan Masyarakat, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Harborne, J.B. 1992. Methods of Plant Analysis, in *Phytochemical Methods-A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis-III*. Edn. Chapman & Hall, London. pp. 295.
- Harris, R. 1987. Tanaman Minyak Atsiri. Penerbit Penebar Swadaya, Jakarta. p. 89-94.
- Hartati, W. 2000. Uji Kepekaan Larva *Aedes egypti* Linn terhadap Ekstrak Biji Srikaya. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro, Semarang.
- Head, S. 1973. Carotenoid Constituents of Pyrethrum Flower (*Chrysanthemum cinerariaefolium*). *Journal Agriculture Food Chemistry*, 21(6) : 999 – 1001.
- Herms, W. 2006. Medical Entomology. The Macmillan Company, Unites States of America.
- Heyne, K. 1987. Tumbuhan Berguna Indonesia. Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan, Departemen Kehutanan, vol. I-IV.
- Hobir. 1990. Minyak Atsiri. Jilid II. Universitas Indonesia Press, Jakarta.
- Hsia, C.C., Hyde, D.M., Ochs, M., Weibel, E.R. 2010. An Official Research Policy Statement of the American Thoracic Society/European Respiratory Society :

Standards for Quantitative Assessment of Lung Structure. *American Journal Respiratory Critical Care Medicine*, 181 : 394–418.

Johnson, D. E. 1997. Liver Diseases, Cases and effect. 7th Edition. Viely Press, Chichester.

Junquiera, L.C., Carneira, J., Kelley, R.O. 1997. Sistem Pernapasan, in : *Basic Histology*. Ed 8. Diterjemahkan oleh : Susiarto K, Alex S (editors). Penerbit EGC, Jakarta. p. 342-4.

Kardinan, A. 2000. Piretrum (*Chrysanthemum cinerariaefolium* Trev) : Bahan Insektisida Nabati Potensial. *Jurnal Litbang Pertanian*, 19(4) : 122-128.

Kardinan, A. 2001. Mengenal Lebih Dekat Tanaman Pengusir dan Pembasmi Nyamuk. Agromedia Pustaka, Jakarta.

Kardinan, A. 2005. Pestisida Nabati Ramuan dan Aplikasi. Agromedia Pustaka, Jakarta. Hal 1-5.

Kementerian Kesehatan RI. 2012. Profil Data Kesehatan Indonesia Tahun 2011. [Internet] [sitasi 20 November 2013]. Didapat dari : <http://www.depkes.go.id/>

Ketaren, S. 1985. Pengantar Teknologi Minyak Atsiri. Penerbit Balai Pustaka, Jakarta.

Killip, P. 1938. American Species of Passifloraceae. *The Publication Field Mus National Histology*, 19 : 1-613.

Komisi Pestisida. 1995. Metoda Standar Pengujian Efikasi Pestisida. Departemen Pertanian RI, Jakarta.

Kwak, Y.G., Song, C.H., Yi, H.K., Hwang, P.H., Kim, J.S., Lee, K.S., Lee, Y.C. 2003. Involvement of PTEN in Airway Hyperresponsiveness and Inflammation in Bronchial Asthma. *Journal Clinical Investment*, 111(7) : 1083-1092.

Leeson, S., Summers, J.D., Caston, L.J. 1996. Broiler Response to Energy or Energy and Protein Dilution in the Finisher Diet. *Poultry Science*, 75 : 522-528.

Lestari, B., Rahardi, Gama, Z. 2010. Identifikasi Nyamuk di Kelurahan Sawojajar Kota Malang [Internet] [sitasi 23 Maret 2014]. Didapat dari : <http://biologi.ub.ac.id/files/2010/12/BSS2010ZPGBR.pdf>.

Liu, W. K., Sun, S. E. 1988. Ultrastructural Changes of Tracheal Epithelium and Alveolar Macrophages of Rats Exposed to Mosquito-Coil Smoke. *Toxicology Letter*, 41:145-157.

Liu, W., Zhang, J., Hashim, J.H., Jalaludin, J., Hashim, Z., Goldstein, B.D. 2003. Mosquito Coil Emissions and Health Implications. *Environmental Health Perspectives*, 111(12) : 1454-1460.

- Loomis, T.A. 1978. *Essential of Toxicology*. 3rd ed. Lea &Febiger, Philadelphia. p. 198 – 202.
- Lu, F. C. 1994. *Toksikologi Dasar : Asas, Organ Sasaran dan Penilaian Resiko*. Edisi Kedua. UI Press, Jakarta.
- Lukwa, N., Chandiwana, S.K. 1998. Efficacy of Mosquito Coils Containing 0.3% and 0.4% Pyrethrins Against *Anopheles gambiae* Sensu Lato Mosquitoes. *Central African Journal Medicine*, 44(4) : 104-107.
- MacIver, D. R. 1964. Mosquito Coils Part II. Studies on the Action of Mosquito Coil Smoke on Mosquitoes. *Pyrethrum Post*, 7:7-14.
- Mahadeva, R., Shapiro, S.D. 2002. Chronic Obstructive Pulmonary Disease 3 : Experimental Animal Models of Pulmonary Emphysema. *Thorax*, 57((10) : 908-14.
- Margino, S. dkk. 2002. Antifungi Penghambat *Fusarium oxysporum* yang Disintesis oleh Fungi Endofit. *Gama Sains*, 4(2):112-120.
- Marianti, A. 2009. Aktivitas Antioksidan Jus Tomat pada Pencegahan Kerusakan Jaringan Paru-Paru Mencit yang Dipapar Asap Rokok. *Jurnal Biosaintifika*, 1:1-10.
- Mattew, G.A. 1979. *Pesticide Application Method*. Long Man Group Limited, England.
- Metcalf, R.L., Luckmann, W.H. 1982. *Introduction to Insect Pest Management*. John Wiley and Sons, New York.
- Meyers, F., Jawetz, E., Goldfien, A. 1976. *Reviews of Medical Pharmacology*. 6th Edition. Lange Medical Publications, Los Altos.
- Miller, L.A., Gerriets, J.E., Tyler, N.K., Abel, K., Schelegle, E.S., Plopper, C.G., Hyde, D.M. 2009. Ozone and Allergen Exposure During Postnatal Development Alters the Frequency and Airway Distribution of CD25+ Cells in Infant Rhesus Monkeys. *Toxicology Application Pharmacology*, 236 : 39–48.
- Naria, E. 2005. *Insektisida Nabati Untuk Rumah Tangga*. Laporan Penelitian. Departemen Kesehatan Lingkungan, Fakultas Kesehatan Masyarakat, Universitas Sumatera Utara, Medan.
- Nashibah. 2003. Jangan Asal Semprot [Internet] [sitasi 14 Maret 2013]. Didapat dari : <http://www.kompas.com/kesehatan/news/htm>.
- Ndione RD, Faye O, Ndiaye M, Dieye A., and Afoutou JM. 2007. Toxic effects of neem products (*Azadirachta indica* A. Juss) on *Aedes aegypti* Linnaeus 1762 larvae. *In African Journal of Biotechnology*, 6(24): 2846-2854.

- Ngabekti, S. 1992. Penentuan Dosis Efektif Median (ED₅₀) Obat Nyamuk Bakar dan Pengaruh Kronisnya terhadap Struktur dan Fungsi Sistem Pernafasan Mencit (*Mus musculus* L.). *Tesis*. Fakultas Pasca Sarjana, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Novizan. 2002. Membuat dan Memanfaatkan Pestisida Ramah Lingkungan. Penerbit Agromedia Pustaka, Jakarta.
- Offor, C. E. 2014. Effect of Smoke from Mosquito Coil on Serum Aspartate Transaminase, Alanine Transaminase and Alkaline Phosphatase Activities in Male Albino Rats. *Internastional Journal of Current Research and Academic Review*, 2(12) : 97-100.
- Patil, A.S., Paikrao, H.M., Patil, S.R. 2013. *Passiflora foetida* Linn : a Complete Morphological and Phytopharmacological Review. *International Journal Pharmacology Biology Science*, 4(1) : 285-296.
- Permatasari, W.A., Rusmartini, T., Astuti, R. D. I. 2015. Uji Resistensi Nyamuk *Aedes aegypti* Terhadap Insektisida Transflutrin 25% dan Metoflutrin 3,5% Tahun 2015. *Prosiding Pendidikan Dokter*. Universitas Islam Bandung.
- Perumalsam, Haribalan. 2009. Larvicidal Activity of Compounds Isolated from Asarum heterotropoides Against Culex Pipiens Pallens, Aedes aegypti, and Ochlerotatus togoi (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology*, 46(6):1420-1423.
- Pinto, M.R., Filipe, A.R. 1973. Arbovirus Studies in Luanda, Angola. 1. Virological and Serological Studies During a Yellow Fever Epidemic. *Bulletin World Health Organization*, 49 : 31-35.
- Prasetyowati, H. 2007. Potret Insektisida Nabati Pengendali Nyamuk. *Inside*, II (02).
- Prijono, D. 1999. Prospek dan Strategi Pemanfaatan Insektisida Alami Dalam PHT. Bahan Pelatihan Pengembangan dan Pemanfaatan Insektisida Alami. Pusat Kajian PHT IPB, Bogor.
- Rahmawati, A., Angraini, A., Qorina, N., Nugroho, S., Pangesti, Y. 2010. Pembuatan Minyak Atsiri dari Daun dan Batang Sereh Wangi dengan Metode Distilasi Uap Langsung. Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Syarif Hidayatullah, Jakarta
- Reginawanti. 1999. Krisan. [Internet] [sitasi 15 September 2014]. Didapat dari : <http://www.deptan.go.id/ditlinhorti/makalah/bdkrisan.html/>
- Rozendaal, J.A. 1997. Vector Control, Method For Use by Individuals and Communities. World Health Organization, Geneva.

- Russel, R.C. 2000. *Aedes aegypti* Linn. *Anopheles* and *Culex* Larvae. [Internet] [sitasi 31 September 2014]. Didapat dari : http://medent.usyd.edu.au/photos/various_larvae.jpg.
- Sakulku, U., Nuchuchua, O., Uawongyart, N., Puttipipatkachorn, S., Sppttantawat, A., Ruktanonchai, U. 2009. Characterization and Mosquito Repellent Activity of Citronella Oil Nanoemulsion. *International Journal of Pharmaceutics*, 372(1-2) : 105-111.
- Sari, Y.D.A. 2012. Efektivitas Ekstrak Biji Bengkuang (*Pachyrrhizus erosus* Urb.) sebagai Larvasida Nyamuk *Aedes aegypti* L. Instar III. *Skripsi*. Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Sunan Kalijaga, Yogyakarta.
- Sastrodiharjo. 1979. Pengantar Entomologi. Penerbit ITB, Bandung.
- Sastrohamidjojo, H. 2004. Kimia Minyak Atsiri. Penerbit Gajah Mada University Press, Yogyakarta.
- Sayono. 2008. Pengaruh Modifikasi Ovitrap terhadap Jumlah Nyamuk *Aedes* yang Tertangkap. *Tesis*. Universitas Diponegoro, Semarang. [Internet] [sitasi 23 Maret 2014]. Didapat dari : <http://eprints.undip.ac.id/18741/1/sayono.pdf>.
- Seaton, A., Soutar, A., Crawford, V., Elton, R., McNerlan, S., Cherrie, J. 1999. Particulate Air Pollution and the Blood. *Thorax*, 54(11) : 1027-1032.
- Sibirian, J., Marlinza, R. 2009. Efek Pemberian Ekstrak Akar Pasak Bumi (*Eurycoma Longifolia* Jack) Pada Tahap Prakopulasi Terhadap Fertilitas Mencit (*Mus Musculus* L.) Betina. *Biospecies*, 2(2): 24 – 30.
- Smith, A., Obudho, W.O. 1967. Trials with Pyrethrum Mosquito Coils Against *Anopheles gambiae* Entering a Verandah-trap Hut. *Pyrethrum Post*, 9:15-17.
- Smith, A., Obudho, W.O., Esozed, S., Myamba, J. 1973. Louvre-trap Assesment of Mosquito Coils, with a High Pyrethrin I/Pyrethrin II Ratio, Against *Anopheles gambiae* Giles, *Cules fatigans* Wied and *Mansonia uniformis* (Theo.) *East African Medical Journal*, 50:352-361.
- Soegijanto. 2006. Demam Berdarah Dengue. Edisi Kedua. Airlangga University Press, Surabaya.
- Soehardjan, M. 1994. Konsepsi dan Strategi Penelitian dan Pengembangan Pestisida Nabati. *Prosiding Seminar Hasil Penelitian Dalam Rangka Pemanfaatan Pestisida Nabati*. Bogor, 1-2 Desember 1993.
- Soparat, S. 2010. Chemical Ecology and Function of Alkaloids. [Internet] [sitasi 24 November 2014]. Didapat dari : <http://pirun.ku.ac.th/~g4686045/media/alkaloid.pdf>.

- Sudarmaja, I., Mardihusodo, S. 2009. Pemilihan Tempat Bertelur Nyamuk *Aedes aegypti* pada Air Limbah Rumah Tangga di Laboratorium. *Jurnal Veteriner* 10(4) : 205-207 ISSN : 1411 – 8327 [Internet] [sitasi 23 Maret 2014]. Didapat dari : <http://ejournal.unud.ac.id/abstrak/6.%20sudarmaja%20&%20mardihusodo.pdf>.
- Sukma, D. 2009. Aktivitas Kitinasi, Peroksidase dan Anticendawan In Vitro dari Ekstrak Protein Tanaman *Tricosanthes* (Cucurbitaceae). *Laporan Penelitian*. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Sunarjo, P.I. 1990. Dasar-Dasar Ilmu Serangga. Pusat Antar Universitas Ilmu Hayati, Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Supartha, I. 2008. Pengendalian Terpadu Vektor Virus Demam Berdarah Dengue, *Aedes aegypti* (Linn.) dan *Aedes albopictus* (Skuse) (Diptera: Culicidae) [Internet] [sitasi 21 Maret 2014]. Didapat dari : <http://dies.unud.ac.id/wp-content/uploads/2008/09/makalah-supartha-baru.pdf>.
- Suriati, S., Kardinan, A. 1999. Toksisitas dari Bunga *Piretrum* (*Chrysanthemum cinerariaefolium*) terhadap Serangga Jantan dan Betina *Carpophilus* sp. *Prosiding Forum Komunikasi Ilmiah Pemanfaatan Pestisida Nabati*. 9-10 November 1999. Balai Penelitian dan Pengembangan Tanaman Perkebunan, Bogor.
- Susilowati, R.P. 2013. Efektivitas Ekstrak Daun Permot (*Passiflora foetida*) terhadap Mortalitas Larva Nyamuk *Aedes aegypti*. *Laporan Penelitian*. Fakultas Kedokteran, Universitas Kristen Krida Wacana, Jakarta.
- Susilowati, R.P. 2014. Daya Bunuh Obat Nyamuk Bakar Berbahan Ekstrak Daun Permot (*Passiflora foetida*) terhadap Nyamuk *Aedes aegypti*. *Laporan Penelitian*. Fakultas Kedokteran, Universitas Kristen Krida Wacana, Jakarta.
- Sutater, T.R., Majawisastro, Komar, D. 1993. Analisis Usaha Tani Bunga Potong Krisan. *Buletin Penelitian Tanaman Hias*, 1(1) : 73-85.
- Syahputra, E. 2001. Hutan Kalbar Sumber Pestisida Botani : Dulu, Kini dan Kelak. [Internet] [sitasi 02 Februari 2014]. Didapat dari <http://rudycr.tripod.com>.
- Tarumingkeng, R.C. 1992. Insektisida : Sifat, Mekanisme Kerja dan Dampak Penggunaannya. Universitas Kristen Krida Wacana, Jakarta.
- Taslimah. 2014. Uji Efikasi Ekstrak Biji Srikaya (*Annona squamosa* L.) sebagai Bioinsektisida dalam Upaya Integrated Vector Management terhadap *Aedes aegypti*. *Skripsi*. Peminatan Kesehatan Lingkungan, Program Studi Kesehatan Masyarakat, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Thomson. 2005. *Aedes albopictus* (Asian Tiger Mosquito). [Internet] [sitasi 29 Maret 2014]. Didapat dari : http://zipcodezoo.com/Animals/A/Aedes_albopictus/.

- Thurlbeck, W.M. 1967. Measurement of Pulmonary Emphysema. *American Revision Respiratory Disease*, 95(5) : 752-764.
- Tolle, M.A. 2009. Mosquito-Borne Diseases. *Current Problematic Pediatrics Adolescence Health Care*, 39 : 97-140.
- Tournoy, K.G., Kips, J.C., Schou, C., Pauwels, R.A. 2000. Airway Eosinophilia is Not a Requirement for Allergen-Induced Airway Hyperresponsiveness. *Clinical Experiment Allergy*, 30(1) : 79-85.
- Utami, A.F., Wardo, A.Y.P., Hidayat, A. 2010. Pengukuran Faktor Emisi Gas Karbon Monoksida (CO) dan Karbon Dioksida (CO₂) Pada Asap Mainstream Rokok Non Filter. *Laporan Penelitian*. Jurusan Fisika FMIPA Universitas Brawijaya, Malang.
- Utomo, S. S. 2011. Pengaruh Kecepatan Hisap Pada Faktor Emisi Partikel Ultrafine Asap Rokok. *Laporan Penelitian*. Universitas Brawijaya, Malang.
- Valley, S. J. 2012. Emission Factor. N. S. F Office, Air Pollution Control District, California.
- Wagner, W.L., Herbst, D.R., Sohmer, S.H. 1990. Manual of the Flowering Plants of Hawai'i. 2 vols. University of Hawai Press and Bishop Museum Press, Honolulu.
- Wahyono, T. 2005. Sistem Informasi : Konsep Dasar, Analisis Desain dan Implementasi. Penerbit Graha Ilmu, Jakarta.
- Wahyuni, T. 2005. Waspada! Efek Negatif Anti-Nyamuk. [Internet] [sitasi 09 Maret 2013]. Didapat dari : <http://www.k-online.com/intisari/baygon.htm>.
- Wahyuningtyas, E. 2004. Studi Daya Proteksi Serai Wangi (*Cymbopogon nardus* L.) Rendle sebagai Repelen terhadap Nyamuk *Aedes aegypti* Linnaeus. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Wakeling, E.N., Neal, A.P., Atchison, W.D. 2012. Pyrethroids and Their Effects on Ion Channels. John Wiley and Sons, New York.
- Wakhyulianto. 2005. Uji Daya Bunuh Ekstrak Cabe Rawit (*Capsicum frutescens* L) terhadap Nyamuk *Aedes aegypti*. *Skripsi*. Jurusan Ilmu Kesehatan Masyarakat Fakultas Ilmu Keolahragaan Universitas Negeri Semarang.
- Wardana, W.A. 2001. Dampak Pencemaran lingkungan. Penerbit Andi, Yogyakarta.
- Wardani, S. 2009. Uji Aktivitas Minyak Atsiri Daun dan Batang Serai (*Andropogon nardus* L) sebagai Obat Nyamuk Elektrik terhadap Nyamuk *Aedes aegypti*. *Skripsi*. Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah, Surakarta.
- WHO. 1978. Instruction for Determining the Susceptibility or Resistance of Mosquito Larva to Insecticides. Geneva.

- WHO. 1984. Tropical Disease Research. UNDP World Special Program For Research and Training in tropical Disease. Geneva.
- WHO. 2006. Pencegahan dan Penanggulangan Penyakit DBD. Terjemahan dari WHO Regional Publication SEARO No. 29 Prevention Control of Dengue and Dengue Haemorrhagic Fever. Jakarta. Departemen Kesehatan RI.
- Widiarti, Bawono, D.T., Suskamdani. 1997. Uji Bioefikasis Beberapa Insektisida Rumah Tangga terhadap Nyamuk Vektor Demam Berdarah. [Internet] [sitasi 22 September 2014]. Didapat dari : <http://kalbefarma.com/files/cdk/files/12>.
- Wigati, R.A. 2006. Inkriminasi Nyamuk *Anopheles vagus* donitz 1902 (Diptera : Culicidae) Sebagai Vektor Malaria di Kecamatan Kokap Kabupaten Kulon Progo Provinsi Daerah Istimewa Yogyakarta. Penelitian Pascasarjana Ilmu-Ilmu Kesehatan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Wijayakusuma, H.M.H. 1995. Tanaman Berkhasiat Obat di Indonesia. Penerbit Pustaka Kartini, Jakarta.
- Widjayanto, H. 1997. Pengaruh Asap 3 Macam Obat Nyamuk Bakar terhadap Struktur Mikroanatomi Trakea, Pulmo, dan Hepar Mencit (*Mus musculus* L.). *Skripsi*. Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Winarsih, P. 1994. Pengaruh Air terhadap Perkembangan Larva *Aedes aegypti* Linn. *Tesis*. Program Pascasarjana, Universitas Airlangga, Surabaya.
- Winatasmita dan Soesilowaty. 1985. Toksisitas Ekstrak Bunga Piretrum (*Chrysanthemum cinerariaefolium*) terhadap Mortalitas Larva *Spodoptera litura* (Noctuidae : Lepidoptera). [Internet] [sitasi 24 November 2013]. Didapat dari : <http://www.pdfactory.com>.
- Windley, M. J., Volker, H., Slawomir, A. D., Margaret, C. H., Glenn, F. K., Graham, M. N. 2012. Spider-Venom Peptides as Bionsecticides. *Journal Toxins*, 4:191-227.
- Winslow, L. 2002. The Effects of Pyrethrins and Pyrethroids on Human Physiology. [Internet] [sitasi 05 Februari 2013]. Didapat dari : http://www.thenakedtruthproject.com/files/pyrethrins_pyrethroids.pdf
- Wolfman, C., Viola, H., Paladini, A.C., Dajas, D., Medina, J.H. 1994. Possible Anxiolytic Effects of Chrysin, a Central Benzodiazepine Receptor Ligand Isolated from *Passiflora coerulea*. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 47 : 1-4.
- Wright, P.E., Chung, J. 2002. Mutual Synergistic Folding in Recruitment of CBP/p300 by p160 Nuclear Receptor Coactivators. *Nature*, 415 : 549-553.
- Yap, H.H., Lim, M.P., Chong, N.L., Lee, C.Y. 1996. Efficacy and Sublethal Effects of Mosquito Coils on *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* (Diptera :

Culicidae). KB Wildey (Editor). *Proceedings of the Second International Conference on Urban Pests*. p. 177 – 184.

Yudhastuti, R., Vidiyani, A. 2005. Hubungan Kondisi Lingkungan, Kontainer, dan Perilaku Masyarakat dengan Keberadaan Jentik Nyamuk *Aedes Aegypti* di Daerah Endemis Demam Berdarah Dengue Surabaya. [Internet] [sitasi 20 Maret 2014]. Didapat dari : <http://journal.unair.ac.id/filerPDF/KESLING-1-2-08.pdf>

Yuliani, S., Rusli, S., Wikardi, E.A. 2010. Aktivitas Formula Pirethrum Sebagai Insektisida Nabati. Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat Bogor, Bogor.

Zito, S., Crispina, T. 1990. Constituent of *Chrysanthemum cinerariaefolium* in Leaves, Regenerated Plantess and Callus. *Phytochemistry*, 29(8) : 2533-2534.

Lampiran 1. Data mortalitas *A. aegypti* antar kelompok perlakuan

Jumlah

| Waktu paparan (Jam) | Kelompok | Ulangan | | | |
|---------------------|----------------|---------|----|----|----|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 1 | K ₀ | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | K ₁ | 10 | 14 | 11 | 15 |
| | P ₁ | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | P ₂ | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | P ₃ | 1 | 0 | 3 | 0 |
| | P ₄ | 4 | 3 | 2 | 3 |
| | P ₅ | 8 | 5 | 6 | 10 |
| 2 | K ₀ | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | K ₁ | 12 | 18 | 16 | 17 |
| | P ₁ | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | P ₂ | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | P ₃ | 3 | 2 | 5 | 2 |
| | P ₄ | 7 | 6 | 5 | 7 |
| | P ₅ | 12 | 10 | 9 | 13 |
| 3 | K ₀ | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | K ₁ | 16 | 19 | 18 | 20 |
| | P ₁ | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | P ₂ | 0 | 1 | 2 | 1 |
| | P ₃ | 5 | 6 | 7 | 6 |
| | P ₄ | 12 | 10 | 7 | 10 |
| | P ₅ | 15 | 13 | 12 | 15 |
| 4 | K ₀ | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | K ₁ | 20 | 24 | 21 | 24 |
| | P ₁ | 2 | 0 | 0 | 1 |
| | P ₂ | 4 | 3 | 5 | 4 |
| | P ₃ | 9 | 7 | 10 | 12 |
| | P ₄ | 15 | 14 | 11 | 14 |
| | P ₅ | 16 | 15 | 15 | 18 |
| 5 | K ₀ | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | K ₁ | 25 | 25 | 25 | 25 |
| | P ₁ | 5 | 4 | 2 | 3 |
| | P ₂ | 4 | 6 | 5 | 7 |
| | P ₃ | 9 | 10 | 12 | 12 |
| | P ₄ | 17 | 16 | 14 | 19 |
| | P ₅ | 18 | 17 | 18 | 20 |
| 6 | K ₀ | 0 | 0 | 0 | 0 |

| | | | | | |
|---|----------------|----|----|----|----|
| | K ₁ | 25 | 25 | 25 | 25 |
| | P ₁ | 5 | 7 | 4 | 5 |
| | P ₂ | 8 | 6 | 9 | 7 |
| | P ₃ | 11 | 10 | 13 | 13 |
| | P ₄ | 20 | 18 | 18 | 21 |
| | P ₅ | 20 | 19 | 20 | 22 |
| 7 | K ₀ | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | K ₁ | 25 | 25 | 25 | 25 |
| | P ₁ | 6 | 7 | 8 | 5 |
| | P ₂ | 8 | 9 | 11 | 10 |
| | P ₃ | 14 | 14 | 15 | 14 |
| | P ₄ | 25 | 21 | 20 | 25 |
| | P ₅ | 25 | 25 | 25 | 25 |
| 8 | K ₀ | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | K ₁ | 25 | 25 | 25 | 25 |
| | P ₁ | 6 | 10 | 8 | 7 |
| | P ₂ | 12 | 9 | 11 | 10 |
| | P ₃ | 14 | 16 | 15 | 14 |
| | P ₄ | 25 | 25 | 25 | 25 |
| | P ₅ | 25 | 25 | 25 | 25 |

Persentase

| Waktu paparan (Jam) | Kelompok | Ulangan | | | |
|---------------------|----------------|---------|----|----|----|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 1 | K ₀ | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | K ₁ | 40 | 56 | 44 | 60 |
| | P ₁ | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | P ₂ | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | P ₃ | 4 | 0 | 12 | 0 |
| | P ₄ | 16 | 12 | 8 | 12 |
| | P ₅ | 32 | 20 | 24 | 40 |
| 2 | K ₀ | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | K ₁ | 48 | 72 | 64 | 68 |
| | P ₁ | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | P ₂ | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | P ₃ | 12 | 8 | 20 | 8 |
| | P ₄ | 28 | 24 | 20 | 28 |
| | P ₅ | 48 | 40 | 36 | 52 |
| 3 | K ₀ | 0 | 0 | 0 | 0 |

| | | | | | |
|-------|----------------|-----|-----|-----|-----|
| | K ₁ | 64 | 76 | 72 | 80 |
| | P ₁ | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | P ₂ | 0 | 4 | 8 | 4 |
| | P ₃ | 20 | 24 | 28 | 24 |
| | P ₄ | 48 | 40 | 28 | 40 |
| | P ₅ | 60 | 52 | 48 | 60 |
| <hr/> | | | | | |
| 4 | K ₀ | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | K ₁ | 80 | 96 | 84 | 96 |
| | P ₁ | 8 | 0 | 0 | 4 |
| | P ₂ | 16 | 12 | 20 | 16 |
| | P ₃ | 36 | 28 | 40 | 48 |
| | P ₄ | 60 | 56 | 44 | 56 |
| | P ₅ | 64 | 60 | 60 | 72 |
| <hr/> | | | | | |
| 5 | K ₀ | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | K ₁ | 100 | 100 | 100 | 100 |
| | P ₁ | 20 | 16 | 8 | 12 |
| | P ₂ | 16 | 24 | 20 | 28 |
| | P ₃ | 36 | 40 | 48 | 48 |
| | P ₄ | 68 | 64 | 56 | 76 |
| | P ₅ | 72 | 68 | 72 | 80 |
| <hr/> | | | | | |
| 6 | K ₀ | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | K ₁ | 100 | 100 | 100 | 100 |
| | P ₁ | 20 | 28 | 16 | 20 |
| | P ₂ | 32 | 24 | 36 | 28 |
| | P ₃ | 44 | 40 | 52 | 52 |
| | P ₄ | 80 | 72 | 72 | 84 |
| | P ₅ | 80 | 76 | 80 | 88 |
| <hr/> | | | | | |
| 7 | K ₀ | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | K ₁ | 100 | 100 | 100 | 100 |
| | P ₁ | 24 | 28 | 32 | 20 |
| | P ₂ | 32 | 36 | 44 | 40 |
| | P ₃ | 56 | 56 | 60 | 56 |
| | P ₄ | 100 | 84 | 80 | 100 |
| | P ₅ | 100 | 100 | 100 | 100 |
| <hr/> | | | | | |
| 8 | K ₀ | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | K ₁ | 100 | 100 | 100 | 100 |
| | P ₁ | 24 | 40 | 32 | 28 |
| | P ₂ | 48 | 36 | 44 | 40 |
| | P ₃ | 56 | 64 | 60 | 56 |
| | P ₄ | 100 | 100 | 100 | 100 |
| | P ₅ | 100 | 100 | 100 | 100 |

Lampiran 2. One-way Anova mortalitas *A. aegypti* antar kelompok perlakuan

Descriptives

mortalitas

| | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum | Between-Component Variance |
|-------|---------|--------|----------------|------------|----------------------------------|-------------|---------|---------|----------------------------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | | |
| | | | | | 1 | 4 | | | |
| 2 | 4 | 100,00 | ,000 | ,000 | 100,00 | 100,00 | 100 | 100 | |
| 3 | 4 | 31,00 | 6,831 | 3,416 | 20,13 | 41,87 | 24 | 40 | |
| 4 | 4 | 42,00 | 5,164 | 2,582 | 33,78 | 50,22 | 36 | 48 | |
| 5 | 4 | 59,00 | 3,830 | 1,915 | 52,91 | 65,09 | 56 | 64 | |
| 6 | 4 | 100,00 | ,000 | ,000 | 100,00 | 100,00 | 100 | 100 | |
| 7 | 4 | 100,00 | ,000 | ,000 | 100,00 | 100,00 | 100 | 100 | |
| Total | 28 | 61,71 | 37,735 | 7,131 | 47,08 | 76,35 | 0 | 100 | |
| Model | Fixed | | 3,546 | ,670 | 60,32 | 63,11 | | | |
| | Effects | | | | | | | | |
| | Random | | | 15,076 | 24,83 | 98,60 | | | 1587,762 |
| | Effects | | | | | | | | |

Test of Homogeneity of Variances

mortalitas

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| 6,438 | 6 | 21 | ,001 |

ANOVA

mortalitas

| | | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|----------------|-------------|----------------|----|-------------|----------|------|
| Between Groups | (Combined) | 38181,714 | 6 | 6363,619 | 506,197 | ,000 |
| | Linear Term | 15369,143 | 1 | 15369,143 | 1222,545 | ,000 |
| | Deviation | 22812,571 | 5 | 4562,514 | 362,927 | ,000 |
| Within Groups | | 264,000 | 21 | 12,571 | | |
| Total | | 38445,714 | 27 | | | |

Lampiran 3. Uji beda nyata terkecil mortalitas *A. aegypti* antar kelompok perlakuan

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: mortalitas

LSD

| (I) kelompok | (J) kelompok | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. | 95% Confidence Interval | |
|--------------|--------------|--------------------------|------------|-------|-------------------------|-------------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound |
| 1 | 2 | -100,000* | 2,507 | ,000 | -105,21 | -94,79 |
| | 3 | -31,000* | 2,507 | ,000 | -36,21 | -25,79 |
| | 4 | -42,000* | 2,507 | ,000 | -47,21 | -36,79 |
| | 5 | -59,000* | 2,507 | ,000 | -64,21 | -53,79 |
| | 6 | -100,000* | 2,507 | ,000 | -105,21 | -94,79 |
| | 7 | -100,000* | 2,507 | ,000 | -105,21 | -94,79 |
| 2 | 1 | 100,000* | 2,507 | ,000 | 94,79 | 105,21 |
| | 3 | 69,000* | 2,507 | ,000 | 63,79 | 74,21 |
| | 4 | 58,000* | 2,507 | ,000 | 52,79 | 63,21 |
| | 5 | 41,000* | 2,507 | ,000 | 35,79 | 46,21 |
| | 6 | ,000 | 2,507 | 1,000 | -5,21 | 5,21 |
| | 7 | ,000 | 2,507 | 1,000 | -5,21 | 5,21 |
| 3 | 1 | 31,000* | 2,507 | ,000 | 25,79 | 36,21 |
| | 2 | -69,000* | 2,507 | ,000 | -74,21 | -63,79 |
| | 4 | -11,000* | 2,507 | ,000 | -16,21 | -5,79 |
| | 5 | -28,000* | 2,507 | ,000 | -33,21 | -22,79 |
| | 6 | -69,000* | 2,507 | ,000 | -74,21 | -63,79 |
| | 7 | -69,000* | 2,507 | ,000 | -74,21 | -63,79 |
| 4 | 1 | 42,000* | 2,507 | ,000 | 36,79 | 47,21 |
| | 2 | -58,000* | 2,507 | ,000 | -63,21 | -52,79 |
| | 3 | 11,000* | 2,507 | ,000 | 5,79 | 16,21 |
| | 5 | -17,000* | 2,507 | ,000 | -22,21 | -11,79 |
| | 6 | -58,000* | 2,507 | ,000 | -63,21 | -52,79 |
| | 7 | -58,000* | 2,507 | ,000 | -63,21 | -52,79 |
| 5 | 1 | 59,000* | 2,507 | ,000 | 53,79 | 64,21 |
| | 2 | -41,000* | 2,507 | ,000 | -46,21 | -35,79 |
| | 3 | 28,000* | 2,507 | ,000 | 22,79 | 33,21 |
| | 4 | 17,000* | 2,507 | ,000 | 11,79 | 22,21 |
| | 6 | -41,000* | 2,507 | ,000 | -46,21 | -35,79 |
| | 7 | -41,000* | 2,507 | ,000 | -46,21 | -35,79 |

| | | | | | | |
|---|---|----------|----------|-------|-------|--------|
| 6 | 1 | 100,000* | 2,507 | ,000 | 94,79 | 105,21 |
| | 2 | ,000 | 2,507 | 1,000 | -5,21 | 5,21 |
| | 3 | 69,000* | 2,507 | ,000 | 63,79 | 74,21 |
| | 4 | 58,000* | 2,507 | ,000 | 52,79 | 63,21 |
| | 5 | 41,000* | 2,507 | ,000 | 35,79 | 46,21 |
| | 7 | ,000 | 2,507 | 1,000 | -5,21 | 5,21 |
| | 7 | 1 | 100,000* | 2,507 | ,000 | 94,79 |
| 2 | | ,000 | 2,507 | 1,000 | -5,21 | 5,21 |
| 3 | | 69,000* | 2,507 | ,000 | 63,79 | 74,21 |
| 4 | | 58,000* | 2,507 | ,000 | 52,79 | 63,21 |
| 5 | | 41,000* | 2,507 | ,000 | 35,79 | 46,21 |
| 6 | | ,000 | 2,507 | 1,000 | -5,21 | 5,21 |

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Lampiran 4. Uji probit LC₅₀ dan LC₉₀ mortalitas *A. aegypti* antar kelompok perlakuan

Probit Analysis

Data Information

| | | N of Cases |
|---------------|--|------------|
| Valid | | 20 |
| Rejected | Missing | 0 |
| | LOG Transform Cannot be Done | 0 |
| | Number of Responses > Number of Subjects | 0 |
| Control Group | | 0 |

Convergence Information

| | Number of Iterations | Optimal Solution Found |
|--------|----------------------|------------------------|
| PROBIT | 7 | Yes |

Parameter Estimates

| | Parameter | Estimate | Std. Error | Z | Sig. | 95% Confidence Interval | |
|---------------------|-------------|----------|------------|---------|------|-------------------------|-------------|
| | | | | | | Lower Bound | Upper Bound |
| PROBIT ^a | Konsentrasi | 2.701 | .221 | 12.208 | .000 | 2.268 | 3.135 |
| | Intercept | -8.103 | .693 | -11.686 | .000 | -8.796 | -7.409 |

a. PROBIT model: $PROBIT(p) = \text{Intercept} + BX$ (Covariates X are transformed using the base 10.000 logarithm.)

Chi-Square Tests

| | | Chi-Square | df ^b | Sig. |
|--------|------------------------------|------------|-----------------|-------------------|
| PROBIT | Pearson Goodness-of-Fit Test | 53.711 | 18 | .000 ^a |

a. Since the significance level is less than .150, a heterogeneity factor is used in the calculation of confidence limits.

b. Statistics based on individual cases differ from statistics based on aggregated cases.

Cell Counts and Residuals

| | Number | Konsentrasi | Number of Subjects | Observed Responses | Expected Responses | Residual | Probability |
|--------|--------|-------------|--------------------|--------------------|--------------------|----------|-------------|
| PROBIT | 1 | 2.699 | 25 | 6 | 5.212 | .788 | .208 |
| | 2 | 2.699 | 25 | 10 | 5.212 | 4.788 | .208 |
| | 3 | 2.699 | 25 | 8 | 5.212 | 2.788 | .208 |
| | 4 | 2.699 | 25 | 7 | 5.212 | 1.788 | .208 |
| | 5 | 3.000 | 25 | 12 | 12.515 | -.515 | .501 |
| | 6 | 3.000 | 25 | 9 | 12.515 | -3.515 | .501 |
| | 7 | 3.000 | 25 | 11 | 12.515 | -1.515 | .501 |
| | 8 | 3.000 | 25 | 10 | 12.515 | -2.515 | .501 |
| | 9 | 3.301 | 25 | 14 | 19.810 | -5.810 | .792 |
| | 10 | 3.301 | 25 | 16 | 19.810 | -3.810 | .792 |
| | 11 | 3.301 | 25 | 15 | 19.810 | -4.810 | .792 |
| | 12 | 3.301 | 25 | 14 | 19.810 | -5.810 | .792 |
| | 13 | 3.477 | 25 | 25 | 22.539 | 2.461 | .902 |
| | 14 | 3.477 | 25 | 25 | 22.539 | 2.461 | .902 |
| | 15 | 3.477 | 25 | 25 | 22.539 | 2.461 | .902 |
| | 16 | 3.477 | 25 | 25 | 22.539 | 2.461 | .902 |
| | 17 | 3.602 | 25 | 25 | 23.706 | 1.294 | .948 |
| | 18 | 3.602 | 25 | 25 | 23.706 | 1.294 | .948 |
| | 19 | 3.602 | 25 | 25 | 23.706 | 1.294 | .948 |
| | 20 | 3.602 | 25 | 25 | 23.706 | 1.294 | .948 |

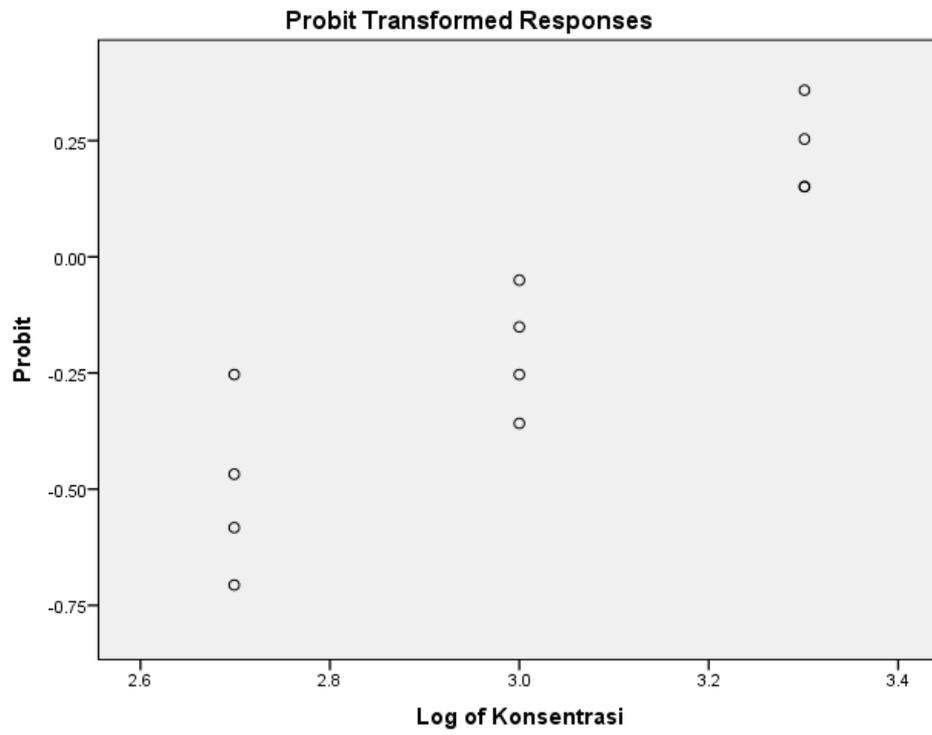
Confidence Limits

| | Probability | 95% Confidence Limits for Konsentrasi | | | 95% Confidence Limits for log(Konsentrasi) ^b | | |
|---------------------|-------------|---------------------------------------|-------------|-------------|---|-------------|-------------|
| | | Estimate | Lower Bound | Upper Bound | Estimate | Lower Bound | Upper Bound |
| PROBIT ^a | .010 | 137.484 | 51.265 | 238.007 | 2.138 | 1.710 | 2.377 |
| | .020 | 173.446 | 71.109 | 285.672 | 2.239 | 1.852 | 2.456 |
| | .030 | 200.998 | 87.481 | 320.881 | 2.303 | 1.942 | 2.506 |
| | .040 | 224.571 | 102.211 | 350.290 | 2.351 | 2.009 | 2.544 |
| | .050 | 245.772 | 115.981 | 376.262 | 2.391 | 2.064 | 2.575 |
| | .060 | 265.386 | 129.133 | 399.942 | 2.424 | 2.111 | 2.602 |
| | .070 | 283.868 | 141.867 | 421.985 | 2.453 | 2.152 | 2.625 |
| | .080 | 301.506 | 154.313 | 442.803 | 2.479 | 2.188 | 2.646 |

| | | | | | | |
|-------------|-----------------|-----------------|-----------------|--------------|--------------|--------------|
| .090 | 318.497 | 166.559 | 462.677 | 2.503 | 2.222 | 2.665 |
| .100 | 334.982 | 178.671 | 481.807 | 2.525 | 2.252 | 2.683 |
| .150 | 412.819 | 238.638 | 570.503 | 2.616 | 2.378 | 2.756 |
| .200 | 487.390 | 299.793 | 653.718 | 2.688 | 2.477 | 2.815 |
| .250 | 562.012 | 363.932 | 736.082 | 2.750 | 2.561 | 2.867 |
| .300 | 638.714 | 432.286 | 820.482 | 2.805 | 2.636 | 2.914 |
| .350 | 719.104 | 505.905 | 909.333 | 2.857 | 2.704 | 2.959 |
| .400 | 804.723 | 585.803 | 1005.129 | 2.906 | 2.768 | 3.002 |
| .450 | 897.250 | 673.020 | 1110.822 | 2.953 | 2.828 | 3.046 |
| .500 | 998.692 | 768.675 | 1230.223 | 2.999 | 2.886 | 3.090 |
| .550 | 1111.602 | 874.048 | 1368.504 | 3.046 | 2.942 | 3.136 |
| .600 | 1239.414 | 990.735 | 1532.930 | 3.093 | 2.996 | 3.186 |
| .650 | 1386.983 | 1121.010 | 1734.009 | 3.142 | 3.050 | 3.239 |
| .700 | 1561.551 | 1268.504 | 1987.565 | 3.194 | 3.103 | 3.298 |
| .750 | 1774.667 | 1439.495 | 2318.976 | 3.249 | 3.158 | 3.365 |
| .800 | 2046.381 | 1645.477 | 2772.993 | 3.311 | 3.216 | 3.443 |
| .850 | 2416.033 | 1909.334 | 3440.118 | 3.383 | 3.281 | 3.537 |
| .900 | 2977.432 | 2284.862 | 4546.378 | 3.474 | 3.359 | 3.658 |
| .910 | 3131.540 | 2383.945 | 4867.554 | 3.496 | 3.377 | 3.687 |
| .920 | 3308.011 | 2495.665 | 5243.903 | 3.520 | 3.397 | 3.720 |
| .930 | 3513.551 | 2623.668 | 5693.327 | 3.546 | 3.419 | 3.755 |
| .940 | 3758.239 | 2773.377 | 6243.254 | 3.575 | 3.443 | 3.795 |
| .950 | 4058.173 | 2953.351 | 6938.449 | 3.608 | 3.470 | 3.841 |
| .960 | 4441.279 | 3178.239 | 7858.537 | 3.648 | 3.502 | 3.895 |
| .970 | 4962.173 | 3476.229 | 9164.007 | 3.696 | 3.541 | 3.962 |
| .980 | 5750.389 | 3912.812 | 11250.417 | 3.760 | 3.592 | 4.051 |
| .990 | 7254.528 | 4708.048 | 15567.008 | 3.861 | 3.673 | 4.192 |

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.



Lampiran 5. Aktivitas enzim asetilkolinesterase *A. aegypti* antar kelompok perlakuan

| Kelompok Perlakuan | Waktu | Ulangan ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ protein) | | | |
|--|-------|---|------|------|------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 |
| K ₀ | 1 | 0,11 | 0,09 | 0,10 | 0,14 |
| | 4 | 0,08 | 0,14 | 0,08 | 0,09 |
| | 8 | 0,15 | 0,11 | 0,15 | 0,15 |
| K ₁ Transflutrin 2500 ppm | 1 | 0,24 | 0,26 | 0,20 | 0,21 |
| | 4 | 0,27 | 0,24 | 0,29 | 0,23 |
| | 8 | 0,31 | 0,36 | 0,36 | 0,38 |
| P ₁ MORIZENA 500 ppm | 1 | 0,13 | 0,15 | 0,17 | 0,15 |
| | 4 | 0,14 | 0,17 | 0,16 | 0,15 |
| | 8 | 0,18 | 0,16 | 0,16 | 0,17 |
| P ₂ MORIZENA 1000 ppm | 1 | 0,16 | 0,19 | 0,18 | 0,18 |
| | 4 | 0,17 | 0,19 | 0,20 | 0,17 |
| | 8 | 0,18 | 0,20 | 0,21 | 0,18 |
| P ₃ MORIZENA 2000 ppm | 1 | 0,19 | 0,16 | 0,24 | 0,22 |
| | 4 | 0,21 | 0,24 | 0,20 | 0,22 |
| | 8 | 0,25 | 0,22 | 0,24 | 0,20 |
| P ₄ MORIZENA 3000 ppm | 1 | 0,24 | 0,25 | 0,22 | 0,24 |
| | 4 | 0,25 | 0,27 | 0,30 | 0,28 |
| | 8 | 0,34 | 0,32 | 0,36 | 0,34 |
| P ₅ MORIZENA 4000 ppm | 1 | 0,24 | 0,27 | 0,24 | 0,23 |
| | 4 | 0,27 | 0,27 | 0,28 | 0,26 |
| | 8 | 0,35 | 0,34 | 0,36 | 0,36 |

Lampiran 6. One-way Anova aktivitas enzim asetilkolinesterase *A. aegypti* antar kelompok perlakuan

Descriptives

asetilkolin

| | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum | Between-Component Variance |
|-------|----------------|-------|----------------|------------|----------------------------------|-------------|---------|---------|----------------------------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | | |
| 1 | 4 | ,1400 | ,02000 | ,01000 | ,1082 | ,1718 | ,11 | ,15 | |
| 2 | 4 | ,3525 | ,02986 | ,01493 | ,3050 | ,4000 | ,31 | ,38 | |
| 3 | 4 | ,1675 | ,00957 | ,00479 | ,1523 | ,1827 | ,16 | ,18 | |
| 4 | 4 | ,1925 | ,01500 | ,00750 | ,1686 | ,2164 | ,18 | ,21 | |
| 5 | 4 | ,2275 | ,02217 | ,01109 | ,1922 | ,2628 | ,20 | ,25 | |
| 6 | 4 | ,3400 | ,01633 | ,00816 | ,3140 | ,3660 | ,32 | ,36 | |
| 7 | 4 | ,3525 | ,00957 | ,00479 | ,3373 | ,3677 | ,34 | ,36 | |
| Total | 28 | ,2532 | ,08911 | ,01684 | ,2187 | ,2878 | ,11 | ,38 | |
| Model | Fixed Effects | | ,01874 | ,00354 | ,2458 | ,2606 | | | |
| | Random Effects | | | ,03510 | ,1673 | ,3391 | | | ,00854 |

Test of Homogeneity of Variances

asetilkolin

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| 1,152 | 6 | 21 | ,368 |

ANOVA

asetilkolin

| | | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|----------------|----------------------|----------------|----|-------------|---------|------|
| Between Groups | (Combined) | ,207 | 6 | ,035 | 98,254 | ,000 |
| | Linear Term Contrast | ,065 | 1 | ,065 | 183,969 | ,000 |
| | Deviation | ,142 | 5 | ,028 | 81,111 | ,000 |
| Within Groups | | ,007 | 21 | ,000 | | |
| Total | | ,214 | 27 | | | |

Lampiran 7. Uji beda nyata terkecil aktivitas enzim asetilkolinesterase *A. aegypti* antar kelompok perlakuan

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: asetilkolin

LSD

| (I) kelompok | (J) kelompok | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. | 95% Confidence Interval | |
|--------------|--------------|--------------------------|------------|-------|-------------------------|-------------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound |
| 1 | 2 | -,21250* | ,01325 | ,000 | -,2401 | -,1849 |
| | 3 | -,02750 | ,01325 | ,050 | -,0551 | ,0001 |
| | 4 | -,05250* | ,01325 | ,001 | -,0801 | -,0249 |
| | 5 | -,08750* | ,01325 | ,000 | -,1151 | -,0599 |
| | 6 | -,20000* | ,01325 | ,000 | -,2276 | -,1724 |
| | 7 | -,21250* | ,01325 | ,000 | -,2401 | -,1849 |
| 2 | 1 | ,21250* | ,01325 | ,000 | ,1849 | ,2401 |
| | 3 | ,18500* | ,01325 | ,000 | ,1574 | ,2126 |
| | 4 | ,16000* | ,01325 | ,000 | ,1324 | ,1876 |
| | 5 | ,12500* | ,01325 | ,000 | ,0974 | ,1526 |
| | 6 | ,01250 | ,01325 | ,356 | -,0151 | ,0401 |
| | 7 | ,00000 | ,01325 | 1,000 | -,0276 | ,0276 |
| 3 | 1 | ,02750 | ,01325 | ,050 | -,0001 | ,0551 |
| | 2 | -,18500* | ,01325 | ,000 | -,2126 | -,1574 |
| | 4 | -,02500 | ,01325 | ,073 | -,0526 | ,0026 |
| | 5 | -,06000* | ,01325 | ,000 | -,0876 | -,0324 |
| | 6 | -,17250* | ,01325 | ,000 | -,2001 | -,1449 |
| | 7 | -,18500* | ,01325 | ,000 | -,2126 | -,1574 |
| 4 | 1 | ,05250* | ,01325 | ,001 | ,0249 | ,0801 |
| | 2 | -,16000* | ,01325 | ,000 | -,1876 | -,1324 |
| | 3 | ,02500 | ,01325 | ,073 | -,0026 | ,0526 |
| | 5 | -,03500* | ,01325 | ,015 | -,0626 | -,0074 |
| | 6 | -,14750* | ,01325 | ,000 | -,1751 | -,1199 |
| | 7 | -,16000* | ,01325 | ,000 | -,1876 | -,1324 |
| 5 | 1 | ,08750* | ,01325 | ,000 | ,0599 | ,1151 |
| | 2 | -,12500* | ,01325 | ,000 | -,1526 | -,0974 |
| | 3 | ,06000* | ,01325 | ,000 | ,0324 | ,0876 |
| | 4 | ,03500* | ,01325 | ,015 | ,0074 | ,0626 |
| | 6 | -,11250* | ,01325 | ,000 | -,1401 | -,0849 |
| | 7 | -,12500* | ,01325 | ,000 | -,1526 | -,0974 |

| | | | | | | |
|---|---|---------|---------|--------|--------|-------|
| 6 | 1 | ,20000* | ,01325 | ,000 | ,1724 | ,2276 |
| | 2 | -,01250 | ,01325 | ,356 | -,0401 | ,0151 |
| | 3 | ,17250* | ,01325 | ,000 | ,1449 | ,2001 |
| | 4 | ,14750* | ,01325 | ,000 | ,1199 | ,1751 |
| | 5 | ,11250* | ,01325 | ,000 | ,0849 | ,1401 |
| | 7 | -,01250 | ,01325 | ,356 | -,0401 | ,0151 |
| | 7 | 1 | ,21250* | ,01325 | ,000 | ,1849 |
| 2 | | ,00000 | ,01325 | 1,000 | -,0276 | ,0276 |
| 3 | | ,18500* | ,01325 | ,000 | ,1574 | ,2126 |
| 4 | | ,16000* | ,01325 | ,000 | ,1324 | ,1876 |
| 5 | | ,12500* | ,01325 | ,000 | ,0974 | ,1526 |
| 6 | | ,01250 | ,01325 | ,356 | -,0151 | ,0401 |

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Lampiran 8. Data berat badan mencit antar kelompok perlakuan

| Kelompok | Ulangan | Rerata berat badan awal (g) | Rerata berat badan akhir (g) | Perbedaan berat badan | % perubahan berat badan |
|--|----------------|------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------|--------------------------------|
| K ₀ | 1 | 20 | 29 | 9,0 | 31,03 |
| | 2 | 18 | 28 | 10,0 | 35,71 |
| | 3 | 21 | 31 | 10,0 | 35,71 |
| | 4 | 20 | 27 | 7,0 | 25,93 |
| | 5 | 20 | 31 | 11,0 | 35,48 |
| Rerata | | 19,8 | 29,2 | 9,4 | 32,772 |
| K ₁ Transflutrin 2500 ppm | 1 | 20 | 27 | 7,0 | 25,93 |
| | 2 | 22 | 30 | 8,0 | 26,67 |
| | 3 | 20 | 26 | 6,0 | 23,08 |
| | 4 | 19 | 28 | 9,0 | 32,14 |
| | 5 | 21 | 28 | 7,0 | 24,78 |
| Rerata | | 20,8 | 27,8 | 7,4 | 26,52 |
| P ₁ MORIZENA 500 ppm | 1 | 19 | 30 | 11,0 | 36,67 |
| | 2 | 20 | 31 | 11,0 | 35,48 |
| | 3 | 20 | 30 | 10,0 | 33,33 |
| | 4 | 18 | 28 | 10,0 | 35,71 |
| | 5 | 21 | 30 | 9,0 | 30,00 |
| Rerata | | 19,6 | 29,8 | 10,2 | 34,238 |
| P ₂ MORIZENA 1000 ppm | 1 | 22 | 32 | 10,0 | 31,25 |
| | 2 | 20 | 31 | 11,0 | 35,48 |
| | 3 | 22 | 32 | 10,0 | 31,25 |
| | 4 | 19 | 29 | 10,0 | 34,48 |
| | 5 | 22 | 30 | 8,0 | 26,67 |
| Rerata | | 21,0 | 30,8 | 9,8 | 31,826 |
| P ₃ MORIZENA 2000 ppm | 1 | 20 | 31 | 11,0 | 35,48 |
| | 2 | 19 | 26 | 7,0 | 26,92 |
| | 3 | 21 | 29 | 8,0 | 27,59 |
| | 4 | 20 | 28 | 8,0 | 28,57 |
| | 5 | 20 | 30 | 10,0 | 33,33 |
| Rerata | | 20,0 | 28,8 | 8,8 | 30,378 |
| P ₄ MORIZENA 3000 ppm | 1 | 20 | 28 | 8,0 | 28,57 |
| | 2 | 22 | 32 | 10,0 | 31,25 |
| | 3 | 20 | 28 | 8,0 | 28,57 |
| | 4 | 20 | 30 | 10,0 | 33,33 |
| | 5 | 19 | 30 | 11,0 | 36,67 |
| Rerata | | 20,2 | 29,6 | 9,4 | 31,678 |
| P ₅ MORIZENA 4000 ppm | 1 | 22 | 31 | 9,0 | 29,03 |
| | 2 | 23 | 31 | 8,0 | 25,81 |
| | 3 | 20 | 30 | 10,0 | 33,33 |
| | 4 | 22 | 30 | 8,0 | 26,67 |
| | 5 | 19 | 29 | 10,0 | 34,48 |
| Rerata | | 21,2 | 30,2 | 9,0 | 29,864 |

Lampiran 9. One-way Anova berat badan mencit antar kelompok perlakuan

Descriptives

badan

| | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum | Between-Component Variance |
|-------|----------------|-------|----------------|------------|----------------------------------|-------------|---------|---------|----------------------------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | | |
| | | | | | 1 | 5 | | | |
| 2 | 5 | 27,80 | 1,483 | ,663 | 25,96 | 29,64 | 26 | 30 | |
| 3 | 5 | 29,80 | 1,095 | ,490 | 28,44 | 31,16 | 28 | 31 | |
| 4 | 5 | 30,80 | 1,304 | ,583 | 29,18 | 32,42 | 29 | 32 | |
| 5 | 5 | 28,80 | 1,924 | ,860 | 26,41 | 31,19 | 26 | 31 | |
| 6 | 5 | 29,60 | 1,673 | ,748 | 27,52 | 31,68 | 28 | 32 | |
| 7 | 5 | 30,20 | ,837 | ,374 | 29,16 | 31,24 | 29 | 31 | |
| Total | 35 | 29,46 | 1,633 | ,276 | 28,90 | 30,02 | 26 | 32 | |
| Model | Fixed Effects | | 1,488 | ,252 | 28,94 | 29,97 | | | |
| | Random Effects | | | ,370 | 28,55 | 30,36 | | | ,513 |

Test of Homogeneity of Variances

badan

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| ,828 | 6 | 28 | ,558 |

ANOVA

badan

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---------------------------|----------------|----|-------------|-------|------|
| Between Groups (Combined) | 28,686 | 6 | 4,781 | 2,159 | ,078 |
| Linear Term Contrast | 5,600 | 1 | 5,600 | 2,529 | ,123 |
| Deviation | 23,086 | 5 | 4,617 | 2,085 | ,097 |
| Within Groups | 62,000 | 28 | 2,214 | | |
| Total | 90,686 | 34 | | | |

Lampiran 10. Rerata skor derajat kerusakan jaringan trakea mencit antar kelompok perlakuan

| Kelompok | Ulangan | Lapangan pandang | | | Rerata |
|--|---------|------------------|---|---|--------|
| | | 1 | 2 | 3 | |
| K ₀ Kontrol | 1 | 1 | 1 | 1 | 1,00 |
| | 2 | 1 | 1 | 1 | 1,00 |
| | 3 | 1 | 1 | 1 | 1,00 |
| | 4 | 1 | 1 | 1 | 1,00 |
| | 5 | 1 | 1 | 1 | 1,00 |
| K ₁ Transflutrin 2500 ppm | 1 | 2 | 2 | 4 | 2,67 |
| | 2 | 2 | 3 | 2 | 2,33 |
| | 3 | 3 | 4 | 2 | 3,00 |
| | 4 | 4 | 2 | 2 | 2,67 |
| | 5 | 3 | 3 | 3 | 3,00 |
| P ₁ MORIZENA 500 ppm | 1 | 1 | 1 | 1 | 1,00 |
| | 2 | 1 | 1 | 1 | 1,00 |
| | 3 | 1 | 1 | 1 | 1,00 |
| | 4 | 1 | 1 | 1 | 1,00 |
| | 5 | 1 | 1 | 1 | 1,00 |
| P ₂ MORIZENA 1000 ppm | 1 | 1 | 1 | 1 | 1,00 |
| | 2 | 1 | 1 | 1 | 1,00 |
| | 3 | 1 | 1 | 1 | 1,00 |
| | 4 | 1 | 1 | 1 | 1,00 |
| | 5 | 1 | 1 | 1 | 1,00 |
| P ₃ MORIZENA 2000 ppm | 1 | 1 | 2 | 1 | 1,33 |
| | 2 | 1 | 1 | 2 | 1,33 |
| | 3 | 1 | 1 | 1 | 1,00 |
| | 4 | 2 | 1 | 1 | 1,33 |
| | 5 | 1 | 1 | 2 | 1,33 |
| P ₄ MORIZENA 3000 ppm | 1 | 2 | 1 | 1 | 1,33 |
| | 2 | 2 | 2 | 1 | 1,67 |
| | 3 | 2 | 2 | 2 | 2,00 |
| | 4 | 1 | 3 | 1 | 1,67 |
| | 5 | 1 | 1 | 2 | 1,67 |
| P ₅ MORIZENA 4000 ppm | 1 | 2 | 3 | 1 | 2,00 |
| | 2 | 1 | 1 | 3 | 1,67 |
| | 3 | 2 | 1 | 2 | 1,67 |
| | 4 | 3 | 3 | 1 | 2,33 |
| | 5 | 3 | 2 | 2 | 2,33 |

Keterangan

- Skor 1 : epitel berlapis semu silindris, bersilia, jumlah sel goblet normal, tidak ada lipatan mukosa
 Skor 2 : epitel berlapis semu silindris, silia mereduksi, jumlah sel goblet meningkat, tidak ada lipatan mukosa
 Skor 3 : epitel berlapis semu silindris, silia mereduksi, jumlah sel goblet meningkat, ada lipatan mukosa
 Skor 4 : epitel berlapis pipih, silia mereduksi, jumlah sel goblet meningkat, ada lipatan mukosa

Lampiran 11. Uji Kruskal-Wallis terhadap derajat kerusakan jaringan trakea mencit antar kelompok perlakuan

NPar Tests

| Descriptive Statistics | | | | | |
|---------------------------|----|--------|----------------|---------|---------|
| | N | Mean | Std. Deviation | Minimum | Maximum |
| Kerusakan jaringan trakea | 35 | 1.5237 | .64338 | 1.00 | 3.00 |
| Kelompok perlakuan | 35 | 4.00 | 2.029 | 1 | 7 |

Kruskal-Wallis Test

| Ranks | | | |
|---------------------------|--------------------|----|-----------|
| | Kelompok perlakuan | N | Mean Rank |
| Kerusakan jaringan trakea | 1 | 5 | 5.50 |
| | 2 | 5 | 13.00 |
| | 3 | 5 | 5.50 |
| | Total | 15 | |

| Test Statistics ^{a,b} | |
|--------------------------------|---------------------------|
| | Kerusakan jaringan trakea |
| Chi-Square | 13.359 |
| df | 2 |
| Asymp. Sig. | .001 |

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Kelompok perlakuan

Hipotesis

H_0 : kerusakan epitel trakea berdasarkan skor adalah sama

H_1 : kerusakan epitel trakea berdasarkan skor adalah berbeda

Berdasarkan hasil statistik deskriptif diketahui bahwa jumlah sampel yang digunakan adalah sebanyak 35. Rata-rata skor adalah 1,5237 dengan standar deviasi 0,64338. Nilai minimum skor adalah 1 dan maksimum adalah 3.

Hasil uji Kruskal Wallis menunjukkan skor. Skoring ini menunjukkan bahwa rata-rata skor 1 sebesar 5,50; skor 2 sebesar 13,00 dan skor 3 sebesar 5,50.

Hasil uji statistik terakhir menunjukkan nilai Chi-square 13,359 dengan Asymp. Sig 0,001. Karena nilai Asymp. Sig < 0,05 maka dapat disimpulkan bahwa H_0 ditolak dan H_1 diterima, ada perbedaan kerusakan trakea berdasarkan skor derajat kerusakan.

Lampiran 12. Data tinggi lapisan epitel trakea mencit antar kelompok perlakuan

| Kelompok | Ulangan | Lapangan pandang (μm) | | | Rerata |
|--|---------|------------------------------------|----|----|--------|
| | | 1 | 2 | 3 | |
| K ₀ | 1 | 44 | 44 | 40 | 42,67 |
| | 2 | 45 | 44 | 42 | 43,67 |
| | 3 | 40 | 44 | 42 | 42,00 |
| | 4 | 45 | 40 | 42 | 42,33 |
| | 5 | 40 | 40 | 42 | 40,67 |
| K ₁ Transflutrin 2500 ppm | 1 | 30 | 34 | 28 | 30,67 |
| | 2 | 28 | 32 | 34 | 31,33 |
| | 3 | 32 | 28 | 30 | 30,00 |
| | 4 | 27 | 31 | 29 | 29,00 |
| | 5 | 30 | 35 | 30 | 31,67 |
| P ₁ MORIZENA 500 ppm | 1 | 42 | 45 | 42 | 43,00 |
| | 2 | 43 | 40 | 43 | 42,00 |
| | 3 | 44 | 46 | 44 | 44,67 |
| | 4 | 40 | 42 | 42 | 41,33 |
| | 5 | 40 | 44 | 42 | 42,00 |
| P ₂ MORIZENA 1000 ppm | 1 | 43 | 40 | 44 | 42,33 |
| | 2 | 42 | 44 | 44 | 43,33 |
| | 3 | 40 | 42 | 40 | 40,67 |
| | 4 | 45 | 40 | 42 | 42,33 |
| | 5 | 44 | 44 | 40 | 42,67 |
| P ₃ MORIZENA 2000 ppm | 1 | 44 | 42 | 42 | 42,67 |
| | 2 | 40 | 45 | 42 | 42,33 |
| | 3 | 46 | 42 | 44 | 44,00 |
| | 4 | 42 | 45 | 45 | 44,00 |
| | 5 | 45 | 40 | 42 | 42,33 |
| P ₄ MORIZENA 3000 ppm | 1 | 42 | 42 | 45 | 43,00 |
| | 2 | 40 | 44 | 44 | 42,67 |
| | 3 | 44 | 40 | 42 | 42,00 |
| | 4 | 45 | 42 | 42 | 43,00 |
| | 5 | 44 | 41 | 40 | 41,67 |
| P ₅ MORIZENA 4000 ppm | 1 | 36 | 36 | 34 | 35,33 |
| | 2 | 36 | 33 | 38 | 35,67 |
| | 3 | 33 | 30 | 35 | 32,67 |
| | 4 | 38 | 36 | 30 | 34,67 |
| | 5 | 30 | 34 | 36 | 33,33 |

Lampiran 13. One-Way Anova tinggi lapisan epitel trakea mencit antar kelompok perlakuan

Descriptives

Tinggi Lapisan Epitel

| | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum | Between-Component Variance |
|-------|----------------|---------|----------------|------------|----------------------------------|-------------|---------|---------|----------------------------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | | |
| 1 | 5 | 42.2680 | 1.09047 | .48767 | 40.9140 | 43.6220 | 40.67 | 43.67 | |
| 2 | 5 | 30.5340 | 1.07015 | .47859 | 29.2052 | 31.8628 | 29.00 | 31.67 | |
| 3 | 5 | 42.6000 | 1.30171 | .58214 | 40.9837 | 44.2163 | 41.33 | 44.67 | |
| 4 | 5 | 42.2660 | .98116 | .43879 | 41.0477 | 43.4843 | 40.67 | 43.33 | |
| 5 | 5 | 43.0660 | .86385 | .38632 | 41.9934 | 44.1386 | 42.33 | 44.00 | |
| 6 | 5 | 42.4680 | .60471 | .27043 | 41.7172 | 43.2188 | 41.67 | 43.00 | |
| 7 | 5 | 34.3340 | 1.29100 | .57735 | 32.7310 | 35.9370 | 32.67 | 35.67 | |
| Total | 35 | 39.6480 | 4.84445 | .81886 | 37.9839 | 41.3121 | 29.00 | 44.67 | |
| Model | Fixed Effects | | 1.05357 | .17809 | 39.2832 | 40.0128 | | | |
| | Random Effects | | | 1.91094 | 34.9721 | 44.3239 | | | 25.33989 |

Test of Homogeneity of Variances

Tinggi Lapisan Epitel

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| .640 | 6 | 28 | .697 |

ANOVA

Tinggi Lapisan Epitel

| | | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|----------------|-------------|----------------|----|-------------|---------|------|
| Between Groups | (Combined) | 766.857 | 6 | 127.809 | 115.143 | .000 |
| | Linear Term | .051 | 1 | .051 | .046 | .833 |
| | Deviation | 766.806 | 5 | 153.361 | 138.162 | .000 |
| Within Groups | | 31.080 | 28 | 1.110 | | |
| Total | | 797.937 | 34 | | | |

Lampiran 14. Uji beda nyata terkecil tinggi lapisan epitel trakea mencit antar kelompok perlakuan

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Tinggi Lapisan Epitel

LSD

| (I) Kelompok Penelitian | (J) Kelompok Penelitian | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. | 95% Confidence Interval | |
|-------------------------|-------------------------|------------------------|------------|------|-------------------------|-------------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound |
| 1 | 2 | 11.73400 [*] | .66634 | .000 | 10.3691 | 13.0989 |
| | 3 | -.33200 | .66634 | .622 | -1.6969 | 1.0329 |
| | 4 | .00200 | .66634 | .998 | -1.3629 | 1.3669 |
| | 5 | -.79800 | .66634 | .241 | -2.1629 | .5669 |
| | 6 | -.20000 | .66634 | .766 | -1.5649 | 1.1649 |
| | 7 | 7.93400 [*] | .66634 | .000 | 6.5691 | 9.2989 |
| 2 | 1 | -11.73400 [*] | .66634 | .000 | -13.0989 | -10.3691 |
| | 3 | -12.06600 [*] | .66634 | .000 | -13.4309 | -10.7011 |
| | 4 | -11.73200 [*] | .66634 | .000 | -13.0969 | -10.3671 |
| | 5 | -12.53200 [*] | .66634 | .000 | -13.8969 | -11.1671 |
| | 6 | -11.93400 [*] | .66634 | .000 | -13.2989 | -10.5691 |
| | 7 | -3.80000 [*] | .66634 | .000 | -5.1649 | -2.4351 |
| 3 | 1 | .33200 | .66634 | .622 | -1.0329 | 1.6969 |
| | 2 | 12.06600 [*] | .66634 | .000 | 10.7011 | 13.4309 |
| | 4 | .33400 | .66634 | .620 | -1.0309 | 1.6989 |
| | 5 | -.46600 | .66634 | .490 | -1.8309 | .8989 |
| | 6 | .13200 | .66634 | .844 | -1.2329 | 1.4969 |
| | 7 | 8.26600 [*] | .66634 | .000 | 6.9011 | 9.6309 |
| 4 | 1 | -.00200 | .66634 | .998 | -1.3669 | 1.3629 |
| | 2 | 11.73200 [*] | .66634 | .000 | 10.3671 | 13.0969 |
| | 3 | -.33400 | .66634 | .620 | -1.6989 | 1.0309 |
| | 5 | -.80000 | .66634 | .240 | -2.1649 | .5649 |
| | 6 | -.20200 | .66634 | .764 | -1.5669 | 1.1629 |
| | 7 | 7.93200 [*] | .66634 | .000 | 6.5671 | 9.2969 |
| 5 | 1 | .79800 | .66634 | .241 | -.5669 | 2.1629 |
| | 2 | 12.53200 [*] | .66634 | .000 | 11.1671 | 13.8969 |
| | 3 | .46600 | .66634 | .490 | -.8989 | 1.8309 |
| | 4 | .80000 | .66634 | .240 | -.5649 | 2.1649 |

| | | | | | | |
|---|---|-----------|-----------|--------|----------|---------|
| | 6 | .59800 | .66634 | .377 | -.7669 | 1.9629 |
| | 7 | 8.73200* | .66634 | .000 | 7.3671 | 10.0969 |
| 6 | 1 | .20000 | .66634 | .766 | -1.1649 | 1.5649 |
| | 2 | 11.93400* | .66634 | .000 | 10.5691 | 13.2989 |
| | 3 | -.13200 | .66634 | .844 | -1.4969 | 1.2329 |
| | 4 | .20200 | .66634 | .764 | -1.1629 | 1.5669 |
| | 5 | -.59800 | .66634 | .377 | -1.9629 | .7669 |
| | 7 | 8.13400* | .66634 | .000 | 6.7691 | 9.4989 |
| | 7 | 1 | -7.93400* | .66634 | .000 | -9.2989 |
| 2 | | 3.80000* | .66634 | .000 | 2.4351 | 5.1649 |
| 3 | | -8.26600* | .66634 | .000 | -9.6309 | -6.9011 |
| 4 | | -7.93200* | .66634 | .000 | -9.2969 | -6.5671 |
| 5 | | -8.73200* | .66634 | .000 | -10.0969 | -7.3671 |
| 6 | | -8.13400* | .66634 | .000 | -9.4989 | -6.7691 |

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Lampiran 15. Data diameter trakea mencit antar kelompok perlakuan

| Kelompok | Ulangan | Lapangan pandang (μm) | | | Rerata |
|--|---------|------------------------------------|------|------|---------|
| | | 1 | 2 | 3 | |
| K ₀ | 1 | 1024 | 1019 | 1022 | 1021,67 |
| | 2 | 1020 | 1028 | 1025 | 1024,33 |
| | 3 | 1030 | 1025 | 1028 | 1027,67 |
| | 4 | 1025 | 1028 | 1024 | 1025,67 |
| | 5 | 1022 | 1028 | 1025 | 1025,00 |
| K ₁ Transflutrin 2500 ppm | 1 | 957 | 965 | 975 | 965,67 |
| | 2 | 965 | 982 | 991 | 979,33 |
| | 3 | 955 | 966 | 940 | 953,67 |
| | 4 | 958 | 965 | 984 | 969,00 |
| | 5 | 985 | 965 | 978 | 976,00 |
| P ₁ MORIZENA 500 ppm | 1 | 1024 | 1025 | 1021 | 1023,33 |
| | 2 | 1021 | 1017 | 1025 | 1021,00 |
| | 3 | 1026 | 1021 | 1028 | 1025,00 |
| | 4 | 1025 | 1027 | 1020 | 1024,00 |
| | 5 | 1027 | 1022 | 1025 | 1024,67 |
| P ₂ MORIZENA 1000 ppm | 1 | 1025 | 1018 | 1020 | 1021,00 |
| | 2 | 1020 | 1025 | 1022 | 1022,33 |
| | 3 | 1027 | 1024 | 1021 | 1024,33 |
| | 4 | 1020 | 1026 | 1022 | 1022,67 |
| | 5 | 1021 | 1024 | 1027 | 1024,00 |
| P ₃ MORIZENA 2000 ppm | 1 | 1025 | 1020 | 1017 | 1020,67 |
| | 2 | 1018 | 1020 | 1025 | 1021,00 |
| | 3 | 1025 | 1027 | 1017 | 1023,00 |
| | 4 | 1018 | 1026 | 1023 | 1022,33 |
| | 5 | 1027 | 1017 | 1020 | 1021,33 |
| P ₄ MORIZENA 3000 ppm | 1 | 1019 | 1015 | 1022 | 1018,67 |
| | 2 | 1025 | 1019 | 1015 | 1019,67 |
| | 3 | 1015 | 1025 | 1021 | 1020,33 |
| | 4 | 1017 | 1022 | 1025 | 1021,33 |
| | 5 | 1021 | 1019 | 1026 | 1022,00 |
| P ₅ MORIZENA 4000 ppm | 1 | 990 | 1010 | 1015 | 1005,00 |
| | 2 | 998 | 1015 | 1010 | 1007,67 |
| | 3 | 1007 | 1013 | 1018 | 1012,67 |
| | 4 | 1015 | 1021 | 1005 | 1013,67 |
| | 5 | 1018 | 1007 | 1021 | 1015,33 |

Lampiran 16. One-Way Anova diameter trakea mencit antar kelompok perlakuan

Descriptives

Diameter trakea

| | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum | Between-Component Variance |
|-------|----------------|-----------|----------------|------------|----------------------------------|-------------|---------|---------|----------------------------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | | |
| | | | | | 1 | 5 | | | |
| 2 | 5 | 968.7340 | 10.01815 | 4.48025 | 956.2948 | 981.1732 | 953.67 | 979.33 | |
| 3 | 5 | 1023.6000 | 1.58885 | .71056 | 1021.6272 | 1025.5728 | 1021.00 | 1025.00 | |
| 4 | 5 | 1022.8660 | 1.34508 | .60154 | 1021.1959 | 1024.5361 | 1021.00 | 1024.33 | |
| 5 | 5 | 1021.6660 | .97069 | .43410 | 1020.4607 | 1022.8713 | 1020.67 | 1023.00 | |
| 6 | 5 | 1020.4000 | 1.31867 | .58973 | 1018.7627 | 1022.0373 | 1018.67 | 1022.00 | |
| 7 | 5 | 1010.8680 | 4.34938 | 1.94510 | 1005.4675 | 1016.2685 | 1005.00 | 1015.33 | |
| Total | 35 | 1013.2860 | 19.35998 | 3.27243 | 1006.6356 | 1019.9364 | 953.67 | 1027.67 | 403.56541 |
| Model | Fixed Effects | | 4.32686 | .73137 | 1011.7878 | 1014.7842 | | | |
| | Random Effects | | | 7.62805 | 994.6208 | 1031.9512 | | | |

Test of Homogeneity of Variances

Diameter trakea

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| 4.798 | 6 | 28 | .002 |

ANOVA

Diameter trakea

| | | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|----------------|-------------|----------------|----|-------------|---------|------|
| Between Groups | (Combined) | 12219.293 | 6 | 2036.549 | 108.780 | .000 |
| | Linear Term | 630.022 | 1 | 630.022 | 33.652 | .000 |
| | Deviation | 11589.271 | 5 | 2317.854 | 123.805 | .000 |
| Within Groups | | 524.209 | 28 | 18.722 | | |
| Total | | 12743.502 | 34 | | | |

Lampiran 17. Uji beda nyata terkecil diameter trakea mencit antar kelompok perlakuan

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Diameter trakea

LSD

| (I) Kelompok perlakuan | (J) Kelompok perlakuan | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. | 95% Confidence Interval | |
|------------------------|------------------------|-----------------------|------------|------|-------------------------|-------------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound |
| 1 | 2 | 56.13400* | 2.73655 | .000 | 50.5284 | 61.7396 |
| | 3 | 1.26800 | 2.73655 | .647 | -4.3376 | 6.8736 |
| | 4 | 2.00200 | 2.73655 | .471 | -3.6036 | 7.6076 |
| | 5 | 3.20200 | 2.73655 | .252 | -2.4036 | 8.8076 |
| | 6 | 4.46800 | 2.73655 | .114 | -1.1376 | 10.0736 |
| | 7 | 14.00000* | 2.73655 | .000 | 8.3944 | 19.6056 |
| 2 | 1 | -56.13400* | 2.73655 | .000 | -61.7396 | -50.5284 |
| | 3 | -54.86600* | 2.73655 | .000 | -60.4716 | -49.2604 |
| | 4 | -54.13200* | 2.73655 | .000 | -59.7376 | -48.5264 |
| | 5 | -52.93200* | 2.73655 | .000 | -58.5376 | -47.3264 |
| | 6 | -51.66600* | 2.73655 | .000 | -57.2716 | -46.0604 |
| | 7 | -42.13400* | 2.73655 | .000 | -47.7396 | -36.5284 |
| 3 | 1 | -1.26800 | 2.73655 | .647 | -6.8736 | 4.3376 |
| | 2 | 54.86600* | 2.73655 | .000 | 49.2604 | 60.4716 |
| | 4 | .73400 | 2.73655 | .790 | -4.8716 | 6.3396 |
| | 5 | 1.93400 | 2.73655 | .486 | -3.6716 | 7.5396 |
| | 6 | 3.20000 | 2.73655 | .252 | -2.4056 | 8.8056 |
| | 7 | 12.73200* | 2.73655 | .000 | 7.1264 | 18.3376 |
| 4 | 1 | -2.00200 | 2.73655 | .471 | -7.6076 | 3.6036 |
| | 2 | 54.13200* | 2.73655 | .000 | 48.5264 | 59.7376 |
| | 3 | -.73400 | 2.73655 | .790 | -6.3396 | 4.8716 |
| | 5 | 1.20000 | 2.73655 | .664 | -4.4056 | 6.8056 |
| | 6 | 2.46600 | 2.73655 | .375 | -3.1396 | 8.0716 |
| | 7 | 11.99800* | 2.73655 | .000 | 6.3924 | 17.6036 |
| 5 | 1 | -3.20200 | 2.73655 | .252 | -8.8076 | 2.4036 |
| | 2 | 52.93200* | 2.73655 | .000 | 47.3264 | 58.5376 |
| | 3 | -1.93400 | 2.73655 | .486 | -7.5396 | 3.6716 |
| | 4 | -1.20000 | 2.73655 | .664 | -6.8056 | 4.4056 |
| | 6 | 1.26600 | 2.73655 | .647 | -4.3396 | 6.8716 |

| | | | | | | |
|---|---|------------|------------|---------|----------|----------|
| | 7 | 10.79800* | 2.73655 | .000 | 5.1924 | 16.4036 |
| 6 | 1 | -4.46800 | 2.73655 | .114 | -10.0736 | 1.1376 |
| | 2 | 51.66600* | 2.73655 | .000 | 46.0604 | 57.2716 |
| | 3 | -3.20000 | 2.73655 | .252 | -8.8056 | 2.4056 |
| | 4 | -2.46600 | 2.73655 | .375 | -8.0716 | 3.1396 |
| | 5 | -1.26600 | 2.73655 | .647 | -6.8716 | 4.3396 |
| | 7 | 9.53200* | 2.73655 | .002 | 3.9264 | 15.1376 |
| | 7 | 1 | -14.00000* | 2.73655 | .000 | -19.6056 |
| 2 | | 42.13400* | 2.73655 | .000 | 36.5284 | 47.7396 |
| 3 | | -12.73200* | 2.73655 | .000 | -18.3376 | -7.1264 |
| 4 | | -11.99800* | 2.73655 | .000 | -17.6036 | -6.3924 |
| 5 | | -10.79800* | 2.73655 | .000 | -16.4036 | -5.1924 |
| 6 | | -9.53200* | 2.73655 | .002 | -15.1376 | -3.9264 |

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Lampiran 18. Data jumlah sel goblet trakea mencit antar kelompok perlakuan

| Kelompok | n | Lapangan pandang | | | | | Rerata |
|--|---|------------------|-----|-----|-----|-----|--------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | |
| 121K ₀ | 1 | 120 | 125 | 121 | 124 | 124 | 122,8 |
| | 2 | 124 | 122 | 124 | 120 | 120 | 122,0 |
| | 3 | 120 | 124 | 126 | 122 | 124 | 123,2 |
| | 4 | 120 | 119 | 123 | 123 | 120 | 121,0 |
| | 5 | 124 | 123 | 124 | 122 | 126 | 123,8 |
| K ₁ Transflutrin 2500 ppm | 1 | 148 | 143 | 140 | 145 | 141 | 143,4 |
| | 2 | 140 | 141 | 142 | 144 | 142 | 141,8 |
| | 3 | 142 | 142 | 141 | 142 | 140 | 141,4 |
| | 4 | 140 | 143 | 143 | 144 | 140 | 142,0 |
| | 5 | 143 | 144 | 139 | 142 | 140 | 141,6 |
| P ₁ MORIZENA 500 ppm | 1 | 123 | 126 | 119 | 125 | 120 | 122,6 |
| | 2 | 120 | 124 | 124 | 126 | 124 | 123,6 |
| | 3 | 122 | 125 | 125 | 124 | 119 | 123,0 |
| | 4 | 124 | 126 | 120 | 126 | 124 | 124,0 |
| | 5 | 120 | 124 | 120 | 122 | 122 | 121,6 |
| P ₂ MORIZENA 1000 ppm | 1 | 125 | 120 | 128 | 123 | 121 | 123,4 |
| | 2 | 128 | 124 | 126 | 120 | 122 | 124,0 |
| | 3 | 124 | 126 | 125 | 125 | 127 | 125,4 |
| | 4 | 125 | 125 | 128 | 122 | 122 | 124,4 |
| | 5 | 124 | 126 | 126 | 124 | 125 | 125,0 |
| P ₃ MORIZENA 2000 ppm | 1 | 126 | 125 | 124 | 128 | 123 | 125,2 |
| | 2 | 124 | 128 | 126 | 124 | 126 | 125,6 |
| | 3 | 126 | 126 | 128 | 130 | 124 | 126,8 |
| | 4 | 126 | 122 | 124 | 125 | 122 | 123,8 |
| | 5 | 124 | 127 | 124 | 123 | 125 | 124,6 |
| P ₄ MORIZENA 3000 ppm | 1 | 126 | 130 | 130 | 124 | 128 | 127,6 |
| | 2 | 128 | 128 | 124 | 126 | 125 | 126,2 |
| | 3 | 125 | 127 | 125 | 126 | 126 | 125,8 |
| | 4 | 127 | 134 | 125 | 125 | 136 | 129,4 |
| | 5 | 132 | 126 | 130 | 126 | 128 | 128,4 |
| 136P ₅ MORIZENA 4000 ppm | 1 | 142 | 146 | 140 | 138 | 143 | 141,8 |
| | 2 | 136 | 144 | 144 | 140 | 140 | 140,8 |
| | 3 | 144 | 142 | 140 | 146 | 138 | 142,0 |
| | 4 | 143 | 139 | 135 | 140 | 138 | 139,0 |
| | 5 | 146 | 138 | 144 | 138 | 142 | 141,6 |

Lampiran 19. One-Way Anova jumlah sel goblet trakea mencit antar kelompok perlakuan

Descriptives

goblet

| | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum | Between-Component Variance |
|-------|----------------|---------|----------------|------------|----------------------------------|-------------|---------|---------|----------------------------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | | |
| | | | | | 1 | 5 | | | |
| 2 | 5 | 142,040 | ,7925 | ,3544 | 141,056 | 143,024 | 141,4 | 143,4 | |
| 3 | 5 | 122,960 | ,9317 | ,4167 | 121,803 | 124,117 | 121,6 | 124,0 | |
| 4 | 5 | 124,440 | ,7925 | ,3544 | 123,456 | 125,424 | 123,4 | 125,4 | |
| 5 | 5 | 125,200 | 1,1225 | ,5020 | 123,806 | 126,594 | 123,8 | 126,8 | |
| 6 | 5 | 127,480 | 1,5007 | ,6711 | 125,617 | 129,343 | 125,8 | 129,4 | |
| 7 | 5 | 141,040 | 1,2280 | ,5492 | 139,515 | 142,565 | 139,0 | 142,0 | |
| Total | 35 | 129,389 | 8,0084 | 1,3537 | 126,638 | 132,140 | 121,0 | 143,4 | |
| Model | Fixed Effects | | 1,0910 | ,1844 | 129,011 | 129,766 | | | |
| | Random Effects | | | 3,1976 | 121,564 | 137,213 | | | 71,3362 |

Test of Homogeneity of Variances

goblet

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| ,669 | 6 | 28 | ,675 |

ANOVA

goblet

| | | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|----------------|-------------|----------------|----|-------------|---------|------|
| Between Groups | (Combined) | 2147,227 | 6 | 357,871 | 300,660 | ,000 |
| | Linear Term | 145,656 | 1 | 145,656 | 122,371 | ,000 |
| | Deviation | 2001,571 | 5 | 400,314 | 336,318 | ,000 |
| Within Groups | | 33,328 | 28 | 1,190 | | |
| Total | | 2180,555 | 34 | | | |

Lampiran 20. Uji beda nyata terkecil jumlah sel goblet trakea mencit antar kelompok perlakuan

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: goblet

LSD

| (I) kelompok | (J) kelompok | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. | 95% Confidence Interval | |
|--------------|--------------|--------------------------|------------|------|-------------------------|-------------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound |
| 1 | 2 | -19,4800* | ,6900 | ,000 | -20,893 | -18,067 |
| | 3 | -,4000 | ,6900 | ,567 | -1,813 | 1,013 |
| | 4 | -1,8800* | ,6900 | ,011 | -3,293 | -,467 |
| | 5 | -2,6400* | ,6900 | ,001 | -4,053 | -1,227 |
| | 6 | -4,9200* | ,6900 | ,000 | -6,333 | -3,507 |
| | 7 | -18,4800* | ,6900 | ,000 | -19,893 | -17,067 |
| 2 | 1 | 19,4800* | ,6900 | ,000 | 18,067 | 20,893 |
| | 3 | 19,0800* | ,6900 | ,000 | 17,667 | 20,493 |
| | 4 | 17,6000* | ,6900 | ,000 | 16,187 | 19,013 |
| | 5 | 16,8400* | ,6900 | ,000 | 15,427 | 18,253 |
| | 6 | 14,5600* | ,6900 | ,000 | 13,147 | 15,973 |
| | 7 | 1,0000 | ,6900 | ,158 | -,413 | 2,413 |
| 3 | 1 | ,4000 | ,6900 | ,567 | -1,013 | 1,813 |
| | 2 | -19,0800* | ,6900 | ,000 | -20,493 | -17,667 |
| | 4 | -1,4800* | ,6900 | ,041 | -2,893 | -,067 |
| | 5 | -2,2400* | ,6900 | ,003 | -3,653 | -,827 |
| | 6 | -4,5200* | ,6900 | ,000 | -5,933 | -3,107 |
| | 7 | -18,0800* | ,6900 | ,000 | -19,493 | -16,667 |
| 4 | 1 | 1,8800* | ,6900 | ,011 | ,467 | 3,293 |
| | 2 | -17,6000* | ,6900 | ,000 | -19,013 | -16,187 |
| | 3 | 1,4800* | ,6900 | ,041 | ,067 | 2,893 |
| | 5 | -,7600 | ,6900 | ,280 | -2,173 | ,653 |
| | 6 | -3,0400* | ,6900 | ,000 | -4,453 | -1,627 |
| | 7 | -16,6000* | ,6900 | ,000 | -18,013 | -15,187 |
| 5 | 1 | 2,6400* | ,6900 | ,001 | 1,227 | 4,053 |
| | 2 | -16,8400* | ,6900 | ,000 | -18,253 | -15,427 |
| | 3 | 2,2400* | ,6900 | ,003 | ,827 | 3,653 |
| | 4 | ,7600 | ,6900 | ,280 | -,653 | 2,173 |
| | 6 | -2,2800* | ,6900 | ,003 | -3,693 | -,867 |
| | 7 | -15,8400* | ,6900 | ,000 | -17,253 | -14,427 |

| | | | | | | |
|---|---|-----------|----------|-------|---------|---------|
| 6 | 1 | 4,9200* | ,6900 | ,000 | 3,507 | 6,333 |
| | 2 | -14,5600* | ,6900 | ,000 | -15,973 | -13,147 |
| | 3 | 4,5200* | ,6900 | ,000 | 3,107 | 5,933 |
| | 4 | 3,0400* | ,6900 | ,000 | 1,627 | 4,453 |
| | 5 | 2,2800* | ,6900 | ,003 | ,867 | 3,693 |
| | 7 | -13,5600* | ,6900 | ,000 | -14,973 | -12,147 |
| | 7 | 1 | 18,4800* | ,6900 | ,000 | 17,067 |
| 2 | | -1,0000 | ,6900 | ,158 | -2,413 | ,413 |
| 3 | | 18,0800* | ,6900 | ,000 | 16,667 | 19,493 |
| 4 | | 16,6000* | ,6900 | ,000 | 15,187 | 18,013 |
| 5 | | 15,8400* | ,6900 | ,000 | 14,427 | 17,253 |
| 6 | | 13,5600* | ,6900 | ,000 | 12,147 | 14,973 |

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Lampiran 21. Data berat paru-paru mencit antar kelompok perlakuan

| Kelompok | Berat paru (g) | | | | | Rerata (g) |
|----------------|----------------|------|------|------|------|------------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | |
| K ₀ | 0,21 | 0,20 | 0,20 | 0,18 | 0,18 | 0,194 |
| K ₁ | 0,23 | 0,18 | 0,22 | 0,19 | 0,20 | 0,204 |
| P ₁ | 0,20 | 0,19 | 0,20 | 0,20 | 0,21 | 0,200 |
| P ₂ | 0,19 | 0,18 | 0,20 | 0,19 | 0,20 | 0,192 |
| P ₃ | 0,19 | 0,19 | 0,19 | 0,20 | 0,20 | 0,194 |
| P ₄ | 0,20 | 0,21 | 0,19 | 0,19 | 0,21 | 0,200 |
| P ₅ | 0,20 | 0,22 | 0,18 | 0,21 | 0,22 | 0,206 |

Keterangan

- K₀ : kontrol negatif (tanpa perlakuan obat nyamuk bakar)
- K₁ : Transflutrin 2500 ppm)
- P₁ : MORIZENA 500 ppm
- P₂ : MORIZENA 1000 ppm
- P₃ : MORIZENA 2000 ppm
- P₄ : MORIZENA 3000 ppm
- P₅ : MORIZENA 4000 ppm

Lampiran 22. One-way Anova berat paru-paru mencit antar kelompok perlakuan

Descriptives

Berat paru

| | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum | Between-Component Variance |
|-------|----------------|-------|----------------|---------------------|----------------------------------|--------------------|---------|---------|----------------------------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | | |
| | | | | | 1 | 5 | | | |
| 2 | 5 | .2040 | .02074 | .00927 | .1783 | .2297 | .18 | .23 | |
| 3 | 5 | .2000 | .00707 | .00316 | .1912 | .2088 | .19 | .21 | |
| 4 | 5 | .1920 | .00837 | .00374 | .1816 | .2024 | .18 | .20 | |
| 5 | 5 | .1940 | .00548 | .00245 | .1872 | .2008 | .19 | .20 | |
| 6 | 5 | .2000 | .01000 | .00447 | .1876 | .2124 | .19 | .21 | |
| 7 | 5 | .2060 | .01673 | .00748 | .1852 | .2268 | .18 | .22 | |
| Total | 35 | .1986 | .01264 | .00214 | .1942 | .2029 | .18 | .23 | |
| Model | Fixed Effects | | .01276 | .00216 | .1942 | .2030 | | | |
| | Random Effects | | | .00216 ^a | .1933 ^a | .2038 ^a | | | .00000 |

a. Warning: Between-component variance is negative. It was replaced by 0.0 in computing this random effects measure.

Test of Homogeneity of Variances

Berat paru

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| 3.097 | 6 | 28 | .019 |

Oneway

ANOVA

Berat paru

| | | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|----------------|-------------|----------------|----|-------------|------|------|
| Between Groups | (Combined) | .001 | 6 | .000 | .889 | .516 |
| | Linear Term | .000 | 1 | .000 | .531 | .472 |
| | Deviation | .001 | 5 | .000 | .961 | .458 |
| Within Groups | | .005 | 28 | .000 | | |
| Total | | .005 | 34 | | | |

Lampiran 23. Rerata skor derajat kerusakan jaringan paru mencit antar kelompok perlakuan

| Kelompok | Ulangan preparat | Lapangan pandang | | | Rerata |
|--|------------------|------------------|---|---|--------|
| | | 1 | 2 | 3 | |
| K ₀ | 1 | 1 | 1 | 1 | 1,00 |
| | 2 | 1 | 1 | 1 | 1,00 |
| | 3 | 1 | 1 | 1 | 1,00 |
| | 4 | 1 | 1 | 1 | 1,00 |
| | 5 | 1 | 1 | 1 | 1,00 |
| K ₁ Transflutrin 2500 ppm | 1 | 3 | 3 | 1 | 2,33 |
| | 2 | 3 | 2 | 3 | 2,67 |
| | 3 | 3 | 3 | 3 | 3,00 |
| | 4 | 3 | 2 | 2 | 2,33 |
| | 5 | 3 | 3 | 3 | 3,00 |
| P ₁ MORIZENA 500 ppm | 1 | 1 | 1 | 1 | 1,00 |
| | 2 | 1 | 1 | 1 | 1,00 |
| | 3 | 1 | 1 | 1 | 1,00 |
| | 4 | 1 | 1 | 1 | 1,00 |
| | 5 | 1 | 1 | 1 | 1,00 |
| P ₂ MORIZENA 1000 ppm | 1 | 1 | 1 | 1 | 1,00 |
| | 2 | 1 | 1 | 1 | 1,00 |
| | 3 | 1 | 1 | 1 | 1,00 |
| | 4 | 1 | 1 | 1 | 1,00 |
| | 5 | 1 | 1 | 1 | 1,00 |
| P ₃ MORIZENA 2000 ppm | 1 | 1 | 1 | 2 | 1,33 |
| | 2 | 1 | 1 | 1 | 1,00 |
| | 3 | 2 | 1 | 2 | 1,67 |
| | 4 | 1 | 1 | 2 | 1,33 |
| | 5 | 1 | 2 | 1 | 1,33 |
| P ₄ MORIZENA 3000 ppm | 1 | 2 | 1 | 1 | 1,33 |
| | 2 | 2 | 2 | 2 | 2,00 |
| | 3 | 1 | 1 | 2 | 1,33 |
| | 4 | 1 | 2 | 2 | 1,67 |
| | 5 | 2 | 2 | 2 | 2,00 |
| P ₅ MORIZENA 4000 ppm | 1 | 2 | 3 | 2 | 2,33 |
| | 2 | 2 | 2 | 1 | 1,67 |
| | 3 | 3 | 3 | 1 | 2,33 |
| | 4 | 3 | 2 | 2 | 2,33 |
| | 5 | 3 | 3 | 2 | 2,67 |

Keterangan

Skor 1 : membran alveolus utuh, berinti dan lengkap dengan sel-sel endotelium, lumen alveolus membulat, hubungan antar alveolus > 75%, tidak ada penebalan septum interalveolaris

Skor 2 : membran alveolus utuh, berinti dan lengkap dengan sel-sel endotelium, lumen alveolus membulat, hubungan antar alveolus 25% - 75%, ada penebalan septum interalveolaris

Skor 3 : membran alveolus utuh, berinti dan lengkap dengan sel-sel endotelium, lumen alveolus membulat, hubungan antar alveolus < 25%, ada penebalan septum interalveolaris

Lampiran 24. Uji Kruskal-Wallis terhadap derajat kerusakan jaringan paru mencit antar kelompok perlakuan

NPar Tests

| Descriptive Statistics | | | | | | | | |
|----------------------------|----|--------|----------------|---------|---------|-------------|---------------|--------|
| | N | Mean | Std. Deviation | Minimum | Maximum | Percentiles | | |
| | | | | | | 25th | 50th (Median) | 75th |
| Kerusakan membran alveolus | 35 | 1.5614 | .67041 | 1.00 | 3.00 | 1.0000 | 1.3300 | 2.3300 |
| Kelompok perlakuan | 35 | 4.00 | 2.029 | 1 | 7 | 2.00 | 4.00 | 6.00 |

Kruskal-Wallis Test

| Ranks | | | |
|----------------------------|--------------------|----|-----------|
| | Kelompok perlakuan | N | Mean Rank |
| Kerusakan membran alveolus | 1 | 5 | 5.50 |
| | 2 | 5 | 13.00 |
| | 3 | 5 | 5.50 |
| | Total | 15 | |

| Test Statistics ^{a,b} | |
|--------------------------------|----------------------------|
| | Kerusakan membran alveolus |
| Chi-Square | 13.359 |
| df | 2 |
| Asymp. Sig. | .001 |

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Kelompok perlakuan

Hipotesis

H₀ : kerusakan membran alveolus berdasarkan skor adalah sama

H₁ : kerusakan membran alveolus berdasarkan skor adalah berbeda

Berdasarkan hasil statistik deskriptif diketahui bahwa jumlah sampel yang digunakan adalah sebanyak 35. Rata-rata skor adalah 1,5614 dengan standar deviasi 0,67041. Nilai minimum skor adalah 1 dan maksimum adalah 3.

Hasil uji Kruskal Wallis menunjukkan skor. Skoring ini menunjukkan bahwa rata-rata skor 1 sebesar 5,50; skor 2 sebesar 13,00 dan skor 3 sebesar 5,50.

Hasil uji statistik terakhir menunjukkan nilai Chi-square 13,359 dengan Asymp. Sig 0,001. Karena nilai Asymp. Sig < 0,05 maka dapat disimpulkan bahwa H_0 ditolak dan H_1 diterima, ada perbedaan kerusakan membran alveolus berdasarkan skor derajat kerusakan.

Lampiran 25. Data diameter alveolus menciit antar kelompok

| Kelompok | Ulangan preparat | Lapangan pandang (μm) | | | Rerata |
|--|------------------|------------------------------------|----|----|--------|
| | | 1 | 2 | 3 | |
| K ₀ | 1 | 25 | 22 | 24 | 23,67 |
| | 2 | 22 | 24 | 21 | 22,33 |
| | 3 | 24 | 25 | 22 | 23,67 |
| | 4 | 23 | 24 | 21 | 22,67 |
| | 5 | 22 | 24 | 27 | 24,33 |
| K ₁ Transflutrin 2500 ppm | 1 | 32 | 28 | 30 | 30,00 |
| | 2 | 30 | 33 | 36 | 33,00 |
| | 3 | 31 | 34 | 38 | 34,33 |
| | 4 | 35 | 30 | 31 | 32,00 |
| | 5 | 31 | 36 | 37 | 34,67 |
| P ₁ MORIZENA 500 ppm | 1 | 24 | 22 | 26 | 24,00 |
| | 2 | 25 | 20 | 24 | 23,00 |
| | 3 | 22 | 21 | 25 | 22,67 |
| | 4 | 24 | 25 | 22 | 23,67 |
| | 5 | 26 | 22 | 24 | 24,00 |
| P ₂ MORIZENA 1000 ppm | 1 | 22 | 24 | 21 | 22,33 |
| | 2 | 25 | 20 | 26 | 23,67 |
| | 3 | 24 | 24 | 22 | 23,33 |
| | 4 | 25 | 23 | 21 | 23,00 |
| | 5 | 22 | 24 | 21 | 22,33 |
| P ₃ MORIZENA 2000 ppm | 1 | 26 | 22 | 25 | 24,33 |
| | 2 | 24 | 21 | 27 | 24,00 |
| | 3 | 25 | 21 | 24 | 23,33 |
| | 4 | 24 | 25 | 21 | 23,33 |
| | 5 | 24 | 26 | 21 | 23,67 |
| P ₄ MORIZENA 3000 ppm | 1 | 23 | 26 | 22 | 23,67 |
| | 2 | 27 | 24 | 22 | 24,33 |
| | 3 | 24 | 24 | 21 | 23,00 |
| | 4 | 23 | 25 | 26 | 24,67 |
| | 5 | 26 | 24 | 26 | 25,33 |
| P ₅ MORIZENA 4000 ppm | 1 | 35 | 28 | 31 | 31,33 |
| | 2 | 30 | 26 | 29 | 28,33 |
| | 3 | 32 | 27 | 30 | 29,67 |
| | 4 | 35 | 30 | 28 | 31,00 |
| | 5 | 27 | 32 | 36 | 31,67 |

Lampiran 26. One-way Anova diameter alveolus mencit antar kelompok perlakuan

Descriptives

diameter

| | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum | Between-Component Variance |
|-------|----------------|---------|----------------|------------|----------------------------------|-------------|---------|---------|----------------------------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | | |
| | | | | | 1 | 5 | | | |
| 2 | 5 | 32,8000 | 1,89458 | ,84728 | 30,4476 | 35,1524 | 30,00 | 34,67 | |
| 3 | 5 | 23,4680 | ,60471 | ,27043 | 22,7172 | 24,2188 | 22,67 | 24,00 | |
| 4 | 5 | 22,9320 | ,59843 | ,26763 | 22,1889 | 23,6751 | 22,33 | 23,67 | |
| 5 | 5 | 23,7320 | ,43488 | ,19448 | 23,1920 | 24,2720 | 23,33 | 24,33 | |
| 6 | 5 | 24,2000 | ,89939 | ,40222 | 23,0833 | 25,3167 | 23,00 | 25,33 | |
| 7 | 5 | 30,4000 | 1,38344 | ,61869 | 28,6822 | 32,1178 | 28,33 | 31,67 | |
| Total | 35 | 25,8380 | 3,89277 | ,65800 | 24,5008 | 27,1752 | 22,33 | 34,67 | |
| Model | Fixed Effects | | 1,06179 | ,17948 | 25,4704 | 26,2056 | | | |
| | Random Effects | | | 1,51761 | 22,1246 | 29,5514 | | | 15,89641 |

Test of Homogeneity of Variances

diameter

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| 2,947 | 6 | 28 | ,023 |

ANOVA

diameter

| | | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|----------------|-------------|----------------|----|-------------|--------|------|
| Between Groups | (Combined) | 483,657 | 6 | 80,609 | 71,500 | ,000 |
| | Linear Term | 3,244 | 1 | 3,244 | 2,877 | ,101 |
| | Deviation | 480,413 | 5 | 96,083 | 85,224 | ,000 |
| Within Groups | | 31,567 | 28 | 1,127 | | |
| Total | | 515,224 | 34 | | | |

Lampiran 27. Uji beda nyata terkecil diameter alveolus mencit antar kelompok perlakuan

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: diameter

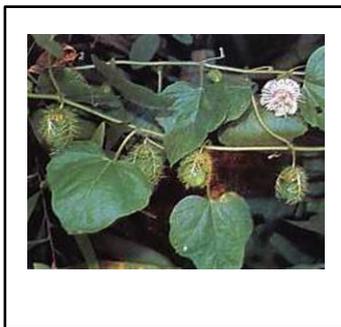
LSD

| (I) kelompok | (J) kelompok | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. | 95% Confidence Interval | |
|--------------|--------------|--------------------------|------------|------|-------------------------|-------------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound |
| 1 | 2 | -9,46600* | ,67154 | ,000 | -10,8416 | -8,0904 |
| | 3 | -,13400 | ,67154 | ,843 | -1,5096 | 1,2416 |
| | 4 | ,40200 | ,67154 | ,554 | -,9736 | 1,7776 |
| | 5 | -,39800 | ,67154 | ,558 | -1,7736 | ,9776 |
| | 6 | -,86600 | ,67154 | ,208 | -2,2416 | ,5096 |
| | 7 | -7,06600* | ,67154 | ,000 | -8,4416 | -5,6904 |
| 2 | 1 | 9,46600* | ,67154 | ,000 | 8,0904 | 10,8416 |
| | 3 | 9,33200* | ,67154 | ,000 | 7,9564 | 10,7076 |
| | 4 | 9,86800* | ,67154 | ,000 | 8,4924 | 11,2436 |
| | 5 | 9,06800* | ,67154 | ,000 | 7,6924 | 10,4436 |
| | 6 | 8,60000* | ,67154 | ,000 | 7,2244 | 9,9756 |
| | 7 | 2,40000* | ,67154 | ,001 | 1,0244 | 3,7756 |
| 3 | 1 | ,13400 | ,67154 | ,843 | -1,2416 | 1,5096 |
| | 2 | -9,33200* | ,67154 | ,000 | -10,7076 | -7,9564 |
| | 4 | ,53600 | ,67154 | ,431 | -,8396 | 1,9116 |
| | 5 | -,26400 | ,67154 | ,697 | -1,6396 | 1,1116 |
| | 6 | -,73200 | ,67154 | ,285 | -2,1076 | ,6436 |
| | 7 | -6,93200* | ,67154 | ,000 | -8,3076 | -5,5564 |
| 4 | 1 | -,40200 | ,67154 | ,554 | -1,7776 | ,9736 |
| | 2 | -9,86800* | ,67154 | ,000 | -11,2436 | -8,4924 |
| | 3 | -,53600 | ,67154 | ,431 | -1,9116 | ,8396 |
| | 5 | -,80000 | ,67154 | ,244 | -2,1756 | ,5756 |
| | 6 | -1,26800 | ,67154 | ,069 | -2,6436 | ,1076 |
| | 7 | -7,46800* | ,67154 | ,000 | -8,8436 | -6,0924 |
| 5 | 1 | ,39800 | ,67154 | ,558 | -,9776 | 1,7736 |
| | 2 | -9,06800* | ,67154 | ,000 | -10,4436 | -7,6924 |
| | 3 | ,26400 | ,67154 | ,697 | -1,1116 | 1,6396 |
| | 4 | ,80000 | ,67154 | ,244 | -,5756 | 2,1756 |
| | 6 | -,46800 | ,67154 | ,492 | -1,8436 | ,9076 |

| | | | | | | |
|---|---|-----------|--------|------|---------|---------|
| | 7 | -6,66800* | ,67154 | ,000 | -8,0436 | -5,2924 |
| 6 | 1 | ,86600 | ,67154 | ,208 | -,5096 | 2,2416 |
| | 2 | -8,60000* | ,67154 | ,000 | -9,9756 | -7,2244 |
| | 3 | ,73200 | ,67154 | ,285 | -,6436 | 2,1076 |
| | 4 | 1,26800 | ,67154 | ,069 | -,1076 | 2,6436 |
| | 5 | ,46800 | ,67154 | ,492 | -,9076 | 1,8436 |
| | 7 | -6,20000* | ,67154 | ,000 | -7,5756 | -4,8244 |
| 7 | 1 | 7,06600* | ,67154 | ,000 | 5,6904 | 8,4416 |
| | 2 | -2,40000* | ,67154 | ,001 | -3,7756 | -1,0244 |
| | 3 | 6,93200* | ,67154 | ,000 | 5,5564 | 8,3076 |
| | 4 | 7,46800* | ,67154 | ,000 | 6,0924 | 8,8436 |
| | 5 | 6,66800* | ,67154 | ,000 | 5,2924 | 8,0436 |
| | 6 | 6,20000* | ,67154 | ,000 | 4,8244 | 7,5756 |

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Lampiran 28. Bentuk *coil* obat nyamuk bakar herbal MORIZENA



Lampiran 29. Cara pembuatan obat nyamuk bakar herbal MORIZENA dengan dosis 500 ppm, 1000 ppm, 2000 ppm, 3000 ppm dan 4000 ppm sebanyak 100 mL

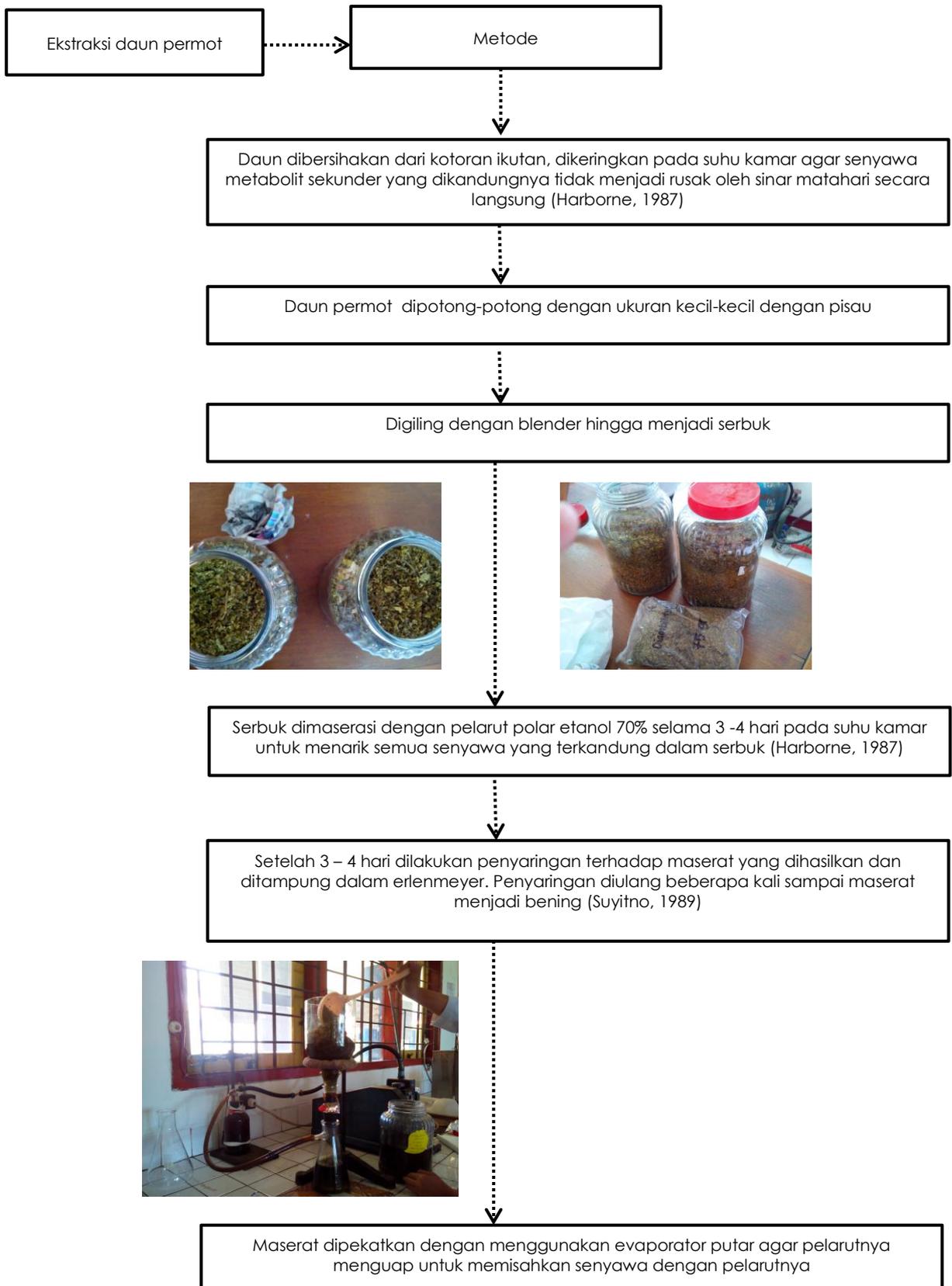
Cara pembuatan konsentrasi obat nyamuk bakar herbal MORIZENA dengan bahan campuran ekstrak daun permot, piretrin bubuk dan minyak atsiri daun-batang sereh. Satuan yang digunakan sebagai konsentrasi campuran ekstrak daun permot, ekstrak biji bunga krisan dan minyak atsiri daun-batang sereh adalah ppm.

$\text{ppm} = \text{mg/liter}$ atau $1 \text{ ppm} = 1 \text{ mg ekstrak/1 L pelarut}$

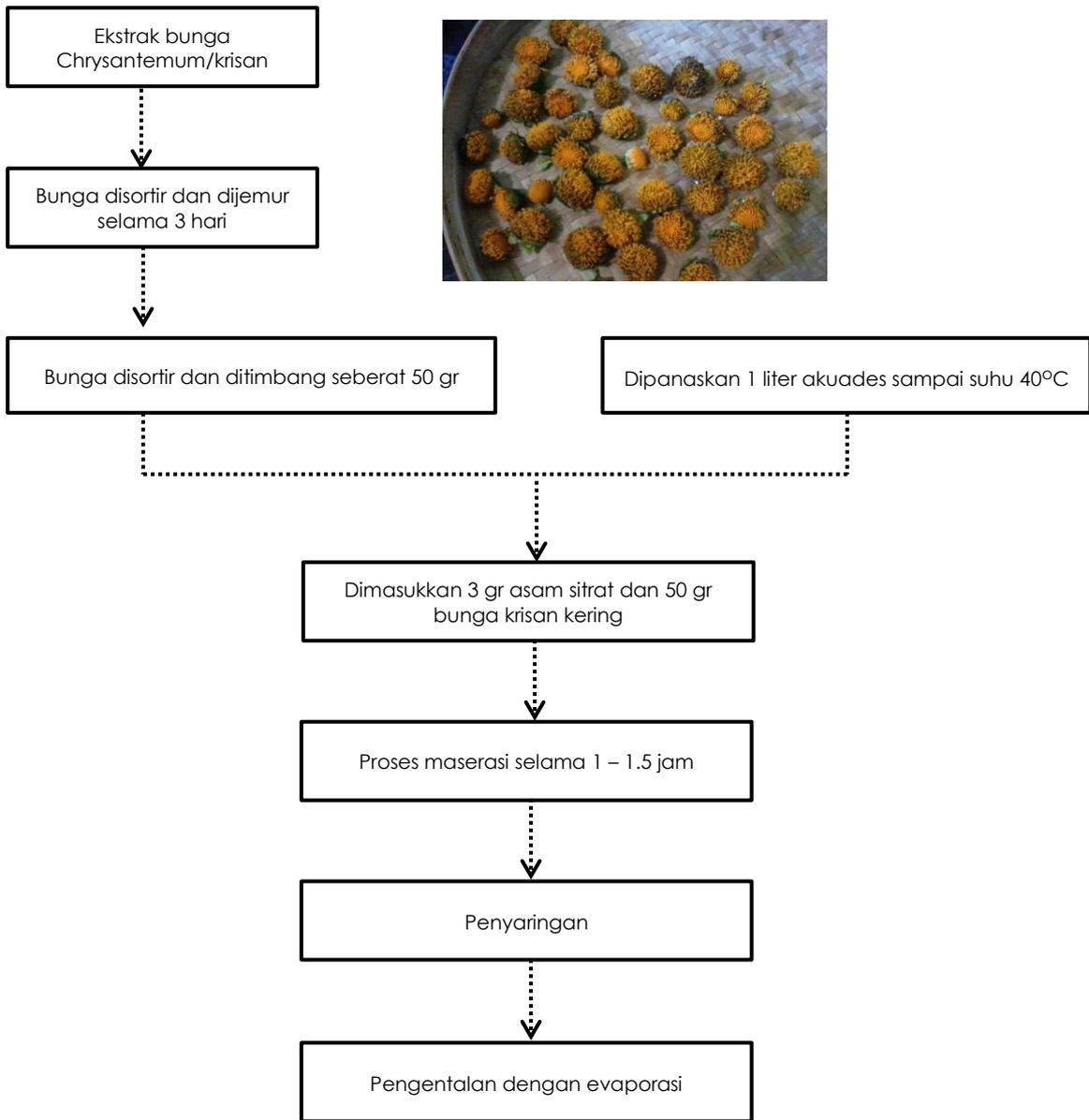
Campuran bahan baku obat nyamuk bakar herbal MORIZENA sebagai berikut :

1. Konsentrasi 500 ppm : mengambil 50 mg campuran ekstrak daun permot (40% = 20 mg), ekstrak biji bunga krisan (40% = 20 mg), minyak atsiri daun-batang sereh (20% = 10 mg) kemudian dilarutkan dengan akuades sampai volume 100 mL + filler.
2. Konsentrasi 1000 ppm : mengambil 100 mg campuran ekstrak daun permot (40% = 40 mg), ekstrak biji bunga krisan (40% = 40 mg), minyak atsiri daun-batang sereh (20% = 20 mg) kemudian dilarutkan dengan akuades sampai volume 100 mL + filler.
3. Konsentrasi 2000 ppm : mengambil 200 mg campuran ekstrak daun permot (40% = 80 mg), ekstrak biji bunga krisan (40% = 80 mg), minyak atsiri daun-batang sereh (20% = 40 mg) kemudian dilarutkan dengan akuades sampai volume 100 mL + filler.
4. Konsentrasi 3000 ppm : mengambil 300 mg campuran ekstrak daun permot (40% = 120 mg), ekstrak biji bunga krisan (40% = 120 mg), minyak atsiri daun-batang sereh (20% = 60 mg) kemudian dilarutkan dengan akuades sampai volume 100 mL + filler.
5. Konsentrasi 4000 ppm : mengambil 400 mg campuran ekstrak daun permot (40% = 160 mg), ekstrak biji bunga krisan (40% = 160 mg), minyak atsiri daun-batang sereh (20% = 80 mg) kemudian dilarutkan dengan akuades sampai volume 100 mL + filler.

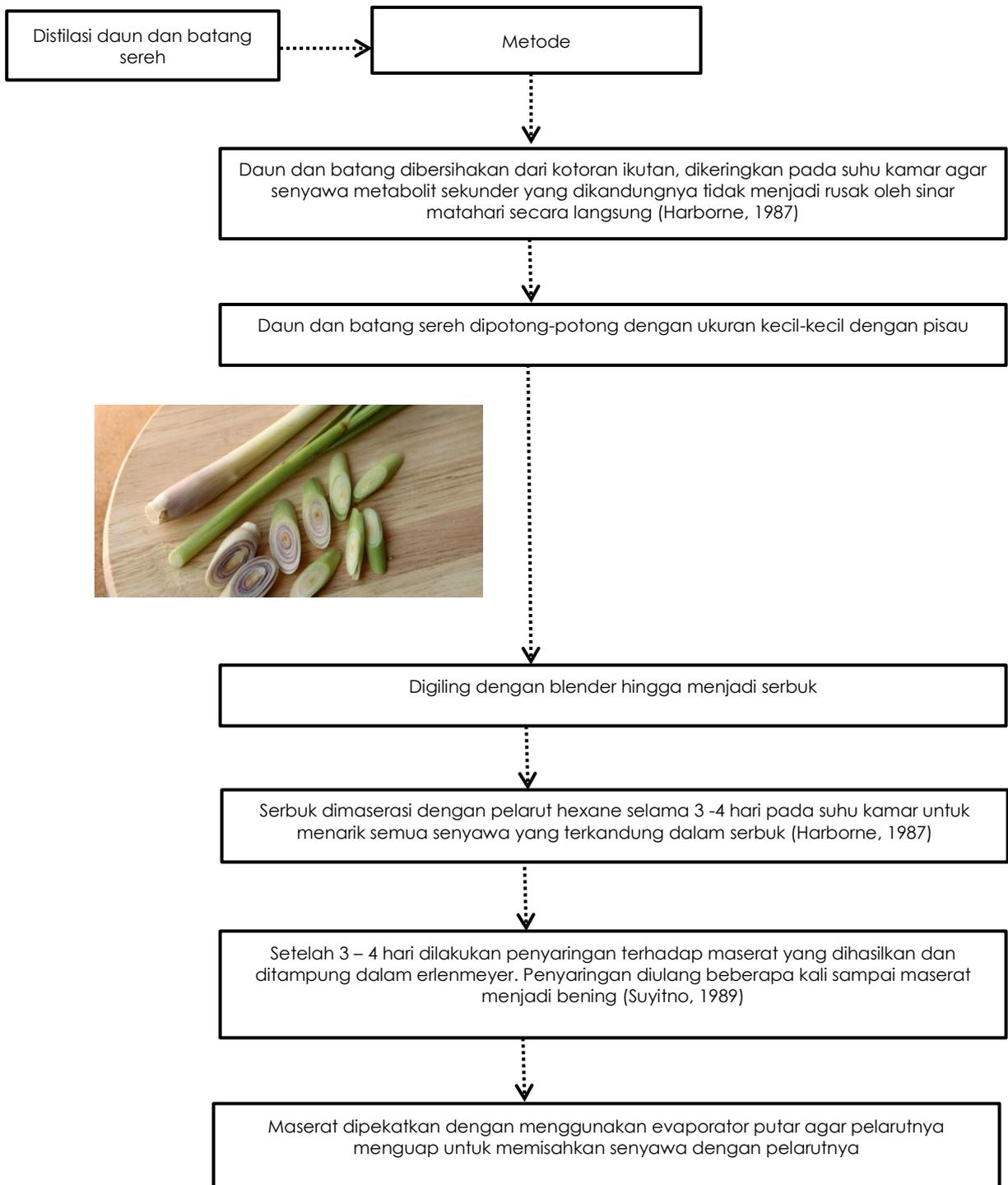
Lampiran 30. Metode ekstraksi daun permot



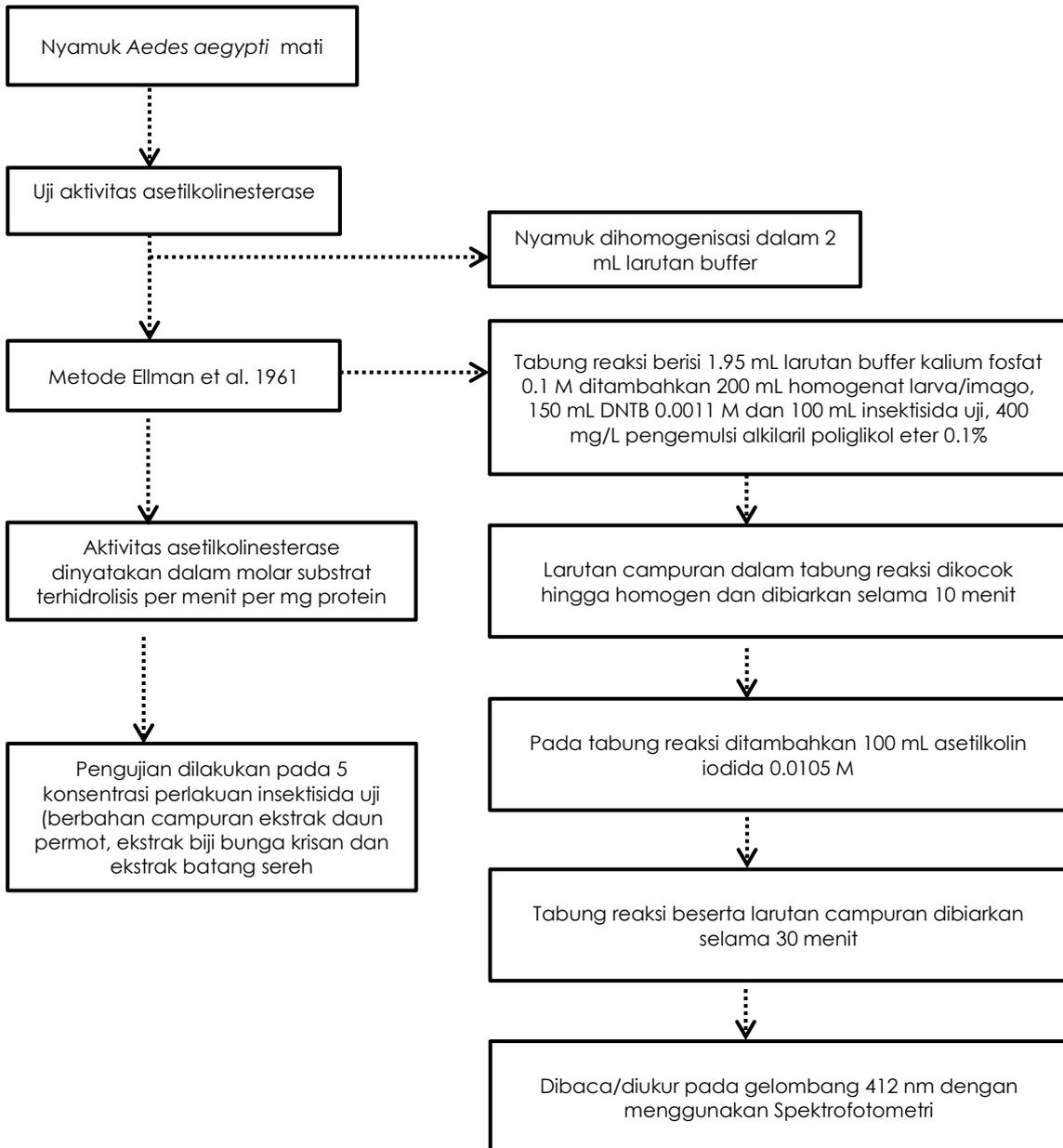
Lampiran 31. Metode ekstraksi biji bunga krisan



Lampiran 32. Metode distilasi uap daun dan batang serih wangi
(Rahmawati dkk. 2010)



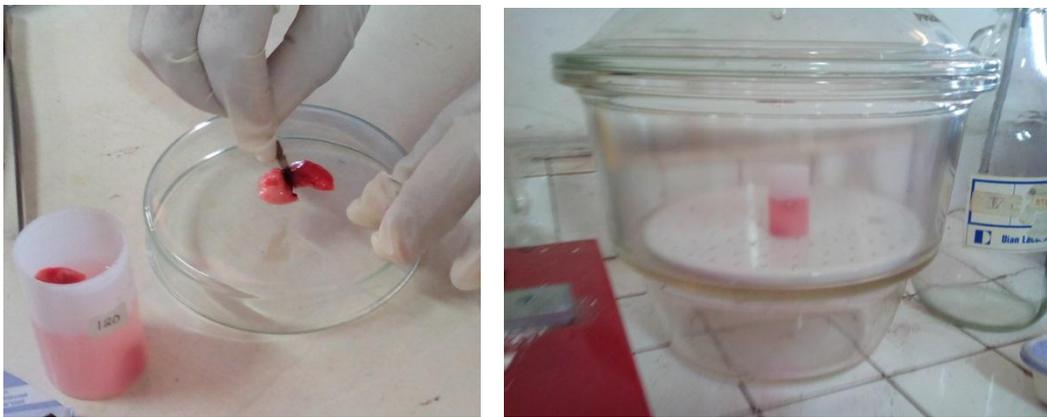
Lampiran 33. Diagram metode uji aktivitas asetilkolinesterase pada nyamuk



Lampiran 34. Tahap-tahap pembuatan preparat irisan metode parafin dimulai dari pemotongan organ trakea dan pulmo sampai dengan pewarnaan (Winarni dkk., 1990)

Tahapan pembuatan preparat sebagai berikut :

1. *Sectio* (pemotongan). Setelah dibius dengan menggunakan injeksi pentobarbital mencit dibedah kemudian diambil trakea dan paru-paru mencit jantan.
2. Fiksasi. Trakea dan paru-paru mencit jantan yang telah diambil difiksasi dalam larutan Buffer formalin. Untuk paru-paru diaerasi selama 24 jam untuk menghilangkan cairan yang tersisa.
3. *Trimming* (pemotongan tipis), jaringan trakea dan paru-paru mencit jantan dipotong setebal ± 4 mm dengan menggunakan pisau skalpel no. 22-24.



Gambar 1. Pemotongan tipis organ paru-paru (kiri), dimasukkan dalam aerator untuk menghilangkan cairan yang masih tersisa di dalam paru-pari (kanan) (dokumentasi pribadi)

4. Dehidrasi. Proses selanjutnya dilakukan supaya molekul air dalam jaringan hilang dan diganti molekul alkohol, dilakukan pergantian dengan alkohol 80% 2 jam, alkohol 95% (I) 2 jam, alkohol 95% (II) 1 jam dan alkohol absolut 3 kali masing-masing 1 jam.
5. **Clearing** (penjernihan/dealkoholisasi). Proses penjernihan jaringan trakea dan paru-paru mencit jantan dimulai dengan membuang larutan dehidran dan diganti dengan *xylol* sebanyak 3 kali masing-masing 1 jam, agar *xylol* mudah diusir oleh parafin.
6. Infiltrasi (penyusupan). Proses infiltrasi dilakukan di dalam oven dengan suhu 55° - 60° C, menggunakan parafin dengan titik cair 56° - 58° C. Potongan trakea dan paru-paru yang telah dimasukkan dalam kaset, selanjutnya dimasukkan

dalam botol jar yang berisi parafin 1 selama 2 jam, parafin 2 selama 2 jam dan parafin 3 selama 2 jam.



Gambar 2. Trakea dan paru-paru yang telah dimasukkan dalam kaset diinfiltrasi dengan menggunakan parafin cair (dokumentasi pribadi)

7. *Embedding* (perendaman/penanaman). Untuk proses perendaman jaringan diperlukan kertas kalender kemudian dibuat kotak-kotak dengan ukuran $2 \times 2 \times 2$ cm³ atau *base mold* untuk menanam jaringan trakea dan paru-paru. Kemudian parafin yang sudah dicairkan dituang dalam kotak-kotak tersebut, lalu potongan trakea dan paru-paru mencit jantan ditanam dalam parafin tersebut dan jaringan diletakkan di dasar parafin, kemudian didinginkan.



Gambar 3. Potongan trakea dan paru-paru direndam dalam kotak yang telah disediakan (dokumentasi pribadi)

8. *Sectioning* (pengirisan). Proses pengirisan dimulai dengan blok-blok parafin dikeluarkan dari cetaknya, dibentuk dan diiris dengan skalpel berbentuk trapesium. Potongan ini kemudian dipasang pada holder yang kemudian dipasang pada mikrotom, lalu dilakukan pengirisan preparat sampai terbentuk pita *coupes*.



Gambar 4. Proses pengirisan potongan trakea dan paru-paru yang telah terendam di dalam parafin dengan menggunakan mikrotom dan ditempel pada gelas obyek (dokumentasi pribadi)

9. *Affixing* (penempelan). Proses penempelan adalah proses dimana *coupes* ditempelkan di atas gelas benda yang sebelumnya telah diolesi dengan albumin Meyer lalu ditetesi akuades secukupnya.
10. Deparafinisasi dan *staining*. Gelas benda yang ditempeli *coupes* direndam dalam xylol (I) selama 5 menit, xylol (II) 5 menit dan xylol (III) 5 menit. Kemudian proses pewarnaan dimulai dengan pencelupan dalam alkohol absolut (I) 5 menit, alkohol absolut (II) 5 menit, akuades 1 menit, lalu dimasukkan dalam *Harris Hematoxyline* kemudian dicelupkan dan dibersihkan dalam akuades 1 menit. Lalu dimasukkan dalam alkohol asam 2-3 celupan. Sediaan lalu dimasukkan dalam akuades (I) 1 menit, akuades (II) 15 menit. Dicelupkan dalam larutan eosin selama 2 menit, alkohol 96% (I) 3 menit, alkohol 96% (II) 3 menit, alkohol absolut (III) 3 menit, alkohol absolut (IV) 3 menit, kemudian dimasukkan xylol (V) 5 menit dan xylol (VI) selama 5 menit.



Gambar 5. Proses deparafinisasi dan pewarnaan dengan menggunakan pewarnaan HE rutin (dokumentasi pribadi)

11. *Mounting* (penutupan). Untuk proses penutupan, *coupes* diambil dari larutan xylol kemudian dibersihkan dengan kertas penghisap, lalu ditetesi dengan *permount* dan ditutup dengan gelas penutup. Selanjutnya sediaan dikeringkan dalam oven.

Lampiran 35. Identifikasi tanaman permut



LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA
(INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES)
PUSAT PENELITIAN BIOLOGI
(RESEARCH CENTER FOR BIOLOGY)



Cibinong Science Center, Jl. Raya Jakarta - Bogor KM. 46 Cibinong 16911
Telp. (+62 21) 87907636 - 87907604, Fax. 87907612
Website: www.biologi.lipi.go.id

Cibinong, 13 Oktober 2015

Nomor : 198/IPH.1.01/If.07/X/2015
Lampiran : -
Perihal : Hasil identifikasi/determinasi Tumbuhan

Kepada Yth.
Bpk./Ibu/Sdr(i). Dra. Rina Priastini M. Kes
Mhs. Univ. Kristen Krida Wacana
Fak. Kedokteran
Jl. Arjuna Utara No.6
Jakarta - 11510

Dengan hormat,

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang Saudara kirimkan ke "Herbarium Bogoriense", Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI Bogor, adalah sebagai berikut :

| No. | No. Kol. | Jenis | Suku |
|-----|----------|------------------------------|----------------|
| 1 | Permut | <i>Passiflora foetida</i> L. | Passifloraceae |

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.

Kepala Bidang Botani
Pusat Penelitian Biologi-LIPI,

Dr. Joeni Setijo Rahajoe
NIP. 196706241993032004

Lampiran 36. Biodata

Nama : Rina Priastini Susilowati, Dra., MKes
NIDN : 0322046701
Tempat Lahir : Surabaya
Tanggal Lahir : 22 April 1967
Jenis Kelamin : Perempuan
Agama : Kristen Protestan
Status Perkawinan : Kawin
Pekerjaan : Kepala Bagian Biologi Kedokteran
Alamat Kantor : Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Krida Wacana
Jalan Arjuna Utara no 6, Jakarta Barat
Alamat Rumah : Jalan Danau Ranau Blok AC 2, no. 82 – 84 Sektor
Katalina Gading Serpong – Tangerang
Kode Pos : 15344
Telepon/HP : (021) 54203178/085921224929
Pendidikan Sarjana (S1) : Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu
Pengetahuan Alam, Universitas Pakuan Bogor
Pendidikan Magister (S2) : Prodi Ilmu Kedokteran Dasar Universitas Airlangga
Surabaya

Mata Kuliah Yang Diampu :

1. Biologi Sel
2. Biologi Molekuler
3. Genetika Dasar
4. Histologi Dasar

Daftar Hasil Penelitian :

1. Efek bahan sterol dalam biji lamtoro gung terhadap kadar testosteron mencit jantan (1999).
2. Pengaruh pemberian infusa akar pasak bumi terhadap gambaran histologis testis dan kadar testosteron darah mencit jantan (2000).
3. Gambaran histologis hepar dan ginjal mencit jantan yang diberi infusa umbi bawang simbak (*Eleutherine palmifolia*) (2000).
4. Efek spermatisida ekstrak biji lamtoro gung terhadap kualitas sperma kelinci in vitro (2000).
5. Uji toksisitas ekstrak daun asam jawa (*Tamarindus indica*) pada hepar dan ginjal mencit jantan (2001).
6. Gambaran struktur histologik hepar dan aktivitas SGPT, SGOT mencit setelah perlakuan ekstrak daging buah trengguli dengan dosis bertingkat (2001).
7. Respon komposisi dosis PMSG dan HCG terhadap folikulogenesis dan superovulasi kelinci (2001).
8. Gambaran histologis hepar mencit jantan setelah pemberian ekstrak buah *Solanum khasianum* dan teh hijau (2002).
9. Efek hepatoprotektor kunir putih (*Curcuma mangga*) terhadap hepar mencit jantan yang diberi mimosin (2002).
10. Uji toksisitas akut ekstrak daging buah trengguli (*Cassia fistula*) pada mencit jantan (2002).

11. Gambaran histologis hepar kelinci betina yang menderita anemia dan pengaruh infusa umbi bawang simbak (2003).
12. Efektivitas tingkat dosis inseminasi buatan dalam macam pengencer semen terhadap daya tunas dan daya tetas telur ayam buras (2003).
13. Efek toksik lamtoro gung (*Leucaena leucocephala*) terhadap organ hati dan ginjal mencit (*Mus musculus*) (2008).
14. *Brine shrimp lethality test* dan uji toksisitas subkronis pada ekstrak biji petai cina (*Leucaena leucocephala*) (2010).
15. Efek penampilan antioksidan mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) dalam pengencer semen terhadap kualitas spermatozoa kelinci (2010).
16. Analisa kualitas semen kelinci Rex yang terpapar oleh ekstrak buah kepel (*Stelechocarpus burahol*) pada pengencer semen (2010).
17. Gambaran histologis paru, hati dan ginjal mencit jantan (*Mus musculus*) yang terpapar bioinsektisida ekstrak kulit jeruk (2011).
18. Efektivitas Ekstrak Daun Permot (*Passiflora foetida*) Terhadap Mortalitas Larva Nyamuk *Aedes aegypti* (2013).
19. Daya Bunuh Obat Nyamuk Bakar Berbahan Ekstrak Daun Permot (*Passiflora foetida*) Terhadap Nyamuk *Aedes aegypti* (2014).
20. Uji toksisitas ekstrak daun permot (*Passiflora foetida*) ditinjau dari nilai LD₅₀ serta fungsi hati dan ginjal mencit (*Mus musculus*) (2014).

Daftar Penulisan Artikel Jurnal Ilmiah :

1. Uji toksisitas ekstrak daun asam jawa (*Tamarindus indica*) pada hepar dan ginjal mencit jantan – Prosiding Seminar Nasional Tumbuhan Obat XIX (2001).
2. Gambaran struktur histologis hepar dan aktivitas SGPT, SGOT mencit setelah perlakuan ekstrak daging buah trengguli dengan dosis bertingkat – Prosiding Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia XX (2001).
3. Efek spermatisida ekstrak biji lamtoro gung terhadap kualitas sperma in vitro – Jurnal Kedokteran Meditek (2001).
4. Efek hepatoprotektor kunir putih (*Curcuma mangga*) terhadap hepar mencit jantan yang diberi mimosin - Prosiding Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia XXI (2002).
5. Efektivitas tingkat dosis inseminasi buatan dalam macam pengencer semen terhadap daya tunas dan daya tetas telur ayam buras - Jurnal Kedokteran Meditek (2003).
6. Uji toksisitas ekstrak daun asam jawa (*Tamarindus indica*) pada hepar dan ginjal mencit jantan - Prosiding Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia XXIV (2004).
7. Manfaat klorofil untuk kesehatan - Jurnal Kedokteran Meditek (2008).
8. The effect of mahogany (*Swietenia macrophylla*) seed extract on histopathology of male mice liver and the level of SGP and SGOT - Proceeding International Conference on Medicinal Plant (2010).
9. Brine shrimp lethality test and subchronic oral toxicity studies on petai cina (*Leucaena leucocephala*) seed extract - Proceeding International Conference on Medicinal Plant (2010).
10. Effect of additional antioxidant of fruit extract of kepel (*Stelechocarpus burahol*) in semen diluent to the quality of rex rabbit's spermatozoa - Proceeding International Conference of Medicinal Plant (2010).

11. Brine shrimp lethality test and subchronic oral toxicity studies on takokak (*Solanum torvum*) fruit extract - Prosiding Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia XXVIII (2011).
12. Gambaran histologis paru, hati dan ginjal mencit jantan (*Mus musculus*) yang terpapar bioinsektisida ekstrak kulit jeruk - Prosiding Seminar Nasional XXI Perhimpunan Biologi Indonesia (2012).
13. Permot leaves extract toxicity test on LD50 value and function of the liver and kidney mice (*Mus musculus*) – Proceeding of The Appliance of Herbal Medicine, Jamu and Other Complementary Alternative Medicine in Indonesia (2014).