BAB I PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

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

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

Upaya mengurangi penggunaan larvasida sintetik sangatlah tepat bila mengoptimalkan penggunaan tumbuhan yang mempunyai kemampuan sebagai larvasida nabati. Hal ini karena Indonesia terkenal kaya akan keanekaragaman hayati, termasuk jenis tumbuhan yang mengandung bahan aktif larvasida. Pemakaian produk alami dari tanaman telah banyak dikembangkan untuk

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

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

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan uraian dalam latar belakang masalah di atas, maka rumusan masalah pada penelitian ini adalah :

- 1. Apakah fraksi nonpolar ekstrak etanol daun inggu mempunyai aktivitas larvasida terhadap kematian larva nyamuk *Anopheles aconitus* dan *Anopheles maculatus* serta berapa konsentrasi fraksi nonpolar yang dapat mematikan 50% larva nyamuk *Anopheles aconitus* dan *Anopheles maculatus*?
- Golongan senyawa apa saja yang terkandung dalam fraksi nonpolar ekstrak etanol daun inggu dengan menggunakan analisis KLT.

C. Tujuan Penelitian

Berdasarkan uraian dalam latar belakang masalah di atas, maka tujuan pada penelitian ini adalah:

- Menentukan aktivitas dan mengukur konsentrasi fraksi nonpolar ekstrak etanol daun inggu yang paling efektif dalam mematikan 50% larva nyamuk Anopheles aconitus dan Anopheles maculatus.
- Menentukan golongan senyawa yang terkandung dalam fraksi nonpolar ekstrak etanol daun inggu dengan menggunakan analisis KLT.

D. Tinjauan Pustaka

1. Tanaman Inggu (Ruta angustifolia L.)

a. Sinonim

Nama lain dari *Ruta angustifolia* L. adalah *Ruta bracteosa* DC., *Ruta graveolens* L. var. Angustifolia Hook., *Ruta Frangiata* (Depkes RI, 2005).

b. Nama daerah

Pohon inggu memiliki beberapa nama daerah antara lain aruda (Sumatera), inggu, godong inggu (Jawa), dan anruda busu (Sulawesi) (Depkes RI, 1989).

c. Klasifikasi

Divisi : Spermatophyta

Sub Divisi : Angiospermae

Kelas : Dicotyledonae

Bangsa : Geraniales

Suku : Rutaceae

Famili : Ruta

Jenis : Ruta angustifolia (L.)

(Pollio *et al.*, 2008)

d. Deskripsi tanaman



Gambar 1. Tanaman Inggu

Makroskopik. Daun majemuk menyirip rangkap ganjil, tidak memanjang, helaian anak daun bentuk lanset, panjang 6-10 cm, lebar 1,5-2,5 cm, pinggir daun agak menggulung, warna hijau kelabu, ibu tulang daun menonjol pada permukaan bawah (Depkes RI, 1989).

e. Kandungan kimia dan efek farmakologis tanaman inggu

Studi fitokimia pada bagian tanaman inggu menunjukkan bahwa herba tersebut mengandung senyawa utama alkaloid, furokumarin dan senyawa-senyawa lain seperti flavonoid, tanin, minyak atsiri, sterol, dan triterpenoid (Gunaydin *et al.*, 2003). Kandungan senyawa-senyawa ini mempunyai efek farmakologi tertentu, seperti alkaloidnya mempunyai efek sebagai anti inflamasi, antihistamin dan spasmolitik. Furanokumarin, bergapten serta xanthotoxin mempunyai efek spasmolitik pada jaringan otot halus. *Ruta angustifolia* L. memiliki efek penghambatan yang signifikan terhadap kolagen dengan menginduksi agregasi platelet dari darah manusia secara in vitro (Zeichen, 2000).

Analisis kromatografi minyak atsiri *Ruta montana* L. (Rutaceae) mengidentifikasi kandungan keton yang terdapat pada tanaman tersebut, berpotensi sebagai larvasida nabati terhadap nyamuk *Culex pipiens* dengan presentase kematian larva 99% setelah 30 menit pengujian (Boutoumi *et al.*, 2009). Pada uji mikrobiologi, ekstrak etil asetat herba inggu dapat menghambat pertumbuhan jamur *Botrytis cinerea*, *Phomopsis* spesies dan *Phomopsis viticola* dengan adanya dua furanokumarin, alkaloid kuinolin, dan alkaloid kuinolon (Alzoreky & Nakahara, 2003). Study toksikologi ekstrak *Ruta graveolens* menunjukkan anti-implantasi pada tikus Albino, menghambat kehamilan sekitar 50%-60%. Sehingga, tanaman ini juga digunakan untuk aborsi kandungan pada manusia (Motjaba, 2009).

2. Anopheles sp.

a. Anopheles aconitus

1). Klasifikasi

Phylum : Arthropoda

Classis : Insecta
Ordo : Diptera
Familia : Culicidae

Sub Familia : Anophellinae

Genus : Anopheles

Spesies : Anopheles aconitus (Djakaria, 2000)

2). Bionomik *Anopheles aconitus*

Anopheles aconitus dominan menggigit di luar rumah, akan tetapi bila pada malam hari tidak ada orang di luar rumah, maka nyamuk akan masuk ke dalam rumah untuk mencari makan. Anopheles aconitus dalam mencari makan lebih bersifat heterogen dan sangat adaptif mencari makan pengganti bila hospes favorit tidak dijumpai (Hiswani, 2004).

b. Anopheles maculatus

1). Klasifikasi

Phylum : Arthropoda

Classis : Insecta
Ordo : Diptera
Familia : Culicidae
Sub Familia : Anophellinae

Genus : Anopheles

Spesies : *Anopheles maculatus* (Djakaria, 2000)

2). Bionomik Anopheles maculatus

Larva ditemukan di daerah pegunungan, di mata air rembesan dan sungai kecil dimana sinar matahari dapat menyinari daerah tersebut.

c. Siklus hidup Anopheles

Siklus hidup nyamuk adalah metamorphosis sempurna (holometabola). Tahapannya adalah telur, larva jentik, pupa, dan imago (dewasa). Nyamuk betina mampu bertelur sampai 100-400 butir telur. Telur tersebut akan diletakkan di dekat permukaan air. Kemudian telur akan menetas menjadi larva setelah tujuh hari. Larva terletak di air dan mengalami empat masa pertumbuhan (stadium) yaitu : stadium 1 (\pm 1 hari), stadium II (\pm 1-2 hari), stadium III (\pm 2 hari), dan stadium IV (\pm 2-3 hari). Larva akan bergerak aktif ke atas dan ke bawah jika air terguncang.

Fase selanjutnya adalah pupa, bentuknya bengkok dan kepala besar. Pupa tidak membutuhkan makanan, namun memerlukan udara. Fase pupa membutuhkan waktu 2-5 hari. Pupa terdapat di air, tidak memerlukan makanan tetapi memerlukan udara. Pupa menetas menjadi nyamuk yang dapat terbang dan ke luar dari air. Nyamuk *Anopheles* dewasa bentuk badannya lebih besar jika di bandingkan dengan ukuran nyamuk lain, mempunyai urat sayap bersisik, mempunyai prombosis panjang, mempunyai sirip penutup tubuh, sisik pada pinggir sayap berubah menjadi jumbai, dan sayap terdiri dari 6 urat sayap, yaitu urat sayap 2, 4 dan 5 bercabang (Hiswani, 2004).

3. Ekstraksi Simplisia

Maserasi dilakukan dengan merendam serbuk simplisia dengan penyari. Mekanismenya, disaat cairan penyari menembus dinding sel dan masuk dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, maka zat aktif dalam simplisia tersebut akan ikut larut dalam larutan penyari (Depkes RI, 1979). Farmakope Indonesia menetapkan bahwa sebagai cairan penyari adalah air, etanol, etanol-air atau eter. Etanol dipertimbangkan sebagai penyari karena lebih selektif, kapang dan kuman sulit tumbuh dalam etanol 20 % keatas, tidak beracun, netral, absorbsinya baik, etanol dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan dan panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit (Depkes RI, 1989).

Rendaman maserasi disimpan dalam ruang gelap yang terlindung dari cahaya langsung, untuk menghindari perubahan reaksi akibat adanya katalis cahayanya. Penyerbukan pada simplisia berfungsi untuk memperbesar permukaan sel, sehingga penyari mudah masuk. Selain itu proses ekstraksi yang dilakukan menjadi lebih efektif dan efisien. Prinsip maserasi adalah tercapainya keseimbangan konsentrasi bahan simplisia selama direndam beberapa hari (Voight, 1994).

4. Fraksinasi

Pemisahan senyawa dapat digunakan untuk analisis metabolit sekunder dan sintesis dengan mendapatkan produk yang semurni mungkin dalam jumlah besar dengan pelarut yang seminimal mungkin (Mursyidi, 1989). Metode pemisahan menggunakan cara kromatografi vakum cair. Mekanismenya yaitu kolom dielusi dengan campuran pelarut yang cocok, dimulai dengan pelarut yang kepolarannya rendah lalu kepolaran ditingkatkan perlahan-lahan, kolom dihisap sampai kering pada tiap pengumpulan fraksi (Hosttesmann, 1995). Komponen yang telah terpisah dari campuran bergerak terbawa fase gerak ke bawah kolom, jumlah komponen penyusun campuran dapat terlihat sebagai cincin berwarna sepanjang kolom gelas (Hendayana, 2006).

5. Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) adalah salah satu metode pemisahan dan uji senyawa kimia secara kualitatif. Senyawa kimia yang dapat diuji dapat berupa senyawa tunggal atau campuran. Sistem KLT terdiri dari dua fase yaitu fase gerak yang bergerak sepanjang fase diam dan akan menarik sampel ikut naik bersama karena pengaruh kapiler secara menarik atau menurun. Fase diam pada KLT adalah suatu lapisan terbuat dari bahan halus yang ditempatkan pada lempengan. Semakin kecil ukuran rata-rata partikel fase diam, makin sempit juga ukuran fase diam, dan semakin baik pula kerja elusi KLT (Ganjar, 2007).

6. Uji Bioassay

Uji bioassay larvasida adalah uji untuk mengukur efektivitas suatu larvasida terhadap vektor penyakit. Evaluasi aktivitas larvasida larva nyamuk digunakan larva nyamuk instar III yang diuji selama \pm 24 jam atau \pm 48 jam di berbagai konsentrasi ekstrak larvasida. Kematian larva dicatat tiap range waktu. Tujuan uji tes bioassay adalah :

- a.Menentukan respon dosis terhadap resistensi larva nyamuk
- b.Mengukur LC₅₀ dan LC₉₀ mortalitas larva nyamuk
- c.Menentukan konsentrasi larvasida efektif untuk membunuh larva nyamuk di lingkungan.
- d.Menilai adanya resintensi silang dengan larvasida yang umum digunakan (WHO, 2005).

E. Landasan Teori

Menurut penelitian Conti *et al* (2012), kandungan minyak atsiri 2-nonanon dan 2-undekanon di dalam *Ruta chalapensis* mempunyai aktivitas larvasida terhadap larva nyamuk *A. Albopictus* dengan LC₅₀ sebesar 35,66 ppm. Analisis kromatografi minyak atsiri *Ruta montana* mengidentifikasi kandungan keton yang terdapat pada tanaman tersebut, berpotensi sebagai larvasida nabati terhadap nyamuk *Culex pipiens* dengan presentase kematian larva 99 % setelah 30 menit

pengujian (Boutoumi *et al.*, 2009). Isolasi senyawa furokumarin 3-2-2-dimetil butenil-3-hidroksi dan alkaloid kuinolon daun *Ruta chalapensis* dapat menurunkan aktivitas pencernaan larva *Spodoptera littoralis* (Nadia *et al.*, 2009). Di dalam famili Rutaceae selain herba inggu, beberapa tanaman juga mempunyai aktivitas sebagai larvasida alami. Aktivitas larvasida fraksi petroleum eter *Euodia ridleyi* terhadap larva nyamuk *Anopheles stephensi* diperoleh nilai LC₅₀ sebesar 120,07 ppm (Prathibha *et al.*, 2010). Kandungan limonoid yang terdapat pada isolasi ekstrak heksana *Citrus sinensis* dapat menghambat pertumbuhan larva *Anopheles stephensi* dengan LC₅₀ sebesar 289,62 ppm (Murugan *et al.*, 2012).

F. Hipotesis

Fraksi nonpolar ekstrak etanol daun inggu memiliki aktivitas larvasida terhadap kematian larva nyamuk *Anopheles aconitus* dan *Anopheles maculatus* serta mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, kumarin, dan terpenoid.