PENGARUH PERUBAHAN KADAR FLAVONOID PADA PENYIMPANAN EKSTRAK ETANOL DAUN MINT *(Mentha Spicata)*.TERHADAP POTENSINYA *SEBAGAI INSEKTISIDA TERHADAP Culex sp DENGAN METODE SEMPROT*

TUGAS AKHIR

Untuk memenuhi sebagian persyaratan

mencapai derajat Sarjana S-1 pada Program Studi Pendidikan Dokter

Oleh :

A.A Ketut Tri Wahyuni

145070100111044

PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2018

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN ..... Error! Bookmark not defined.
KATA PENGANTAR ..... Error! Bookmark not defined.
ABSTRAK ..... Error! Bookmark not defined.
DAFTAR ISI ii
DAFTAR GAMBAR vi
DAFTAR TABEL vii
DAFTAR LAMPIRAN viii
BAB 1 ..... Error! Bookmark not defined.
PENDAHULUAN ..... Error! Bookmark not defined.
1.1 LATAR BELAKANG ..... Error! Bookmark not defined.
1.1 Rumusan Masalah ..... Error! Bookmark not defined.
1.2 Tujuan Penelitian ..... Error! Bookmark not defined.
1.2.1 Tujuan umum ..... Error! Bookmark not defined.
1.2.2 Tujuan khusus ..... Error! Bookmark not defined.
1.3 Manfaat Penelitian ..... Error! Bookmark not defined.
1.3.1 Manfaat Bagi Peneliti ..... Error! Bookmark not defined.
1.3.2 Manfaat Bagi Lembaga ..... Error! Bookmark not defined.
1.3.3 Manfaat Bagi Masyarakat ..... Error! Bookmark not defined.
BAB 2 ..... Error! Bookmark not defined.
TINJAUAN PUSTAKA ..... Error! Bookmark not defined.
2.1 Nyamuk *Culex sp* ..... Error! Bookmark not defined.
2.1.1 Taksonomi ..... Error! Bookmark not defined.
2.1.2 Morfologi ..... Error! Bookmark not defined.
2.1.3 Daur Hidup ..... Error! Bookmark not defined.

2.1.4 Sifat ..... Error! Bookmark not defined.
2.1.5 Kepentian medis Culex sp ..... Error! Bookmark not defined.
2.1.6 Pengendalian *Culex sp* ..... Error! Bookmark not defined.
2.2 Daun mint (*Mentha Spicata*) ..... Error! Bookmark not defined.
2.2.1 Taksonomi ..... Error! Bookmark not defined.
2.2.2 Morfologi Mentha Spicata ..... Error! Bookmark not defined.
2.2.3 Syarat tumbuh ..... Error! Bookmark not defined.
2.2.4 Kandungan Kimia *Mentha Spicata* ..... Error! Bookmark not defined.
2.2.5 Quercetin ..... Error! Bookmark not defined.
2.3 Insektisida ..... Error! Bookmark not defined.
2.3.1 Klasifikasi insektisida ..... Error! Bookmark not defined.
2.3.2 Aplikasi Insektisida ..... Error! Bookmark not defined.
2.3.3 Resistensi Insektisida ..... Error! Bookmark not defined.
2.3.4 Mekanisme Kerja Insektisida ..... Error! Bookmark not defined.
BAB 3 ..... Error! Bookmark not defined.
KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN ... Error! Bookmark not defined.
3.1 Kerangka Konsep ..... Error! Bookmark not defined.
3.2 Kerangka Berpikir ..... Error! Bookmark not defined.
3.3 Hipotesis Penelitian ..... Error! Bookmark not defined.
BAB 4 ..... Error! Bookmark not defined.
METODE PENELITIAN ..... Error! Bookmark not defined.
4.1 Desain Penelitian ..... Error! Bookmark not defined.
4.2 Populasi dan Sampel Penelitian ..... Error! Bookmark not defined.
4.3 Variabel Penelitian ..... Error! Bookmark not defined.
4.4 Tempat dan Waktu Pelaksanaan Penelitian ..... Error! Bookmark not defined.
4.5 Definisi Operasional ..... Error! Bookmark not defined.
Gambar 4.1 Kandang tempat nyamuk Culex sp berukuran 25x25x25 cm ... Error! Bookmark not defined.
4.6 Instrumen Penelitian ..... Error! Bookmark not defined.

4.6.1 Alat-alat Ekstraksi Flavonoid Pada daun mint *(Mentha Spicata)*... Error! Bookmark not defined.

4.6.2 Alat-alat Untuk Persiapan Nyamuk (Culex sp) ..... Error! Bookmark not defined.

4.6.3 Alat-alat Untuk Uji Ekstraksi Daun mint terhadap Nyamuk *Culex sp* ..... Error! Bookmark not defined.

4.6.4 Alat-alat Untuk Uji Kadar Flavonoid ..... Error! Bookmark not defined.

4.7 Bahan-bahan Penelitian ..... Error! Bookmark not defined.

4.7.1 Bahan-bahan ekstraksi tanaman daun mint . Error! Bookmark not defined.

4.7.2 Bahan-bahan untuk persiapan nyamuk *Culex sp* ..... Error! Bookmark not defined.

4.7.3 Bahan-bahan untuk uji ekstrak daun mint terhadap nyamuk *Culex sp* dilihat dari lama penyimpanannya ..... Error! Bookmark not defined.

4.7.4 Bahan-bahan untuk uji flavonoid (quercetin) ..... Error! Bookmark not defined.

4.8. Persiapan Penelitian ..... Error! Bookmark not defined.

4.8.1 Ekstraksi dan Evaporasi Daun mint ..... Error! Bookmark not defined.

4.8.2 Persiapan Nyamuk (Culex sp) ..... Error! Bookmark not defined.

4.10 Pengumpulan Data ..... Error! Bookmark not defined.

4.9 Pelaksanaan Penelitian ..... Error! Bookmark not defined.

4.9.1 Pembuatan Konsentrasi Larutan ..... Error! Bookmark not defined.

4.9.2 Penelitian Pendahuluan ..... Error! Bookmark not defined.

4.9.3 Prosedur Penelitian ..... Error! Bookmark not defined.

4.11 Tabulasi Data ..... Error! Bookmark not defined.

4.12 Analisis Data ..... Error! Bookmark not defined.

BAB 5 ..... Error! Bookmark not defined.

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA ..... Error! Bookmark not defined.

5.1 HASIL PENELITIAN PENDAHULUAN ..... Error! Bookmark not defined.

5.2 Hasil Penelitian Antara Lama Penyimpanan Ekstrak Etanol Daun Mint terhadap Potensinya sebagai Insektisida terhadap Nyamuk Culex sp ..... Error! Bookmark not defined.

5.3 Analisa data ..... **Error! Bookmark not defined.**

5.4 Analisis potensi insektisida ekstrak etanol daun mint *(Mentha Spicata)* terhadap kematian nyamuk Culex sp ..... **Error! Bookmark not defined.**

5.4.1 Uji Asumsi Data ..... **Error! Bookmark not defined.**

5.4.2 Uji Normalitas ..... **Error! Bookmark not defined.**

5.4.3 Uji homogenitas ..... **Error! Bookmark not defined.**

5.4.4 Uji One-Way ANOVA ..... **Error! Bookmark not defined.**

5.5 Pengujian Berganda *(multiple comparisons)* ..... **Error! Bookmark not defined.**

5.6 Uji Korelasi *Rank Spearman* ..... **Error! Bookmark not defined.**

5.7 Uji regresi linier ..... **Error! Bookmark not defined.**

5.5.1 Uji Normalitas ..... **Error! Bookmark not defined.**

5.5.2 Uji Homogenitas ..... **Error! Bookmark not defined.**

5.5.3 Uji *One-Way ANOVA* ..... **Error! Bookmark not defined.**

5.5.4 Pengujian Berganda (*Multiple Comparisons*) ..... **Error! Bookmark not defined.**

5.5.6 Uji Regresi Linier ..... **Error! Bookmark not defined.**

BAB 6 ..... **Error! Bookmark not defined.**

PEMBAHASAN ..... **Error! Bookmark not defined.**

BAB 7 ..... **Error! Bookmark not defined.**

KESIMPULAN DAN SARAN ..... **Error! Bookmark not defined.**

7.1 Kesimpulan ..... **Error! Bookmark not defined.**

7.2 Saran ..... **Error! Bookmark not defined.**

DAFTAR PUSTAKA ..... **Error! Bookmark not defined.**

Lampiran ..... **Error! Bookmark not defined.**

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 nyamuk *Culex sp*.....8

Gambar 2.2 Telur Nyamuk *Culex sp*.....9

Gambar 2.3 Larva *Culex sp*.....10

Gambar 2.4 Tanaman daun mint (*Mentha Spicata*).....17

Gambar 2.5 Kerangka dasar karbon (flavonoid).....20

Gambar 2.6 Tiga jenis struktur senyawa flavonoid.....20

Gambar 2.14 Struktur kimia kuersetin.....21

Gambar 4.1 Kandang tempat nyamuk *Culex sp*.....39

Gambar 5.1 percent survival nyamuk *culex* eksplorasi.....53

Gambar 5.1 percent survival nyamuk *culex* eksplorasi.....54

Gambar 5.3 Grafik Penurunan Konsentrasi Quersetin.....55

Gambar 5.4 Rata-Rata Kematian Nyamuk Berdasarkan Lama Penyimpanan Ekstrak Etanol Daun Mint (*Mentha Spicata*).....65

DAFTAR TABEL

Tabel 5.1 Jumlah nyamuk *Culex sp* yang mati pada penelitian eksplorasi.....52

Tabel 5.2 Jumlah nyamuk *Culex sp* yang mati pada pemberian ekstrak etanol daun mint dengan konsentrasi yang sama yaitu 5% setelah di rata-rata.....54

Tabel 5.3 Tabel Penurunan Konsentrasi Flavonoid.....55

Tabel 5.4 Uji Normalitas.....58

Tabel 5.5 Uji homogenitas.....59

Tabel 5.6 Uji One-Way ANOVA.....59

Tabel 5.7 Uji Tukey HSD.....60

Tabel 5.8 Pengujian Asumsi Normalitas Data.....62

Tabel 5.9 Analisis Korelasi Rank Spearman.....63

Tabel 5.10 Tingkat hubungan dalam interval koefisien.....63

Tabel 5.11 Uji regresi linier.....64

Tabel 5.13 Uji Korelasi Rank Spearman flavonoid 66

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1:Tabel kematian nyamuk tiap harinya.....88

Lampiran 2:Perbedaan Lama Penyimpanan terhadap Kematian Nyamuk.....91.

Lampiran 3: Uji *post Hoc Tukey* .....92.

Lampiran 4: Hubungan Lama Penyimpanan Ekstrak dengan Kematian Nyamuk.....93

Lampiran 5: Regresi Linier Sederhana Pengaruh Lama Penyimpanan Ekstrak terhadap Kematian Nyamuk.....94

Lampiran 6: Gambar- gambar penelitian.....95

Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

HALAMAN PENGESAHAN
TUGAS AKHIR

PENGARUH PERUBAHAN KADAR FLAVONOID PADA PENYIMPANAN EKSTRAK ETANOL DAUN MINT *(Mentha Spicata)* TERHADAP *POTENSINYA SEBAGAI INSEKTISIDA TERHADAP Culex sp DENGAN METODE SEMPROT*

Oleh:

A.A Ketut Tri Wahyuni

NIM: 145070100111044

Telah diuji pada

Hari : Selasa

Tanggal : 20 februari 2018

Dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji I

dr.Samsul Arifin, M.Biomed
NIP. 2011068311271001

Penguji II/Pembimbing I

Dr.dr.Sri Poeranto Y.S.M.Kes.,Sp.ParK Permatasari.PhD
NIP.195205061980021002

Penguji III/Pembimbing II

dr. Happy Kurnia
NIP. 2012018603182001

Mengetahui,
Ketua Program Studi Kedokteran
Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

dr.Tri Wahju Astuti, M.Kes, Sp.P(K)
NIP. 19631022 199601 2001

ABSTRAK

wahyuni, A.A ketut tri. 2018. *"Pengaruh Perubahan Kadar Flavonoid pada Penyimpanan Ekstrak Etanol Daun mint (Mentha Spicata) pada Potensinya sebagai Insektisida terhadap Nyamuk Culex sp dengan Metode Semprot.*Tugas Akhir, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing:(1) Dr.dr.Sri.Poeranto Y.S.,.Sp.ParK. M.Kes. (2) dr.Happy Kurnia Permatasari Ph.D

Nyamuk *Culex sp* merupakan serangga yang berperan sebagai vektor dari berbagai penyakit yang menyerang manusia. upaya pengendalian dari nyamuk *Culex sp* yang di perlukan adalah insektisida yang diantaranya mencakup jenis insetisida alami. daun mint *(Mentha Spicata)* memiliki kandungan zat aktif seperti *flavonoid* dan *tannin* yang dapat berpotensi sebagai insektisida terhadap nyamuk *Culex sp* Penelitian ini memiliki tujuan untuk mengetahui pengaruh perubahan kadar *flavonoid* pada penyimpanan ekstrak etanol daun mint *(Mentha Spicata) t*erhadap potensinya sebagai insektisida nyamuk *Culex sp* dengan metode semprot. Penelitian ini menggunakan metode eksperimental laboratoris dengan rancangan *true experimental post test control group design*. Sampel yang akan digunakan adalah nyamuk *Culex sp* dengan konsentrasi ekstrak etanol daun mint *(Mentha Spicata)* yang digunakan adalah 5% yang akan dibagi dalam 5 waktu lama penyimpanan sebagai berikut: hari 1,2,3,4,dan 5. Penelitian dilakukan dengan menyemprotkan esktrak etanol daun mint (*Mentha Spicata*) pada kotak kaca berukuran 25cm x 25cm x 25cm yang telah berisi 10 ekor nyamuk *Culex sp* Analisis data dengan uji *One-Way ANOVA* menunjukkan pengaruh signifikan antara lama penyimpanan ekstrak etanol daun mint (*Mentha Spicata*) dengan potensinya sebagai insektisida (*p*=0,008). Uji *post hoc Tukey HSD* membuktikan perbedaan yang signifikan antara potensi ekstrak pada hari pertama dengan penurunan potensi pada hari ke-4 dan 5. Uji korelasi *Rank Spearmen* menunjukkan (*p* = 0,000) dengan koefisien korelasi sebesar -0,611 yang mengindikasikan hubungan yang kuat dan berbanding terbalik antara lama waktu penyimpanan dengan potensi ekstrak etanoll daun mint *(Mentha Spicata)* Uji regresi linier menunjukkan pengaruh signifikan antara perubahan kadar *flavonoid* dengan jumlah kematian nyamuk (*p* = 0,000). Kesimpulan dari penelitian ini adalah terdapat hubungan signifikan antara lama penyimpanan ekstrak etanol daun mint (*Mentha Spicata*) 5% selama 5 hari dengan potensinya sebagai insektisida terhadap *nyamuk Culex sp* yang dimulai pada hari ke-4 dan pengaruh perubahan kadar *flavonoid* dengan jumlah kematian nyamuk *Culex sp*

Kata kunci: penyimpanan,Mentha Spicata,*flavonoid*,nyamuk *Culex sp*, ekstrak,insektisida

ABSTRACT

Triwahyuni, A.A ketut. 2018. *"Effect of Flavonoids Changes on Storage of Ethanol Extract Mint Leaf (Mentha Spicata) Potency as Insecticide to Culex sp Mosquitoes By Spray Method*, Final Assignment, Faculty of Medicine Universitas Brawijaya Advisor: (1) Dr.dr.Sri.Poeranto Y.S.,Sp.ParK., M.Kes. (2) dr.Happy Kurnia Permatasari PhD

Mosquito *Culex sp* is an insect that acts as a vector of various diseases that attack humans. controlling effort from mosquito *Culex sp* which in need is an insecticide that includes a type of vegetable inseticide. mint leaves (*Mentha Spicata*) contain active substances such as *flavonoids* and *tannins* that could potentially be insecticides against *Culex sp* This study aims to determine the effect of changes in flavonoid levels on the storage of mint leaf ethanol extract (*Mentha Spicata*) against its potential as a *Culex sp* Insecticide by spray method. This research uses laboratory experimental method with true experimental post test control group design. The sample to be used is mosquito *Culex sp* with the concentration of mint leaf ethanol extract (*Mentha Spicata*) used was 5% which will be divided into 5 storage periods as follows: days 1,2,3,4, dan 5. The research was done by spraying mint leaf ethanol extract (*Mentha Spicata*) on glass box measuring 25cm x 25cm x 25cm which has contain 10 mosquitoes *Culex sp* Data analysis with One-Way ANOVA test showed significant effect between long storage of mint leaf ethanol extract (*Mentha Spicata*) and its potency as insecticide (p = 0,008). The *Tukey HSD ™ post hoc test* proves a significant difference between the potential of the extract on the first day with a potential decrease on days 4 and 5. The *Spearmen Rank correlation* test shows (p = 0,000) with a correlation coefficient of -0.611 indicating a strong and comparable relationship reversed time between storage time and potency of etanoll extract of mint leaf (*Mentha Spicata*) Linear regression test showed significant influence between flavonoid level change and mosquito death count (p = 0,000). The conclusion of this research is there is significant correlation between 5% for 5 days with potency as an insecticide to *Culex sp* which begins on day 4 and the effect of changes in flavonoid levels by the number of deaths of *Culex sp*

Keywords: storage, Mentha Spicata, flavonoid, mosquito Culex sp, Extract, insecticida

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 LATAR BELAKANG

Indonesia sebagai negara tropis yang memiliki dua musim yaitu musim penghujan dan musim kemarau yang memiliki perbedaan risiko jenis penyakit dibandingkan negara dengan empat musim. Nyamuk merupakan jenis hewan yang hidup di iklim tropis seperti di Indonesia. Salah satu nyamuk yang paling banyak terdapat di Indonesia adalah *Culex sp,* Nyamuk *Culex sp* tersebar di seluruh kepulauan indonesia dan mudah berkembang biak pada tempat yang gelap. Nyamuk *Culex* menyukai lingkungan yang kotor seperti di genangan air kotor, saluran air, sawah, rawa dan hutan (Baskoro dkk,2006).

Nyamuk *Culex sp* termasuk serangga yang berperan sebagai vektor penyakit. Nyamuk *Culex sp* berperan sebagai vektor penyakit seperti *West Nile Virus , Filariasis, Japanese enchepalitis dan St louis encephalitis,chikungunya.* (rahmawati,dkk,2013)

Di Indonesia jumlah kasus klinis filariasis yang di laporkan dari tahun 2005 sampai dengan tahun 2011 di laporkan bahwa jumlah kasus klinis filariasis secara kumulatif sebanyak 12.066 kasus tersebar di 401 kabupaten/kota dari 495 kabupaten/kota di Indonesia. di jawa timur, Sulawesi Selatan, Kalimantan Barat dan Sulawesi Tenggara adalah 5 provinsi dengan kenaikan jumlah kasus tertinggi.jumlah penderita filariasis di jawa timurpada tahun 2005 dilaporkan sebanyak 167 orang, kemudian tahun 2006 di laporkan sebanyak 207 kasus. Pada tahun 2011 di laporkan sebanyak 238 kasus yang menyebar di kabupaten/kota (Ditjen PP dan PL Kemenkes RI, 2012).

Filariasis (penyakit kaki gajah) adalah penyakit menular kronik yang disebabkan oleh sumbatan cacing filaria di kelenjar atau saluran getah bening, menimbulkan gejala klinis akut berupa demam berulang, radang kelenjar / saluran getah bening, edema dan gejala kronik berupa elefantiasis. Penyakit ini menimbulkan kecacatan menetap berupa pembesaran pada kaki, lengan dan alat kelamin. *Filariasis limfatik* termasuk dalam enam penyakit tropis yang

paling penting menjadi masalah kesehatan dunia di samping malaria, schistosomiasis, tripanosomiasis dan lepra (soeyoko,2002).

Selain *Filariasis, Japanese Encephalitis* juga merupakan penyakit radang otak akibat virus, yang paling banyak terjadi di kawasan Asia. Virus *Japanese Encephalitis* adalah virus golongan *Flavivirus*. Penularan virus tersebut sebenarnya hanya terjadi antara nyamuk *culex* (terutama *Culex tritaeniorhynchus*), dan burung sawah/ladang. Data dari WHO (*World Health Organization)* dan CDC (*Centers for Disease Control and Prevention*) menunjukkan bahwa Indonesia merupakan salah satu dari banyak negara Asia yang menjadi daerah endemis virus *japanese encephalitis.* Kurang lebih 1 dari 200 penderita infeksi *Japanese Encephalitis* menunjukkan gejala yang berat yang berkaitan dengan peradangan pada otak (*encephalitis)*, berupa demam tinggi mendadak, sakit kepala, kaku pada tengkuk, disorientasi, koma (penurunan kesadaran), kejang, dan kelumpuhan (Gandahusada dkk,2006)

Demam chikungunya di sebabkan oleh virus chikungunya (CHIKV). CHIKV termasuk keluarga Togaviridae, Genus alpharus. Penyebaran CHIKV dapat di tularkan melalui gigitan nyamuk *culex sp*, Gejala utama terkena penyakit chikungunya adalah tiba-tiba tubuh terasa demam diikuti dengan linu di persendian. (Judarwanto,2006)

Pencegahan infeksi nyamuk *Culex sp* dapat dilakukan dengan menurunkan jumlah nyamuk *Culex sp* di sekitar rumah dengan menggunakan insektisida. Insektisida merupakan zat kimia beracun yang di gunakan untuk membunuh serangga. Penggunaan insektisida dapat di gunakan sebagai upaya pemberantasan nyamuk *culex.sp* yang dianggap sebagai vektor dari beberapa penyakit. Namun penggunaan insektisida secara terus menerus dapat menimbulkan bahaya pada manusia, hewan ternak dan polusi lingkungan. Menurut WHO insektisida kimiawi dapat menyebabkan keracunan pestisida yang akan mencetuskan kanker dan kemandulan. Pada umumnya nyamuk di berantas dengan cara penyemprotan menggunakan insektisida sebagai racun serangga, obat nyamuk semprot, obat nyamuk bakar atau obat anti nyamuk yang di oleskan mengandung insektisida berupa senyawa kimia yang berpengaruh bagi kesehatan seperti sesak nafas dan alergi pada kulit,

banyaknya dampak negatif dari penggunaan insektisida kimia memunculkan dorongan untuk mendapatkan bahan dan cara baru dalam pengendalian vektor yang lebih aman dan sederhana maka pengunaan insektisida alami merupakan pilihan yang dapat dijadikan alternatif untuk menurunkan dampak negatif dari insektisida kimia atau sintesis (Warlinson,2009)

Insektisida alami yang berupa senyawa kimia alami yang berasal dari tumbuh-tumbuhan di perlukan untuk memberantas penyebaran nyamuk *Culex sp* Pemberantasan *Culex sp* dengan menggunakan senyawa kimia alami dapat di lakukan dengan sederhana dan tidak menimbulkan dampak negatif sehingga dengan kata lain ramah terhadap lingkungan (djojosumarto,2008). Salah satu tanaman yang memiliki efek insektisida alami adalah daun mint *(Mentha Spicata)* merupakan jenis tanaman yang banyak dijumpai pada daerah dingin atau dataran tingi, Selain dari sifatnya yang ramah lingkungan, daun mint juga mempunyai zat-zat yang berperan sebagai insektisida. Zat-zat yang terkandung dalam daun mint adalah *flavonoid, tannin, menthol, menthone*. Ini merupakan zat-zat aktif yang dapat di gunakan untuk insektisida alami (Setiawati, 2008)

Menurut penelitian yang di lakukan oleh Ginting (2015) daun mint dapat menjadi salah satu alternatif insetisida alami karena memiliki kandungan minyak atsiri, minyak atsiri pada daun tanaman mint merupakan senyawa bioaktif yang berguna untuk menolak hinggapan nyamuk yang menunjukkan akfinitas kerjanya yang luas dan mengandng menthol dengan konsentrasi yang tinggi (Ginting,2015)

Berdasarkan uraian di atas, maka peneliti ingin membuktikan pengaruh perubahan kadar flavonoid pada penyimpanan ekstrak etanol daun mint (*Mentha Spicata*) terhadap potensinya sebagai insektisida terhadap nyamuk *culex* dengan metode semprot. Diharapkan dengan adanya penelittian ini akan memberikan manfaat dalam dunia kesehatan, terutama dalam usaha untuk mengurangi kejadian penyakit- penyakit yang di tularkan oleh nyamuk *Culex sp*

1.1 Rumusan Masalah

Bagaimanakah pengaruh perubahan kadar flavonoid pada penyimpanan ekstrak etanol daun mint *(Mentha Spicata)* terhadap potensinya sebagai insektisida terhadap nyamuk *(Culex sp)* dengan metode semprot.

1.2 Tujuan Penelitian

1.2.1 Tujuan umum

Mengetahui pengaruh perubahan kadar flavonoid pada penyimpanan ekstrak etanol daun mint *(Mentha Spicata)* terhadap potensinya sebagai insektisida terhadap nyamuk *Culex sp* dengan metode semprot.

1.2.2 Tujuan khusus

1. Mengetahui perubahan kadar flavonoid *(Quercetin)* pada ekstrak etanol daun mint (*Mentha Spicata*) selama waktu penyimpanan.
2. Mengetahui jumlah kematian nyamuk (*Culex sp*) pada berbagai lama waktu penyimpanan ekstrak etanol daun mint *(Mentha Spicata)*
3. Mengetahui pengaruh perubahan kadar flavonoid pada penyimpanan ekstrak etanol daun mint *(Mentha Spicata)* terhadap potensinya sebagai insektisida.

1.3 Manfaat Penelitian

1.3.1 Manfaat Bagi Peneliti

1. Menambah pengetahuan mengenai manfaat yang dapat diperoleh dari senyawa zat aktif flavonoid dalam daun mint *(Mentha Spicata)*
2. Mengetahui perubahan yang terjadi pada kadar flavonoid ekstrak etanol daun mint (*Mentha Spicata*) setelah melalui proses penyimpanan.

1.3.2 Manfaat Bagi Lembaga

Untuk memberikan sumbangan pemikiran sebagai motivasi untuk melakukan penelitian lebih lanjut mengenai segala hal yang berkaitan dengan senyawa zat aktif flavonoid dalam daun mint *(Mentha Spicata)* dan potensinya sebagai insektisida.

1.3.3 Manfaat Bagi Masyarakat

1. Untuk menambah alternatif pengendalian nyamuk *Culex sp* dengan bahan baku yang lebih aman
2. Mengurangi populasi nyamuk *Culex sp* sehingga mengurangi angka kejadian penyakit yang di sebabkan oleh nyamuk *Culex sp*
3. Untuk memberikan informasi baru bagi masyarakat tentang berapa lama ekstrak etanol daun mint *(Mentha Spicata)* dapat disimpan, agar tetap efektif sebagai insektisida terhadap *Culex sp*

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Nyamuk *Culex sp*

Nyamuk *Culex sp* (*quinquefasciatus*) atau lebih di kenal dengan nama nyamuk rumah. *Culex sp* biasa meletakan telur dan berkembang biak di selokan air bersih maupun kotor. *Culex sp* mempunyai peranan yang cukup penting dalam bidang ilmu kedokteran karena nyamuk *Culex sp* adalah vektor yang membawa beberapa jenis penyakit,sebagai contoh jenis nyamuk *Culex Pipiens* dapat menularkan penyakit *filariasis* atau kaki gajah ,*ensefalities* dan *chikungunya* *(Baskoro dkk,2006)*

2.1.1 Taksonomi

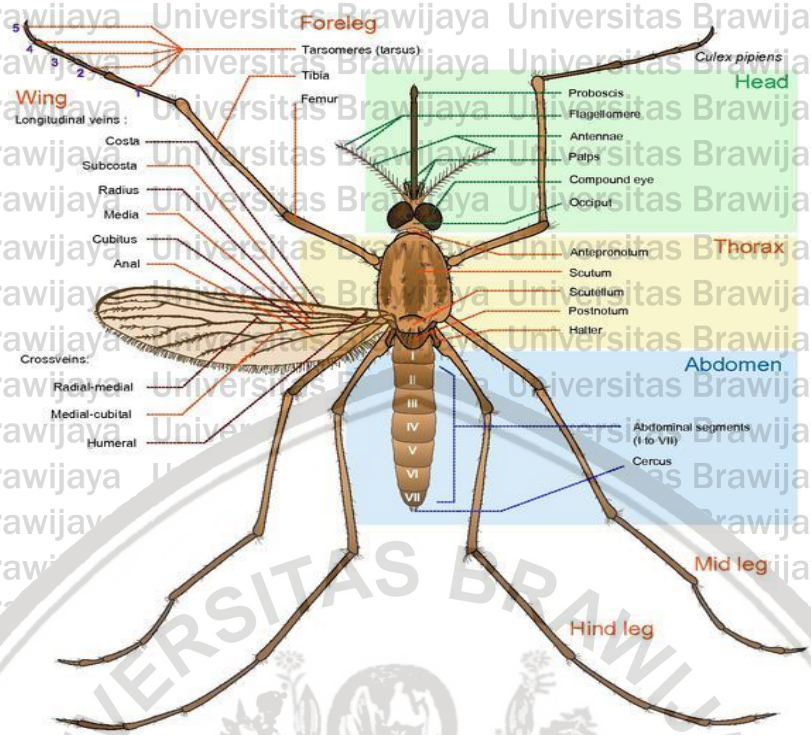
- Kingdom : *Animal*
- Phylum : *Arthropoda*
- Family : *Culicidae*
- Kelas :*Insecta*
- Ordo : *Dipthera*
- Sub family : *Culicini*
- Genus : *Culex*
- Species : *Culex sp.* (Harbach,2011)

2.1.2 Morfologi

Nyamuk *Culex sp* memiliki ukuran yang lebih besar bila dibandingkan dengan nyamuk aedes aegypti , mempunyai warna hitam berbelang putih, kepala berwarna hitam dengan putih pada ujungnya. Pada bagian thorak terdapat 2 garis putih berbentuk kurva. Palpus nyamuk betina lebih pendek dari proboscis, sedangkan pada nyamuk jantan palpus dan proboscis sama panjang. Pada sayap mempunyai bulu yang simetris dan tanpa costa. Sisik sayap membentuk kelompok sisik berwarna putih dan kuning atau putih dan coklat juga putih dan hitam. Ujung abdomen nyamuk culex selalu menumpul. Nyamuk memiliki beberapa ciri yaitu tubuhnya dibedakan atas kaput, toraks, abdomen dan mempunyai 3 pasang kaki dan sepasang antena. Satu pasang sayap dan halter menempatkan nyamuk dalam ordo Diptera. Sisik pada sayap dan adanya alat mulut yang panjang seperti jarum menempatkan nyamuk ke dalam familia Culicidae (Setiawati, 2000).

. Bagian toraks nyamuk terdiri atas 3 bagian yaitu protoraks, mesotoraks dan metatoraks. Bagian metatoraks mengecil dan terdapat sepasang sayap yang mengalami modifikasi menjadi halter. Abdomen terdiri atas segmen tanpa bintik putih di tiap segmen. Ciri lain dari nyamuk Culex adalah posisi yang sejajar dengan bidang permukaan yang dihinggapi saat istirahat atau saat menusuk dengan kaki belakang yang sedikit terangkat (Setiawati, 2000).

Genus Culex dikenali dengan struktur sketelumnya yang trilobus, ujung abdomen yang tumpul dan badannya yang penuh dengan sisik-sisik. Selain itu, struktur yang membedakan genus ini dengan genus yang lain adalah struktur yang disebut pulvilus yang berdekatan dengan kuku diujung kaki nyamuk (Setiawati, 2000). Nyamuk Culex quinque fasciatus berwarna coklat, berukuran sedang, dengan bintik-bintik putih di bagian dorsal abdomen. Sedangkan kaki dan proboscis berwarna hitam polos tanpa bintik-bintik putih. Spesies ini sulit dibedakan dengan nyamuk genus Culex lainnya (Baskoro,2006)



Gambar 2.1 Anatomi nyamuk Culex sp (Adrin,2016)

2.1.3 Daur Hidup

Nyamuk *Culex sp* mengalami metamorfosis sempurna. Waktu yang di perlukan untuk pertumbuhan telur sampai dewasa yaitu 1 sampai 2 minggu. Tempat perindukan *Culex sp* adalah air kotor,sawah,daerah pantai dan rawa-rawa. Berikut merupakan siklus hidup dari nyamuk Culex sp (Sembel,2009)

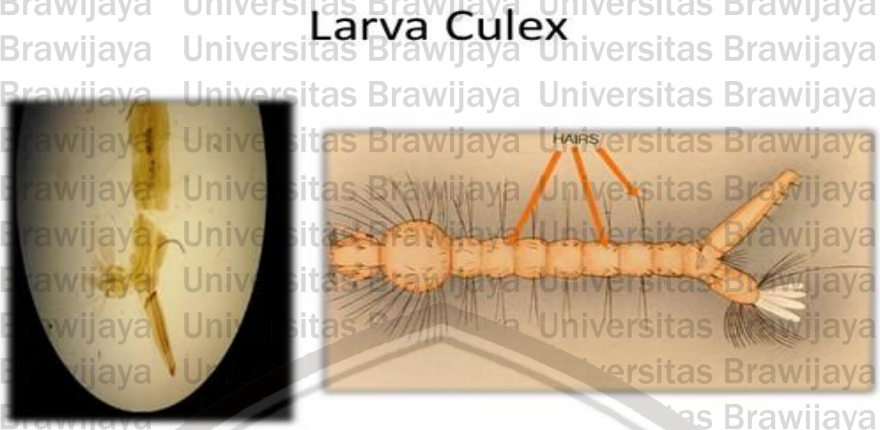
1. Stadium telur

   Seekor nyamuk betina mampu meletakan 100-300 butir telur, telur *Culex sp* memiliki ciri-ciri berwarna coklat, panjang dan silinder, vertical pada permukaan air, tersementasi pada susunan 300 telur. Panjangnya biasanya 3-4mm dan lebarnya 2-3mm. Telur-telur *Culex sp* diletakkan secara berderet-deret rapi seperti kait tanpa pelampung yang berbentuk menyerupai peluru senapan (WHO,2013)

Gambar 2.2 Telur Nyamuk *Culex sp*
Sumber : Black,2010

2. Stadium larva nyamuk

Setelah kontak dengan air, telur akan menetas dalam waktu 2-3 hari. Pertumbuhan dan perkembangan larva dipengaruhi oleh faktor temperatur, tempat perindukan dan ada tidaknya hewan predator. Pada kondisi optimum waktu yang di butuhkan mulai dari penetasan sampai dewasa kurang lebih 5 hari. Pada larva nyamuk *culex sp* mempunyai siphon yang mengandung bulu-bulu siphon (*siphonal tuft)* dan pekten, sisir atau comb dengan gigi-gigi sisir (*comb teeth*), segmen anal dengan pelana tertutup dan tampak tergantung pada permukaan air (Glogster,2012)



Gambar 2.3 larva *culex sp*
Sumber : Black,2010

3. Stadium Pupa

Pupa merupakan stadium terakhir dari nyamuk yang berada dalam air. Pada stadium ini tidak memerlukan makanan dan terjadi pembentukan sayap hingga dapat terbang. stadium kepompong memakan waktu kurang lebih satu sampai dua hari, pada fase ini membutuhkan 2-5 hari untuk menjadi nyamuk,dan selama fase ini pupa tidak akan makan apapun dan akan keluar dari larva menjadi nyamuk yang dapat terbang dan keluar dari air (Ideawan,2008).

4. Stadium nyamuk dewasa

setelah muncul dari pupa nyamuk jantan dan betina akan kawin dan nyamuk betina yang sudah dibuahi akan menghisap darah waktu 24-36 jam. Darah merupakan sumber protein penting untuk mematangkan telur. perkembangan telur hingga dewasa memerlukan waktu sekitar 10 sampai dengan 12 hari (Baskoro,2007)

2.1.4 Sifat

Nyamuk betina menghisap darah untuk proses pematangan telur, berbeda dengan nyamuk jantan. Nyamuk jantan tidak memerlukan darah tetapi hanya menghisap sari bunga. Setiap nyamuk mempunyai waktu menggigit, kesukaan menggigit, tempat beristirahat dan berkembang biak yang berbeda-beda satu dengan yang lain (Baskoro dkk.,2006)

a) Tempat berkembang biak

Secara umum nyamuk *Culex sp* menyukai air yang tergenang dan segala macam air terutama yang kotor seperti selokan. Khusus pada *Culex pipienfatigans* atau *Culex quenquefasciatus* membutuhkan air yang tercemar, sedangkan pada *Culex tritaeniorhynchus* membutuhkan air beras sebagai *breeding place* (Smith, 1973).

b) Perilaku makan

Nyamuk *Culex sp* suka menggigit manusia dan hewan terutama pada malam hari. Nyamuk *Culex sp* suka menggigit binatang peliharaan, unggas, kambing, kerbau dan sapi. Menurut penelitian yang lalu kepadatan menggigit manusia di dalam dan di luar rumah nyamuk *Culex sp* hampir sama yaitu di luar rumah (52,8%) dan kepadatan menggigit di dalam rumah (47,14%), namun ternyata angka dominasi menggigit umpan nyamuk manusia di dalam rumah lebih tinggi (0,64643) dari nyamuk menggigit umpan orang di luar rumah (0,60135) (Brown,et al,1983).

c) Kesukaan beristirahat

Setelah nyamuk menggigit orang atau hewan nyamuk tersebut akan beristirahat selama 2 sampai 3 hari. Setiap spesies nyamuk mempunyai kesukaan beristirahat yang berbeda-beda. Nyamuk *Culex sp* suka beristirahat dalam rumah. Nyamuk ini sering berada dalam rumah sehingga di kenal dengan nyamuk rumahan (Brown,et al,1983).

d) Aktifitas menghisap darah

Nyamuk *Culex sp* suka menggigit manusia dan hewan terutama pada malam hari (nocturnal). Nyamuk *Culex sp* menggigit beberapa jam setelah matahari terbenam

sampai sebelum matahari terbit. Dan puncak menggigit nyamuk ini adalah pada pukul 01.00-02.00 (Brown,et al,1983).

2.1.5 Kepentingan medis *Culex sp*

a) Filariasis

Filariasis atau kaki gajah merupakan jenis penyakit parasit yang di sebabkan karena nematoda yang hidup dalam sistem limfe dan dapat di tularkan melalui gigitan nyamuk. Manifestasi akut yang akan di rasakan adalah demam berulang, peradangan saluran kelenjar getah bening (*adenolimfangitis*) terutama daerah pangkal paha dan ketiak tapi dapat pula pada daerah lain. Mikrofilaria biasanya tidak menimbulkan kelainan tetapi dalam keadaan tertentu dapat menimbulkan occult filariasis (sari dan aswin,2013). Gejala yang disebabkan oleh cacing dewasa menyebabkan limfadenitis (peradangan di saluran kelenjar limfe) dan limfangitis (peradangan di saluran limfe) retrograde dalam stadium akut, di susul dengan obstruktif menahun 10-15 tahun kemudian (Brown,et al,1983).

Perjalanan filariasis dapat di bagi menjadi beberapa stadium. stadium mikrofilaremia tanpa gejala klinis, stadium akut dan stadium menahun. Pada stadium akut terjadi limfadenitis dan peradangan kelenjar seperti peradangan sistem limfatik organ genital pria (*epidididmis , orkitis dan funikulitis*). Pada penderita mikrofiremia tanpa gejala klinis, pemeriksaan dengan limfosintigrafi menunjukan adanya kerusakan limfe. Sedangkan pada stadium kronis (menahun) gejala yang sering terjadi adalah hidrokel. Terkadang juga terjadi limfedema dan elephantiasis yang mengenai daerah lengan, payudara dan tungkai (sari dan aswin,2013). Cacing dewasa yang menyumbat saluran limfe lalu terjadi dilatasi kemudian terjadi ganguan cairan limfatik. Gangguan ini menyebabkan terjadi edema oleh karena penimbunan cairan limfe yang menyebabkan aliran limfe menjadi lambat dan tekanan hidrostatikpun menjadi meningkat sehingga

cairan limfe masuk ke jaringan sehingga timbul edema. Gangguan lain yang akan terjadi adalah kelenjar limfe tidak dapat menyaring bakteri yang masuk, sehingga bakteri mudah berkembang biak dan menimbulkan peradangan akut. Kerusakan sistem limfatik menyebabkan menurunnya kemampuan untuk mengalirkan cairan limfe sehingga dapat terjadi limfedema,adanya serangan akut berulang oleh bakteri atau jamur akan menyebabkan penebalan dan pengerasan kulit, hiperpigmentasi ,hiperkeratosis dan peningkatan pembentukan jaringan ikat sehingga terjadi peningkatan stadium limfedema, di mana pembengkakan yang semula terjadi hilang timbul (pitting) akan menjadi pembengkakan menetap (Gandahusada dkk,2006)

b) *Japanese Encephalitis*

Japanese encephalitis merupakan penyakit viral yang penularannya melalui vektor dan menyebabkan penyakit ensefalitis pada manusia terutama anak-anak di asia ,juga dapat menyerang ternak. Penyakit ini merupakan salah satu penyakit yang bersifat zoonosis, sehingga mempunyai dampak yang cukup serius terhadap kesehatan masyarakat. Penyakit *Japanese B Encephalitis* pada manusia merupakan suatu jalan akhir dalam siklus penularan (dead-end),karena viremia pada manusia terjadi hanya beberapa jam sehingga sulit ditularkan kepada orang lain. Manusia yang terserang penyakit ini dapat berakibat kematian dengan baik. Hewan yang terinfeksi biasanya menjadi reservoir atau carrier yang dapat menularkan virus tersebut kepada manusia melalui serangga nyamuk sebagai vektornya (Solomon *et al*.2000)

C) Demam chikungunya

Demam chikungunya di sebabkan oleh virus chikungunya (CHIKV). CHIKV termasuk keluarga Togaviridae, Genus alpharus. Penyebaran CHIKV dapat di tularkan melalui giitan nyamuk , kera dan beberapa hewan buas lainnya yang di duga sebagai perantara penyakit ini. Masa inkubasi terjadinya demam chikungunya sekitar dua sampai empat hari,sementara manifestasi yang timbul antara tiga sampai sepuluh haro.

Gejala utama terkena penyakit chikungunya adalah tiba-tiba tubuh terasa demam diikuti dengan linu di persendian. Dalam beberapa kasus di dapatkan juga penderita yang terinfeksi tanpa menimbulkan gejala sama sekali atau *silent virus chikungunya* (Judarwanto,2006).

Virus Chikungunya akan berkembang biak didalam tubuh manusia. Virus menyerang semua usia,baik anak maupun dewasa di daerah endemis. Secara mendadak penderita akan mengalami demam tinggi selama lima hari, sehingga di kenal pula dengan istilah demam lima hari.pada anak kecil di mulai dengan demam mendadak, kulit kemerahan, ruam merah muncul 3-5 hari ,mata merah di sertai tanda seperti flu. Pada dewasa ,gejala nyeri sendi dan otot sangat dominan dan sampai menimbulkan kelumpuhan sementara karena sakit berjalan (Judarwanto,2006)

2.1.6 Pengendalian *Culex sp*

a) Pengendalian secara biologi

Pengendalian secara biologi di lakukan dengan menggunakan organisme lain atau pemangsa yang mampu mengurangi populasi nyamuk misalnya ikan mujaer dan nila yang biasa digunakan sebagai pemakan larva nyamuk. Pengendalian secara biologis ini mampu menurunkan populasi nyamuk dengan alami tanpa menimbulkan ganguan keseimbangan ekologi (Mulyatno, 2008)

b) Pengendalian secara kimia

Pengendalian secara kimia di lakukan dengan cara menyemprotkan insektisida ke sarang nyamuk seperti got dan ruangan rumah. Cara lain yang dapat di lakukan yaitu dengan melakukan penaburan insektisida butiran ke tempat-tempat yang terdapat jentik atau larva nyamuk dan ketempat yang sering menjadi sarang nyamuk. Penyemprotan dengan malation masih di gunakan secara umum untuk membunuh nyamuk dewasa, tetapi tidak dapat membunuh larva yang hidup di dalam air . pengendalian yang umum di gunakan untuk larva nyamuk adalah menggunakan abate (Soedarto,2008).

c) Pengendalian secara mekanik

Pengendalian secara mekanis dilakukan dengan cara memusnahkan tempat berkembang biak nyamuk, seperti mengubur kaleng-kaleng atau tempat sejenis sehingga tidak dapat menanpung air hujan. Cara lain yang bisa di lakukan adalah mencegah terjadinya kontak antara nyamuk dan manusia , dengan cara memasang kasa nyamuk pada jendela atau celah-celah kecil di rumah dan menggunakan perangkap nyamuk (Soedarto,2008).

Pemberantasan nyamuk banyak dilakukan diantaranya dengan obat-obat kimia seperti obat nyamuk bakar, obat nyamuk oles atau elektrik. Pemberantasan yang paling sering dilakukan yaitu dengan fogging atau pengasapan. Penggunaan obat kimiawi tersebut tentunya dapat menimbulkan dampak yang merugikan di antaranya

1. Menimbulkan bau yang menyengat dan bisa membuat sesak nafas atau alergi pada kulit sehingga akan berpengaruh pada kesehatan,
2. Nyamuk yang diberantas dengan penyemprotan racun serangga akan menjadi resisten atau kebal terhadap obat nyamuk,
3. Polusi lingkungan,
4. Penyemprotan dengan insektisida kimiawi juga membutuhkan biaya yang cukup besar (Gandahusada dkk,2006)

2.2 Daun Mint (*Mentha Spicata*)

Daun mint (*Mentha Spicata*) merupakan salah satu tanaman yang daunnya mempunyai aroma wangi dan cita rasa dingin yang segar. aroma wangi dari daun mint disebabkan kandungan minyak atsiri berupa minyak menthol. Daun ini mengandung vitamin C, provitamin A, fosfor, besi, kalsium dan potasium. Serat, klorofil dan fitonutrien juga banyak terkandung didalam daun mint (Fajarningtyas ,2015)

2.2.1 Taksonomi

Dalam sistematika taksonomi, daun mint (*Mentha Spicata*) dapat diklasifikasikan sebagai berikut

- Kingdom : Plantae (Tumbuhan)
- Subkingdom : Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
- Super Divisi : Spermatophyta (Menghasilkan biji)
- Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
- Kelas: Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil)
- Sub Kelas : Asteridae
- Ordo: Lamiales
- Famili : Lamiaceae
- Genus: *mentha*
- Spesies: *Mentha Spicata.* (Fajarningtyas,2015)

2.2.2 Morfologi Mentha Spicata

Mentha Spicata tumbuh diantara tinggi sekitar 10 - 60 cm (jarang sampai 100cm). Daunnya tersusun dalam bentuk pasangan yang bertentangan dengan panjang satu lembar daun sekitar 2 - 6.5 cm dengan lebar 1 – 2 cm. Tepi daun tidak rata seperti mata gergaji dan pada permukaannya (ditulang daun dan cabang-cabangnya) berambut halus (Nurahman, 2007). Batang tanaman mint berbentuk segiempat dan berwarna keunguan (Grieve, 1984). Bunganya putih keunguan atau merah muda yang cantik. Bunga-bunganya berkelompok pada satu batang dan panjang bunga sekitar 3 – 4 cm (Nurahman, 2007).

Gambar 2.4 Tanaman daun mint *(Mentha Spicata)*
Sumber: https://florafaunaweb.nparks.gov.sg/

2.2.3 Syarat tumbuh

Mentha Spicata merupakan spesies daun mint yang menyebar luas dikawasan beriklim sederhana seperti sebagian daripada region Eropa, Asia Tengah, Asia Barat hingga ke Timur dari Himalaya dan Siberia. Di Indonesia tanaman ini tumbuh liar dan berada di tempat lembap, ditemukan pada ketinggian 150 - 200m diatas permukaan laut. Daun mint dapat dijumpai pada daerah basah seperti disekitar sepanjang aliran sungai, dan memerlukan tempat yang terbuka sedikit terlindung. Tumbuh bermusim yaitu pada sekitar bulan Mei hingga Oktober, dan menjadi matang dalam bulan Juli hingga Oktober. Bunganya dari jenis hermaphrodite (mempunyai jenis jantan dan betina pada satu pohon). Pertumbuhan pohon herbal ini kebanyakan pada daerah yang disinari cahaya secara langsung maupun tidak langsung, medium tanah yang berpasir maupun tanah liat yang bersifat asam, netral atau basa. Perbanyakan tumbuhan mint ini dengan menggunakan metode stem batang. Tanaman mint dirawat dengan disiram air yang cukup, dijaga kelembapan tanahnya dan dipupuk dengan pupuk dasar (Nurahman, 2007).

2.2.4 Kandungan Kimia *Mentha Spicata*

Beberapa kandungan kimia yang terdapat dalam daun mint antara lain flavonoid, tannin,menthone dan carvone. kandungan flavonoid dalam daun mint sebanyak 25,17 mg pada setiap 100 gram daun mint (Atnassova et. Al,2005). Daun mint juga mempunyai tannin selain itu daun mint juga memiliki unsur vitamin C dan vitamin A (Gilbert et.al,2005).unsur utama dari

daun mint adalah minyak atsiri (0,5-4%),yang mengandung mentol (30-55%) dan menthone (14-32%).(ranggawan et.al,2010)

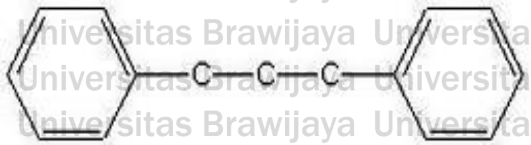
1. Flavonoid

Flavonoid adalah salah satu senyawa yang bersifat racun atau alelopati yang terdapat pada daun mint. sebagian besar *flavonoid* terhimpun di vakuola sel tumbuhan walaupun tempat sintesisnya ada di luar vakuola. Golongan flavonoid juga mencakup banyak pigmen yang paling umum dan terdapat pada seluruh dunia tumbuhan mulai dari fungus sampai angiospermae. *Flavonoid* mempunyai sifat yang khas, yaitu bau yang sangat tajam. Istilah *flavonoid* diberikan untuk senyawa-senyawa fenol yang berasal dari kata flavon, yaitu nama dari salah satu senyawa yang terbesar jumlahnya dalam tumbuhan. Senyawa ini bersifat racun yang merupakan senyawa glukosida yang terdiri dari gula yang berikatan dengan flavon. *Flavonoid* digunakan sebagai daya tarik serangga untuk melakukan penyerbukan karena sebagian besar pigmennya berwarna kuning. *Flavonoid* akan masuk ke dalam mulut serangga melalui sistem pernafasan berupa spirakel yang terdapat di permukaan tubuh dan menimbulkan kematian pada syaraf serta kerusakan pada spirakel yang akan mengakibatkan tidak bisa bernafas kemudian mati (arda,2002).

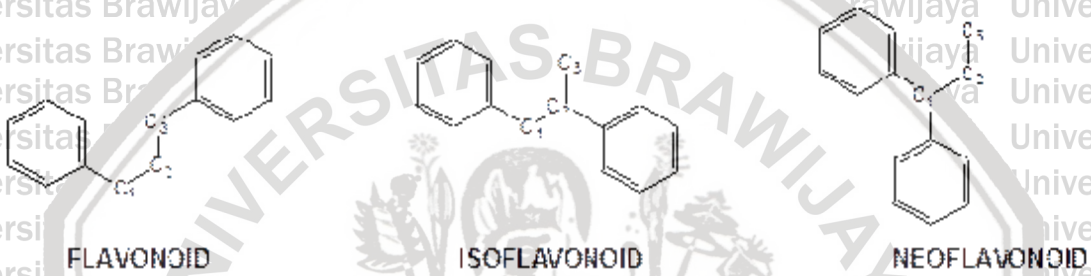
Flavonoid juga diduga menggangu metabolism energy di dalam mitokondria dengan menghambat system pengakutan electron.adanya hambatan pada system pengakutan electron akan menghalangi produksi ATP dan menyebabkan penurunan pemakaian oksigen oleh mitokondria, menghambat rantai respirasi, menghambat fosforilasi oksidatif, atau dengan memutuskan rangkaian antara rantai respirasi dengan fosforilasi oksidatif (Brodnizts et al.,2004)

Flavonoid mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri dari 15 atom karbon, dimana dua cincin benzene (C6) terikat pada suatu rantai propana (C3) sehingga membentuk suatu susunan C6-C3-C6. Susunan ini dapat menghasilkan tiga jenis

struktur senyawa flavonoid yaitu flavonoid atau 1, 3- diarilpropana, isoflavonoid atau 1, 2- diarilpropana, dan neoflavonoid atau 1, 2- diarilpropana (Materska et al., 2003).



Gambar 2.5 Kerangka dasar karbon (flavonoid); C6-C3-C6



Gambar 2.6 Tiga jenis struktur senyawa flavonoid (Materska et al., 2003).

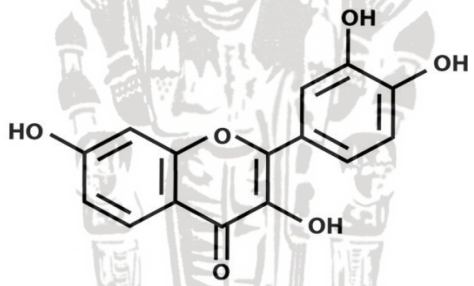
Flavonoid dapat ditemukan sebagai mono-, di-, atau triglikosida dimana satu, dua, dan tiga gugus hidroksil dalam molekul flavonoid terikat oleh gula. Poliglikosida larut dalam air dan sedikit dalam pelarut organic seperti *eter, benzene, kloroform, dan aseton* (Lenny, 2006). *Flavonoid* mempunyai sejumlah kegunaan. Pertama, terhadap tumbuhan, yaitu sebagai pengatur fotosintesis, antimikroba, dan antivirus. Kedua, pada manusia, yaitu sebagai antioksidan serta memiliki efek yang menguntungkan dalam pencegahan penyakit degeneratif. Ketiga, terhadap serangga, yaitu sebagai daya tarik serangga untuk melakukan penyerbukan. Keempat, kegunaan lainnya adalah sebagai bahan aktif dalam pembuatan insektisida alami (Dinata, 2008).

2. Tannin

Tannin merupakan salah satu senyawa yang termasuk kedalam golongan polifenol yang terdapat dalam tumbuhan. tanin dapat dibagi menjadi dua kumpulan. Pertama, tannin yang di kondensasi dan yang kedua merupakan tannin yang di hiddrolisasi. Kedua kumpulan tannin bisa didapatkan dari berbagai jenis tumbuhan (CMCD,2008)

2.2.5 Quercetin

Kandungan utama flavonoid adalah senyawa quercetin yang memiliki efek toksik pada serangga (Mallikarjuna, 2002). Nama quercetin digunakan semenjak tahun 1857, dan berasal dari kata *quercetum*. Quercetin paling umum ditemukan pada tumbuhan tingkat tinggi, biasanya dalam bentuk glikosida, namun dalam bentuk bebas terdapat pada Asteraceae, Passifloraceae, Rhamnaceae, dan tanaman Solanaceae (Hoffmann,2003). Nama lain quersetin adalah 3,5,7,3',4'-pentahydroxyflavone (IUPAC) dengan rumus formula C15H10O7 dan bobot molekul 302,2.21. Berikut merupakan rumus struktur kuersetin:



Gambar 2.14 Struktur kimia kuersetin (Hoffmann, 2003)

Pengaruh perubahan kadar flavonoid pada penyimpanan ekstrak daun mint dapat dipresentasikan dari terjadi penurunan kadar senyawa quercetin. Sejalar dengan penurunan quercetin pada penyimpanan ekstrak daun mint, kandungan komponen zat aktif lain dari senyawa flavonoid juga mengalami perubahan (Hoffmann,2003).

2.3 Pengaruh Penyimpanan Terhadap Penurunan Komponen Zat Aktif di Dalam Ekstrak Etanol Daun mint

Pada penelitian ini dilakukan proses penyimpanan ekstrak etanol daun mint, diperkirakan terjadi penurunan komponen zat aktif yang terkandung di dalam ekstrak etanol

daun mint tersebut. Hal ini mengakibatkan menurunnya kualitas komponen utamanya sehingga potensinya sebagai isektisida juga menurun. Penurunan tersebut diduga terjadi karena pengaruh faktor endogen dan eksogen. Faktor endogen yang mampu menyebabkan perubahan kadar dan sifat-sifat senyawa zat aktif dalam ekstrak daun mint yaitu reaksi antarsenyawa, terjadinya penguapan, dan perubahan struktur kimia zat aktif tersebut. Faktor eksogen yang mampu mempengaruhi potensi ekstrak etanol daun mint diantaranya adala suhu, cahaya, dan oksigen udara (Yuni, 2012). Salah satu komponen zat aktifnya adalah senyawa polifenol seperti flavonoid yang mudah rusak akibat proses oksidasi, yaitu kontak dengan udara terbuka sehingga terjadi reaksi dengan bahan aktifnya (Ruchmana, 2017). Perubahan biokimiawi lain yang dapat terjadi diantaranya adalah proses polimerisasi, resinifikasi, dan esterifikasi. Selain itu, suhu penyimpanan juga memengaruhi degradasi dari suatu senyawa (Hendry dan Houghton, 1992).

2.3 Insektisida

Insektisida adalah senyawa kimia yang digunakan untuk membunuh serangga dan penggunaannya dalam bentuk tepung, cairan, cairan yang dibuat menjadi partikel maupun aerosol. Idealnya insektisida mempunyai sifat sebagai berikut:

1. Mempunyai daya bunuh yang besar dan cepat serta tidak berbahaya bagi binatang vertebrata termasuk manusia dan hewan ternak
2. Aman bagi manusia terutama operator, juga hewan ternak dan komponen kehidupan lainnya.
3. Harga terjangkau dan mudah di dapat dalam jumlah besar
4. Mempunyai susunan kimia yang stabil dan tidak mudah terbakar.
5. Mudah digunakan dan dapat di campur berbagai macam bahan pelarut.
6. Tidak berwarna dan tidak berbau yang tidak menyenangkan (Gandahusada dkk,2006)

2.3.1 Klasifikasi insektisida

Insektisida dapat diklasifikasikan berdasarkan cara masuknya insektisida ke dalam tubuh serangga (Widarto, 2009):

1. Racun Kontak *(Contact Poisons*)

   Racun kontak adalah insektisida yang masuk ke dalam tubuh serangga melalui kulit, celah/lubang alami pada tubuh (*trachea*) atau langsung mengenai mulut serangga. Serangga akan mati apabila bersinggungan langsung (kontak) dengan insektisida tersebut. Kebanyakan racun kontak juga berperan sebagai racun perut. Biasanya serangga yang diberantas dengan cara ini mempunyai mulut untuk menggigit, lekat isap, kerat isap, dan bentuk mengisap (Safar, 2009).

2. Racun Perut (*Stomach Poisons*)

   Stomach poison atau racun perut adalah insektisida yang membunuh serangga dengan cara masuk ke pencernaan melalui bahan yang dimakannya. Insektisida jenis ini pada organ pencernaan serangga dan diserap oleh dinding usus, kemudian ditranslokasikan ke tempat sasaran yang mematikan sesuai dengan jenis bahan aktif insektisida, misalnya menuju pusat). Insektisida akan masuk saraf serangga, menuju organ – organ respirasi, dan meracuni sel-sel lambung. Oleh karena itu, serangga harus memakan makanan yang sudah disemprot insektisida yang mengandung residu dalam jumlah yang cukup untuk membunuh. Pada umumnya dipakai untuk pemberantasan serangga yang mempunyai bentuk mulut tusuk-isap (Safar, 2009)

3. Racun Pernafasan (*Fumigants*)

   Racun pernafasan adalah insektisida yang masuk melalui *trachea* serangga dalam bentuk partikel mikro yang melayang di udara. Serangga akan mati bila menghirup partikel mikro insektisida dalam jumlah yang cukup. Kebanyakan racun pernafasan berupa gas, asap, maupun uap dari insektisida cair. Insektisida ini dapat

dipakai untuk memberantas semua jenis serangga tanpa memperhatikan bentuk mulut (Safar, 2006).

2.3.2 Aplikasi Insektisida

Dalam aplikasi insektisida, harus diperhatikan mengenai pemilihan jenis dan formulasi insektisida yang cocok berdasarkan jenis serangga yang menjadi target dan tujuan penggunaannya. Selain jenis dan formulasi, aplikasi insektisida juga harus memperhatikan metode aplikasi yang cocok (*Food and Environmental Hygiene Department*, 2009). Berdasarkan cara aplikasinya, terdapat beberapa metode pemberian insektisida, yaitu :

1. Metode Semprot (*spraying*)

   Metode semprot adalah suatu metode untuk mengeluarkan insektisida cair melalui berbagai macam alat penyemprot sehingga terbentuk *droplet* berukuran kecil yang melayang di udara atau menetap pada permukaan objek yang mengadakan kontak dengan serangga (Department of Entamology Iowa State University, 2005).

   Metode semprot merupakan metode yang paling sering digunakan karena mudah aplikasinya dan cocok untuk membasmi serangga baik di dalam maupun di luar ruangan. Secara umum terdapat 2 macam metode semprot, yakni *space spraying* dan *residual* spraying (*Food and Environment Hygiene Department*, 2009).

   Space spraying adalah penyemprotan insektisida yang memiliki efek *knockdown* pada ruang dimana terdapat aktivitas serangga. Metode ini terurtama digunakan untuk membasmi serangga yang terbang, seperti nyamuk, lalat, dan lebah. *Residual spraying* adalah penggunaan insektisida yang memiliki efek residu pada permukaan objek dimana terdapat aktivitas serangga yang merayap atau berada pada permukaan suatu objek tertentu dalam waktu yang lama, misalnya kecoa, kutu, dan semut (*Food and Environment Hygiene Department*, 2009).

2. Metode Bubuk

Metode *dusting* adalah suatu metode untuk menyemprotkan atau menyebarkan bubuk insektisida pada suatu area sehingga bubuk tersebut akan melumuri tubuh serangga. Insektisida bubuk digunakan terutama untuk area atau objek yang tidak dapat dibasahi, misalnya permukaan karpet atau buku (Department of Entamology Iowa University, 2005). Metode ini juga dapat digunakan di luar ruangan, misalnya di lubang atau retakan yang terdapat di tanah. Aplikasi insektisida di luar ruangan dengan metode ini harus memperhatikan cuaca yang hujan atau berangin, selain itu, juga sebaliknya tidak digunakan pada area yang lembab atau berlumpur. Metode *dusting* cocok digunakan untuk membasmi pejal kecoa, *scolopendra*, dan larva serangga (*Food and Environmental Hygiene Department*, 2009).

2. Metode Fumigasi (*Fumigation*)

Metode *fumigasi* digunakan untuk insektisida yang berbentuk gas. Keuntungan dari metode ini adalah molekulnya yang berukuran kecil sehingga memiliki daya penetrasi yang kuat dibandingkan metode lainnya. Keuntungan lain adalah dispersi gas yang mudah sehingga tidak meninggalkan *residu* pada permukaan objek (Department of Entamology Iowa State University, 2005).

3. Metode Umpan (*baiting*)

Secara umum tidak dibutuhkan peralatan khusus dalam metode ini. Hanya dibutuhkan alat sederhana, misalnya kotak unuk umpan kecoa. Pada metode ini yang sangat penting adalah pemilihan lokasi yang tepat untuk meletakkan umpan. Umpan sebaiknya diletakkan di tempat yang dekat dengan tempat aktivitas serangga, tidak mudah dijangkau manusia dan organisme selain serangga target, serta jauh dari makanan dan tempat pemrosesan makanan (*Food and Environment Hygiene Department*, 2009).

2.3.3 Resistensi Insektisida

Insektisida yang digunakan dengan sembarangan selain dapat menimbulkan efek samping, serta dapat menimbulkan resistensi. Resistensi merupakan hasil adaptasi dari serangga tersebut terhadap paparan insektisida, agar dapat bertahan dari pengaruh insektisida yang biasanya mematikan. Penyebab tersering resistensi adalah pemberian dosis yang subletal sehingga sebagian serangga dapat menyesuaikan diri. Penyesuaian diri dapat diwariskan ke generasi selanjutnya (Hadi, 2002). Ketahanan serangga terhadap suatu jenis atau beberapa jenis insektisida disebabkan oleh lebih dari satu mekanisme ketahanan. Ada beberapa jenis serangga yang cepat membentuk populasi yang resisten tetapi ada pula yang lambat (Fajarningtyas,2015)

Resistensi serangga terhadap insektisida adalah kemampuan populasi serangga untuk bertahan terhadap pengaruh insektisida yang biasanya mematikan. Menurut Soedarto (2008) resistensi serangga dibagi menjadi dua yaitu resistensi bawaan dan resistensi yang didapat.

1. Resistensi Bawaan

Dari populasi serangga ada anggota yang pada dasarnya sudah resisten terhadap suatu insektisida. Sifat itu turun temurun sehingga selanjutnya terjadi populasi yang resisten seluruhnya. Selain itu resistensi bawaan juga terjadi karena perubahan gen yang menyebabkan mutasi sehingga keturunannya juga membawa hasil mutasi yang terjadi pada induknya. Menurut mekanismenya resistensi bawaan dibagi dalam resistensi fisiologik bawaan dan resistensi kelakuan bawaan (Soedarto, 2008)

Resistensi fisiologik bawaan dapat disebabkan oleh: 1) daya absorbsi insektisida yang sangat lambat, sehingga serangga tidak mati; 2) daya penyimpanan insektisida dalam jaringan yang tidak vital, seperti jaringan lemak, sehingga organ vital terhindar dan serangga

tidak mati; 3) daya ekskresi insektisida yang cepat, sehingga tidak membunuh serangga; 4) detoksikasi insektisida oleh enzim sehingga serangga tidak mati (Soedarto, 2008)

Resistensi kelakuan bawaan disebabkan oleh: 1) perubahan habitat serangga, sehingga terhindar dari pengaruh insektisida. Keturunannya mempertahankan habitat baru; 2) *avoidance*, sifat menghindarkan diri dari pengaruh insektisida sehingga tidak terbunuh tanpa mengubah habitat (Soedarto, 2008).

2. Resistensi yang Didapat

Dari populasi serangga, anggota yang semula rentan menyesuaikan diri terhadap pengaruh insektisida sehingga tidak mati dan membentuk populasi baru yang resisten. Resistensi fisiologik yang didapat terjadi karena toleransi terhadap insektisida karena sebelumnya telah mendapat dosis subletal (Soedarto, 2008).

2.3.4 Mekanisme Kerja Insektisida

Cara kerja insektisida yang digunakan dalam pengendalian vektor terbagi dalam lima kelompok, yaitu

1. Memengaruhi Sistem Saraf

Insektisida organofosfor dan karbamat mengikat enzim asetilkolinesterase yang berfungsi menghidrolisis asetilkolin. Dalam keadaan normal asetilkolin berfungsi menghantar impul saraf, setelah itu segera mengalami hidrolisis dengan bantuan enzim asetilkolinesterase menjadi kolin dan asam asetat. Dengan terikatnya enzim asetilkolinesterase terjadi penumpukan asetilkolin, akibatnya impul saraf akan terstimulasi secara terus menerus menerus menyebabkan gejala tremor/gemetar dan gerakan tidak terkendali (Ikawati, 2015)

2. Menghambat produksi energi

Mekanisme kerja insektisida ini mengganggu proses respirasi, suatu proses yang menghasilkan energi untuk proses metabolisme. Respirasi adalah suatu proses pemecahan gula atau senyawa lain yang menghasilkan energi. Energi ini digunakan untuk proses pertumbuhan. Proses respirasi adalah proses yang kompleks, yang melibatkan banyak reaksi yang memerlukan enzim. Gangguan-gangguan dalam setiap tahap reaksi ini akan menggaggu perolehan energi yang diperlukan yang akhirnya menghambat pertumbuhan dan jasad akan mati di atas kakinya sendiri karena kehabisan tenaga untuk tumbuh dan berkembang. (Ikawati, 2015)

3. Memengaruhi Sistem Endokrin

Pertumbuhan serangga pada fase muda (larva), dikendalikan oleh hormon juvenile (juvenile hormon) yang diproduksi di otak. Hormon juvenil mengatur kapan fase larva berakhir kemudian dilanjutkan dengan molting kemudian menjadi dewasa. Insektisida berbahan aktif hydroprene, methoprene, pyriproxypen dan fenoxycarb bekerja menyerupai hormon juvenil, menyebabkan larva terganggu pertumbuhannya, tetap dalam fase muda, tidak dapat bekepompong dan akhirnya mati (Ikawati, 2015)

4. Merusak Jaringan Pencernaan Serangga

Insektisida golongan ini adalah yang berbahan aktif mikroorganisme Baccilus thuringiensis (Bti). Bti membentuk endotoksin yang bila masuk ke dalam pencernaan serangga (larva dari golongan lepidoptera) yang bersifat asam akan terlarut dan merusak sel-sel jaringan pencernaan dan menyebabkan kematian (Ikawati, 2015).

5. Menghambat Keseimbangan Air

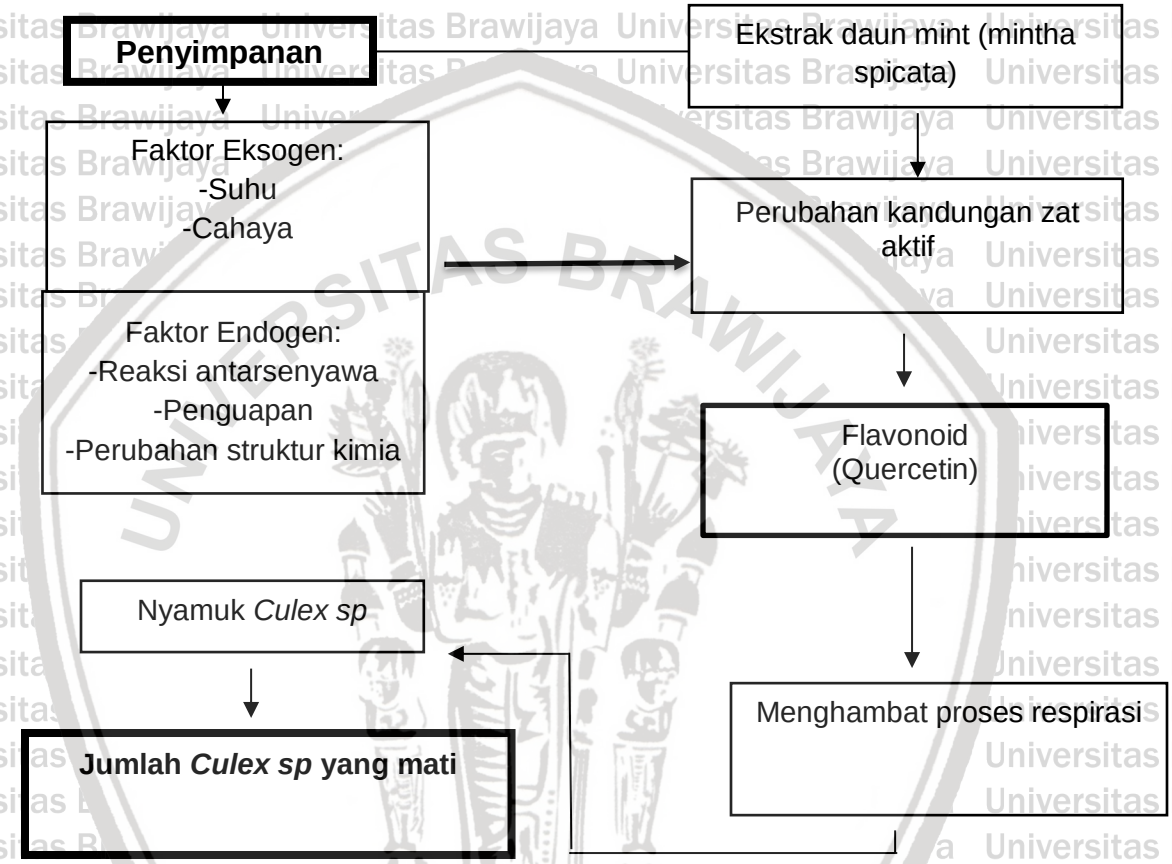
Tubuh serangga dilapisi oleh zat lilin/minyak untuk mencegah hilangnya air dari tubuhnya. Diatom, silica aerogels dan asam borat adalah bahan yang dapat menyerap lilin/lemak, sehingga lapisan lilin akan hilang, serangga akan banyak kehilangan air dan mengalami desikasi dan akhirnya mati (Ikawati, 2015)

Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Keterangan:

: Variabel yang diteliti → : Berpengaruh

: Variabel yang tidak diteliti → : Mengandung

Gambar 3.1 Kerangka Konsep Pengaruh Perubahan Kadar Flavonoid Pada Penyimpanan Ekstrak Etanol Potensinya Sebagai Insektisida Alami terhadap *nyamuk Culex sp* dengan Metode Semprot daun mint (*Mentha Spicata)*

3.2 Kerangka Berpikir

Pada penyimpanan ekstrak etanol daun mint (*Mentha Spicata*) diperkirakan zat aktif dari senyawa yang bersifat insektisida akan terpengaruh oleh faktor eksogen maupun endogen. Faktor eksogen yaitu suhu, cahaya, kelembapan udara, dan faktor endogen yaitu reaksi kimia dan perubahan enzimatis. Salah satu kandungan zat aktif adalah flavonoid yang fungsinya adalah menghambat proses respirasi pada nyamuk. Penurunan kadar zat aktif ini berpengaruh terhadap efektivitasnya sebagai insektisida, akibatnya akan berpengaruh pada potensinya sebagai insektisida. Sehingga pada proses penggunaan ekstrak etanol daun mint (*Mentha Spicata*) sebagai insektisida, lama waktu penyimpanannya akan menyebabkan perubahan pada jumlah kematian nyamuk *Culex sp*

Pada senyawa flavonoid salah satu kandungan zat aktif yang terbesar adalah kuersetin. Oleh karena itu untuk mendeteksi kandungan flavonoid direpresentasikan dengan kandungan kuersetin.

Penggunaan insektisida alami yang terbuat dari daun mint *(Mentha Spicata)* telah terbukti mampu membunuh nyamuk. Pada umumnya pembuatan sediaan ekstrak etanol insektisida alami tidak habis sekali pakai sehingga sisa yang ada biasanya disimpan untuk digunakan kembali. Selama penyimpanan insektisida tersebut, ada beberapa hal yang mempengaruhi potensinya sebagai insektisida. Faktor-faktor eksogen (cahaya, suhu, oksigen udara) dan faktor-faktor endogen (perubahan struktur kimia, penguapan, reaksi antar senyawa) diduga berpengaruh terhadap kadar dan sifat-sifat senyawa zat aktif (flavonoid) yang terkandung dalam insektisida ekstrak etanol daun mint *(Mentha Spicata)*. Perubahan-perubahan sifat fisikokimiawi pada zat aktif tersebut akan berpengaruh terhadap biosintesa dan potensinya sebagai insektisida. Sehingga pada penggunaan ekstrak daun mint sebagai insektisida, pengaruh perubahan kadar zat aktif pada lama waktu penyimpanan akan menyebabkan perubahan pada jumlah nyamuk yang mati.

3.3 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan kerangka konsep di atas, didapatkan hipotesis penelitian bahwa ekstrak etanol daun mint *(Mentha Spicata)* berpengaruh terhadap kadar flavonoid sehingga berpengaruh terhadap potensinya sebagai insektisida alami terhadap nyamuk *Culex sp* yang dinilai dari menurunnya jumlah nyamuk yang mati pada paparan ekstrak daun mint , seiring dengan lama penyimpanan.

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan *true eksperimental-post test control group design* yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh perubahan kadar flavonoid pada penyimpanan ekstrak etanol daun mint *(Mentha Spicata)* terhadap potensinya sebagai insektisida terhadap nyamuk culex sp dengan metode semprot.

4.2 Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi penelitian adalah nyamuk *Culex sp*Sampel adalah bagian dari populasi yang akan diteliti. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah nyamuk (*Culex sp*) yang memenuhi kriteria inklusi.

- Kriteria inklusi penelitian ini adalah nyamuk (*Culex sp*) yang aktif bergerak dengan ukuran yang sama
- Kriteria eksklusi penelitian ini adalah nyamuk (*Culex sp*) yang mati dan tidak aktif bergerak sebelum percobaan dilakukan.

Sampel penelitian ini adalah nyamuk (*Culex sp*) baik jantan maupun betina dewasa. Jumlah sampel nyamuk yang digunakan adalah 10 ekor untuk setiap jenis perlakuan. Jumlah sampel dalam penelitian ini disesuaikan dengan jumlah sampel dari penelitian terhadap nyamuk (*Culex sp*) yang dilakukan oleh amalia (2016).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh amalia (2016) disebutkan bahwa kadar flavonoid pada ekstrak daun mint *(Mentha Spicata)* dengan konsentrasi 5% merupakan konsentrasi terendah yang efektif sebagai insektisida untuk nyamuk. Hasil penelitian tersebut menjadi dasar penelitian pendahuluan untuk menentukan apakah konsentrasi tersebut masih merupakan konsentrasi paling efektif ataukah telah berubah. Penelitian pendahuluan dilakukan dengan menguji beberapa konsentrasi, yakni 2,5%, 5% dan 7,5%. Hasil penelitian pendahuluan akan menentukan konsentrasi ekstrak yang paling efektif sebagai insektisida terhadap *Culex sp.*

Konsentrasi efektif hasil penelitian pendahuluan akan digunakan dalam penelitian utama. Perlakuan yang diberikan pada sampel adalah dengan membagi menjadi 5 kelompok perlakuan dan 2 kelompok kontrol yang terdiri dari:

1. Kontrol negatif dengan menggunakan akuades
2. Kontrol positif, yaitu pemberian insektisida sintesis dengan zat aktif *transflutrin*
3. Perlakuan A, yaitu pemberian ekstrak daun mint (*Mentha Spicata*) dengan konsentrasi a% pada hari ke-1 dari pembuatan ekstrak
4. Perlakuan B, yaitu pemberian ekstrak daun mint (*Mentha Spicata*) dengan konsentrasi a% pada hari ke-2 dari pembuatan ekstrak
5. Perlakuan C, yaitu pemberian ekstrak daun mint (*Mentha Spicata*) dengan konsentrasi a% pada hari ke-3 dari pembuatan ekstrak
6. Perlakuan D, yaitu pemberian ekstrak daun mint (*Mentha Spicata*) dengan konsentrasi a% pada hari ke-4 dari pembuatan ekstrak

7. Perlakuan E, yaitu pemberian ekstrak daun mint (*Mentha Spicata*) dengan konsentrasi a% pada hari ke-5 dari pembuatan ekstrak

Jumlah pengulangan eksperimen yang dilakukan berdasarkan penghitungan rumus (Tjokronegoro, 2004):

$$P(n-1) \geq 15$$

Keterangan :

P : Banyak kelompok perlakuan

n : Jumlah replikasi (pengulangan)

Berdasarkan rumus diatas perhitungan untuk pengulangan perlakuan adalah:

$P(n-1) \geq 15$

$5(n-1) \geq 15$

$5n - 5 \geq 15$

$5n \geq 20$

$n \geq 4$

Berdasarkan rumus di atas, pengulangan yang diperlukan dalam penelitian ini minimal adalah empat kali untuk setiap kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Penelitian ini menggunakan empat tabung kaca yang masing-masing berisi 10 ekor nyamuk *Culex sp* Sehingga jumlah total nyamuk yang dibutuhkan dalam penelitian ini adalah:

- Perhitungan jumlah sampel pada penelitian pendahulan :

10 ekor nyamuk x 3 kelompok perlakuan x 4 kali pengulangan = 120 ekor nyamuk Culex sp

- Penghitungan jumlah sampel pada penelitian utama

10 ekor nyamuk x 2 kelompok perlakuan (kontrol positif, kontrol negatif) x 5 hari = 100 ekor nyamuk *Culex sp*

10 ekor nyamuk x 5 kelompok perlakuan x 4 kali pengulangan = 200 ekor nyamuk *Culex sp*

Total : penelitian pendahulan + penelitian utama

120 + 100 + 200 = 420 ekor nyamuk *Culex sp*

Setiap pengulangan membutuhkan 10 ekor nyamuk *Culex sp* pada setiap kandang. Setelah nyamuk diberi perlakuan, dilakukan pencatatan pengaruh ekstrak sebelum dan setelah disimpan mulai hari ke-2 sampai dengan hari ke- 5 terhadap kematian nyamuk.

4.3 Variabel Penelitian

Ada beberapa variabel dalam penelitian ini, yaitu :

1. Variabel Independen (variabel bebas)
   - Lama penyimpanan ekstrak etanol daun mint (*Mentha Spicata)* dalam satuan hari
   - Kadar flavonoid yang terkandung di dalam ektrak etanol daun mint (*mentha spicata)* yang disimpan
2. Variabel Dependen (variabel tergantung)
   - Jumlah nyamuk (*Culex sp*) yang mati pada lama penyimpanan eksktrak etanol daun mint

4.4 Tempat dan Waktu Pelaksanaan Penelitian

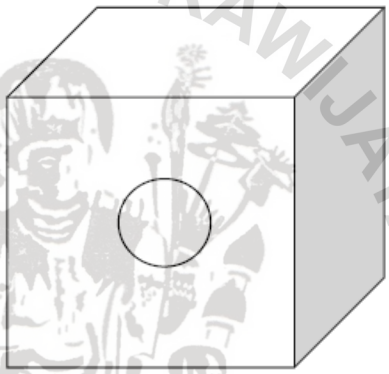
Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang dimulai pada bulan oktober 2017 hingga selesai nya penelitian.

4.5 Definisi Operasional

Definisi operasional dalam penelitian ini adalah:

- Tanaman daun mint *(Mentha Spicata)* yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari daerah Malang, Jawa Timur. Ekstrak etanol daun mint *(Mentha Spicata)* adalah daun mint yang sudah dikeringkan yang kemudian diekstraksi dengan pelarut etanol dan dianggap memiliki kandungan ekstrak 100%.
- Kontrol positif pada penelitian ini adalah insektisida sintesis dengan zat aktif *transflutrin*
- Kontrol negatif pada penelitian ini adalah akuades
- Kelompok perlakuan pada penelitian ini adalah lama penyimpanan ekstrak etanol daun mint *(Mentha Spicata)*
- Penyimpanan ekstrak daun mint *(Mentha Spicata)* dilakukan pada suhu ruang di dalam ruangan yang berada di laboratorium parasitologi.
- Kadar flavonoid dalam ekstrak etanol daun mint *(Mentha Spicata)* yang telah melalui proses penyimpanan, direpresentasikan dengan kadar kuersetin.

- Nyamuk *Culex sp* yang digunakan dalam penelitian ini di peroleh dari dinas kesehatan jawa timur dengan ukuran nyamuk yang sama.
- Kotak sangkar kaca adalah kotak berukuran 25 cm x 25 cm x 25 cm yang dibuat dengan memodifikasi sangkar dan menempelkan kaca pada semua sisi. Pada satu sisi dibuat lubang untuk tempat tangan masuk untuk menghindari nyamuk keluar dari kotak tersebut (Brown,1964).



Gambar 4.1 Kandang tempat nyamuk Culex sp berukuran 25x25x25 cm

- Efektivitas kandungan kadar flavonoid sebagai insektisida diukur dengan menghitung penurunan jumlah nyamuk yang mat disemprot dengan ekstrak etanol daun mint *(Mentha Spicata)* yang dikorelasikan dengan kadar flavonoid pada setiap lama waktu penyimpanan
- Kriteria nyamuk mati: bila dilakukan sentuhan atau gangguan pada bagian abdomen maupun bagian tubuh yang lain pada nyamuk dan tidak didapatkan pergerakan nyamuk tersebut.

- Metode semprot adalah metode pemberian insektisida menggunakan *sprayer* yang nantinya ekstrak di dalam *sprayer* tersebut akan disemprotkan ke dalam kandang untuk membasmi insekta yang ada.

4.6 Instrumen Penelitian

Penelitian ini menggunakan empat kelompok alat. Kelompok pertama adalah alat-alat yang digunakan untuk pembuatan ekstrak daun mint (*Mentha Spicata*) Kelompok kedua adalah alat-alat yang digunakan untuk penempatan nyamuk (*culex sp,*). Kelompok ketiga adalah alat-alat yang digunakan untuk uji potensi ekstrak daun mint (*Mentha Spicata*) terhadap nyamuk *Culex sp* dilihat dari lama penyimpanannya. Dan kelompok keempat adalah alat-alat yang digunakan untuk pemeriksaan kadar flavonoid.

4.6.1 Alat-alat Ekstraksi Flavonoid Pada daun mint *(Mentha Spicata)*

No.	Bahan Penelitian	Fungsi	Keterangan
1	Blender	Menghaluskan daun mint	
2	*Beker glass / Erlenmeyer flask*	• Merendam bubuk ekstrak daun mint *(Mentha Spicata)*.	1 Liter
3	Timbangan	Untuk menimbang	Satuan gram
4	Kertas Saring	Memisahkan bubuk ekstrak dan pelarut	Saringan whatman no 40

5	1 set alat evaporasi	Menghilangkan sisa pelarut	
6	Oven	Menghilangkan sisa pelarut	40°C – 50°C
7	Lemari pendingin	Untuk menyimpan ekstrak daun mint	4°C
8	Plat tetes	Untuk pemeriksaan keberadaan senyawa fenolat	
9	Tabung reaksi	Untuk mencampurkan bahan	
10	Spektrofotometer UV-Vis	Untuk pembuatan kurva kalibrasi kuersetin dan penentuan flavonoid total	Panjang gelombang 510nm
11	Sangkar Kaca	Sebagai tempat melakukan penelitian	25cm x 25cm x 25cm
12	*Sprayer*	Alat menyemprotkan ekstrak ke kandang	Semprotan parfum ukuran 10ml
13	*Timer*	Menghitung waktu penelitian	Jam Tangan/HP
14	Gelas Ukur	Wadah esktrak	25 ml
15	*Spuit*	Mengambil bahan	

4.6.2 Alat-alat Untuk Persiapan Nyamuk (Culex sp)

No.	Bahan Penelitian	Fungsi	Keterangan
1	Sangkar Kaca	Tempat melakukan penelitian	25cm x 25cm x 25cm
2	Jaring Serangga	Menyimpan serangga	

4.6.3 Alat-alat Untuk Uji Ekstraksi Daun mint terhadap Nyamuk *Culex sp*

No.	Bahan Penelitian	Fungsi	Keterangan
1	Sangkar Kaca	Tempat melakukan penelitian	25cm x 25cm x 25cm
2	*Sprayer*	Menyemprotkan ekstrak ke kandang	Semprotan parfum ukuran 10ml
3	*Timer*	Menghitung waktu penelitian	Jam Tangan/HP
4	Gelas Ukur	Wadah esktrak	25 ml
5	*Spuit*	Mengambil bahan	

4.6.4 Alat-alat Untuk Uji Kadar Flavonoid

No.	Bahan Penelitian	Fungsi	Keterangan
1	Tabung falcon	Wadah untuk mencampurkan bahan kuersetin dengan akuades	Ukuran 15 ml dan 50 ml

2	Timbangan	Menimbang bahan yang dibutuhkan	
3	Sendok/ alat pengaduk	Mengambil dan mengaduk bahan	
4	*Spuit*	Mengambil bahan	3 cc dan 10 cc
5	Pipet	Mengambil bahan	
6	Tabung Reaksi	Wadah untuk mencampurkan bahan	
7	Rak	Meletakkan tabung falcon dan reaksi	
8	Spektrofotometer *UV-Vis*	Mengukur kadar quercetin	panjang gelombang 510 mm

4.7 Bahan-bahan Penelitian

Penelitian ini menggunakan empat kelompok bahan, yakni:

- Kelompok pertama merupakan bahan-bahan yang digunakan untuk pembuatan ekstrak daun mint *(Mentha Spicata)*
- Kelompok kedua adalah bahan-bahan yang digunakan untuk mempersiapkan nyamuk *Culex sp*
- Kelompok ketiga adalah bahan-bahan yang digunakan untuk menguji perubahan kadar flavonoid pada penyimpanan ekstrak etanol daun

mint (Mentha Spicata) terhadap potensinya sebagai insektisida alami terhadap nyamuk *Culex sp* dengan metode semprot

- Kelompok keempat adalah bahan-bahan yang digunakan untuk uji flavonoid

4.7.1 Bahan-bahan ekstraksi tanaman daun mint

- Tanaman daun mint *(Mentha Spicata)* diperoleh di kota Malang
- Etanol 96% sebagai pelarut ekstrak

4.7.2 Bahan-bahan untuk persiapan nyamuk *Culex sp*

- Larutan glukosa 10%

4.7.3 Bahan-bahan untuk uji ekstrak daun mint terhadap nyamuk *Culex sp* dilihat dari lama penyimpanannya

- Ekstrak etanol 96% daun mint *(Mentha Spicata)*
- Nyamuk (*Culex sp)*
- *Akuades*

4.7.4 Bahan-bahan untuk uji flavonoid (quercetin)

- Ekstrak etanol daun mint *(Mentha Spicata)*
- *Akuades*
- Quercetin
- $NaNO_2$
- NaOH
- $AlCl_3$

4.8. Persiapan Penelitian

4.8.1 Ekstraksi dan Evaporasi Daun mint

4.8.1.1 Proses Ekstraksi

Proses ekstraksi daun mint *(Mentha Spicata)* dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% dikarenakan pelarut etanol larut dalam air. Metode ini merupakan salah satu cara untuk memisahkan campuran padat-cair. Prinsip yang dilakukan adalah pemanasan (penguapan), kondensasi, dan proses pengekstrakan. Adapun prosesnya sebagai berikut:

1. Daun mint *(Mentha Spicata)* yang digunakan dicuci dengan air bersih yang mengalir.
2. Daun mint *(Mentha Spicata)* yang sudah dicuci kemudian diiris tipis dan dikeringkan di bawah sinar matahari lalu dimasukkan ke dalam oven agar daun mint *(Mentha Spicata)* tersebut menjadi kering sempurna dengan suhu oven 70ºC.
3. Daun mint *(Mentha Spicata)* dihaluskan menggunakan blender sehingga didapatkan serbuk dan ditimbang hasilnya 100gram.
4. Serbuk daun mint *(Mentha Spicata)* dimasukkan ke dalam *Erlenmeyer flask* 1L untuk direndam dengan etanol selama satu minggu.
5. Hasil ini selanjutnya akan dievaporasi untuk memisahkan daun mint *(Mentha Spicata)* dengan pelarut etanol

4.8.1.2 Proses Evaporasi

Proses evaporasi bertujuan memisahkan hasil ekstrak yang telah didapat dengan pelarut etanolnya. Prosesnya adalah sebagai berikut:

1. Ambil lapisan atas campuran etanol dengan zat aktif yang sudah terambil.
2. Masukkan ke dalam labu evaporator 1 liter dan isi *water bath* dengan air sampai penuh.
3. Alat evaporasi seperti alat pemanas air, labu penampung hasil evaporasi, *rotary evaporator*, dan tabung pendingin dirangkai sehingga membentuk sudut 30º-40º dari bawah ke atas. Tabung pendingin dihubungkan dengan alat pompa sirkulasi air dingin yang terhubung dengan bak air dingin melalui pipa plastik dan pompa vakum serta labu hasil penguapan.
4. Setelah terhubung, lalu semua alat dinyalakan. Atur *water bath* sampai 90˚ C agar larutan etanol menguap.
5. Biarkan larutan etanol memisah dengan zat aktif yang sudah ada dalam labu.
6. Hasil penguapan etanol akan dikondensasikan menuju labu penampung etanol sehingga tidak tercampur dengan hasil evaporasi, sedangkan uap yang lain disedot dengan alat pompa vakum.
7. Tunggu sampai aliran etanol berhenti menetes pada labu penampung (± 1,5 sampai 2 jam untuk satu labu).

8. Hasil evaporasi kemudian ditampung dalam cawan penguap kemudian di oven pada suhu 50-60˚ C selama 1-2 jam, untuk menguapkan pelarut yang tersisa sehingga didapatkan hasil ekstrak daun mint 100%.
9. Hasil yang diperoleh kira-kira 1/3 dari bahan alam kering (Martono, 2002).

4.8.1.*3 Uji Kadar *Flavonoid melalui perbandingan Quersetin pada Flavonoid

Untuk menguji adanya kadar flavonoid, penentuan kurva kalibrasi Quersetin pada flavonoid, dan penentuan flavonoid total dilakukan tahapan-tahapan sebagai berikut

1. Masukkan sedikit ekstrak etanol daun mint *(Mentha Spicata)* kedalam tabung reaksi
2. Tambahkan sedikit bubuk logam Mg serta beberapa tetes asam klorida (HCl) pekat. Jika menunjukkan hasil reaksi positif maka akan terbentuk warna kuning-orange.
3. Buat larutan Quersetin (dalam metanol) dalam konsentrasi 700, 800, 900, 1000, dan 1100 mg/L.
4. Reaksikan 0,5 mL larutan dari berbagai konsentrasi dengan 2 mL akuades dan 0.15 mL $NaNO_2$ 5% kemudian diamkan selama 6 menit.
5. Tambahkan 0.15 mL $AlCl_3$ 10% kedalam larutan, kemudian diamkan kembali selama 6 menit.
6. Reaksikan larutan dengan 2 mL NaOH 4%, kemudian encerkan hingga volume total mencapai 5 mL dan didiamkan kembali selama 15 menit.

7. Absorbansi dari larutan standar diukur dengan gelombang 510 mm menggunakan *spektrofotometer UV-Vis*. Kurva standar dihasilkan dari hubungan konsentrasi quersetin (mg/L) dengan absorbansi.
8. Reaksikan 0.5 mL dari masing-masing larutan ekstrak dengan 2 ml akuades dan 0,15 mL $NaNO_2$. Kemudian diamkan selama 6 menit.
9. Tambahkan 0,15 mL $AlCl_3$ 10% ke dalam larutan, diamkan kembali selama 6 menit.
10. Reaksikan larutan dengan 2 mL NaOH 4% kemudian dienccerkan hingga volume total mencapai 5 mL dan didiamkan selama 15 menit.
11. Ukur absorbansi dari larutan ekstrak pada panjang gelombang 510 nm menggunakan *spektrofotometer UV-Vis*. Pengukuran juga dilakukan terhadap blanko berupa akuades. Kandungan flavonoid total dinyatakan sebagai jumlah x kuarsetin ekuivalen tiap x ekstrak.

4.8.2 Persiapan Nyamuk (Culex sp)

Nyamuk *Culex sp)* yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari dinas kesehatan provinsi jawa timur yang dimasukkan ke kandang jaring pada hari dan waktu yang sama. Nyamuk (*Culex sp*) yang telah diidentifikasi sebelumnya diletakkan dalam sangkar kaca yang telah disediakan untuk kemudian digunakan sebagai sampel penelitian.

4.10 Pengumpulan Data

Data hasil yang telah diperoleh dari penelitian dimasukkan kedalam tabel dan diklasifikasikan menurut jumlah nyamuk yang mati, pengulangan, dan waktu lama penyimpanan. Hasil tersebut akan diuji dengan uji statistik.

4.9 Pelaksanaan Penelitian

4.9.1 Pembuatan Konsentrasi Larutan

Ekstrak etanol daun mint yang tersimpan di lemari pendingin disesuaikan suhunya dengan suhu ruangan dengan cara membiarkan di suhu ruangan selama 15 menit dan dianggap memiliki konsentrasi 100%. Larutan stok ekstrak daun mint kemudian diencerkan dengan larutan *akuades* sehingga didapatkan dosis yang diinginkan dengan menggunakan rumus pengenceran:

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

Keterangan:

M1 : Konsentrasi larutan stok yang besarnya 100%

M2 : Konsentrasi larutan yang diinginkan

V1 : Volume larutan stok yang harus dilarutkan

V2 : Volume larutan perlakuan

Cara pembuatan dosis larutan pada perlakuan yang diinginkan adalah sebagai berikut :

Misal untuk membuat Larutan 5% sebanyak 5ml, dibutuhkan larutan stok sebanyak :

100% x V1 = 5% x 5ml

V1 = 0,25ml

Larutan stock 0,3 ml kemudian dilarutkan dengan 3,7ml pelarut sehingga didapatkan jumlah volume total sebanyak 4ml.

4.9.2 Penelitian Pendahuluan

Sebelum dilakukan penelitian utama akan dilakukan penelitian pendahuluan yang bertujuan untuk mengkonfirmasi pengaruh lama penyimpanan efektivitas konsentrasi ekstrak daun mint (*Mentha Spicata)* berdasarkan penelitian sebelumnya dimana konsentrasi terendah yang efektif sebagai insektisida untuk nyamuk (Culex sp) adalah 5%. Penelitian pendahuluan ini akan menggunakan tiga konsentrasi yaitu 2.5%, 5%, dan 7.5%, dan dilakukan dengan pengulangan sebanyak 4 kali.

4.9.3 Prosedur Penelitian

1. Siapkan empat sangkar kaca untuk uji insektisida.
2. Masukkan nyamuk (*Culex sp.*) sebanyak 10 ekor ke dalam masing-masing sangkar kaca yang akan diteliti.
3. Siapkan alat-alat yang akan digunakan untuk membuat larutan penguji antara lain: gelas ukur dan *sprayer*.
4. Siapkan stok larutan uji disiapkan dalam konsentrasi a% serta kontrol negatif dan kontrol positif.
5. Larutan uji yang telah disiapkan dimasukkan ke dalam gelas ukur 5 ml.
6. Dengan menggunakan sprayer, larutan dengan konsentrasi tersebut serta kontrol negatif dan kontrol positif kemudian disemprotkan ke dalam sangkar nyamuk sebanyak 4 ml.
7. Pengamatan terhadap perlakuan dilakukan 24 jam setelah waktu penyemprotan selesai dan diamati pada hari ke-1, 2, 3, 4 dan 5 serta dihitung jumlah nyamuk yang mati.

8. Pengulangan dilakukan sebanyak 4 kali pada masing-masing perlakuan.

4.11 Tabulasi Data

Persentasi kemampuan ekstrak daun mint sebagai insektisida dihitung menggunakan formula Abbot dengan rumus (Boesri dkk, 2005):

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

Keterangan:

A1: Persentase kematian nyamuk setelah koreksi.

A: Persentase kematian nyamuk uji.

B: Persentase kematian nyamuk kontrol positif.

4.12 Analisis Data

Data-data yang telah dikelompokkan dan ditabulasi kemudian dilakukan analisis statistic dengan menggunakan fasilitas SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*) 16.0 for *Windows* dengan tingkat signifikansi atau nilai probabilitas 0,05 (p = 0,05) dan taraf kepercayaan 95% (α = 0,05).

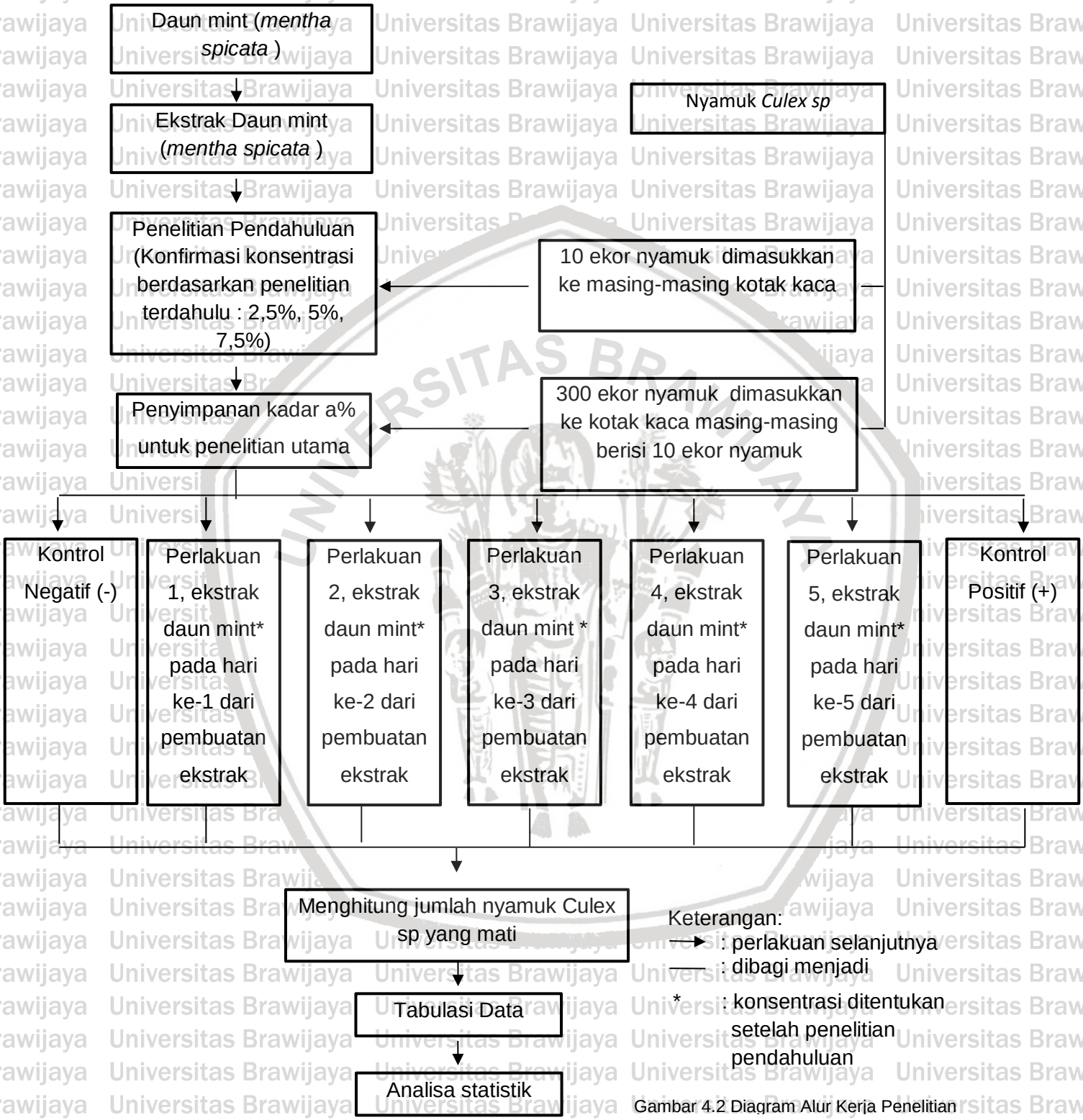
Untuk mengetahui apakah terdapat keragaman antar perlakuan dilakukan uji hipotesis komparatif. Metode yang dapat digunakan yaitu uji *One-way ANOVA* dengan alternatifnya yaitu uji *Kruskal-Wallis*. Metode *One-way ANOVA* (*Analysis of Variance*) dapat digunakan jika data memenuhi syarat-syarat sebagai berikut (Dahlan, 2004),

1. Terdapat lebih dari dua kelompok yang tidak berpasangan.

2. Distribusi data normal, yang dapat diketahui dari uji normalitas (*Kolmogorov-Smirnov*). Jika distribusi data tidak normal, maka diupayakan untuk melakukan transformasi data supaya distribusi data menjadi normal.
3. Varians data sama atau homogen, yang dapat diketahui dari uji homogenitas. Jika varians data tidak sama atau homogen, maka diupayakan untuk melakukan transformasi data supaya varians data menjadi sama atau homogen.
4. Jika data hasil transformasi tidak berdistribusi normal atau varians tetap tidak sama, maka alternatifnya dipilih uji *Kruskal-Wallis*.

Jika pada uji *One-way ANOVA* atau *Kruskal-Wallis* juga didapatkan nilai $p<0,05$, maka dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh perbedaan hari penyimpanan terhadap potensi insektisida. Kemudian untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda dilakukan *post-hoc test* dengan uji *Tukey HSD* untuk data yang menggunakan uji *One-way* ANOVA dan uji *Mann-Whitney* untuk data yang menggunakan uji *Kruskal-Wallis* (Dahlan, 2004). Kemudian untuk mengetahui apakah terdapat korelasi antara perbedaan lama waktu penyimpanan dengan besarnya potensi flavonoid sebagai insektisida pada ekstrak etanol daun mint dilakukan uji korelasi *Pearson* atau *Spearman* (Dahlan, 2004). Untuk menguji besarnya pengaruh faktor lama waktu penyimpanan dengan penurunan kadar flavonoid dan masing-masing faktor terhadap jumlah kematian nyamuk dilakukan dengan uji regresi.

4.11 Diagram Alur Kerja Penelitian



Gambar 4.2 Diagram Alur Kerja Penelitian

BAB 5

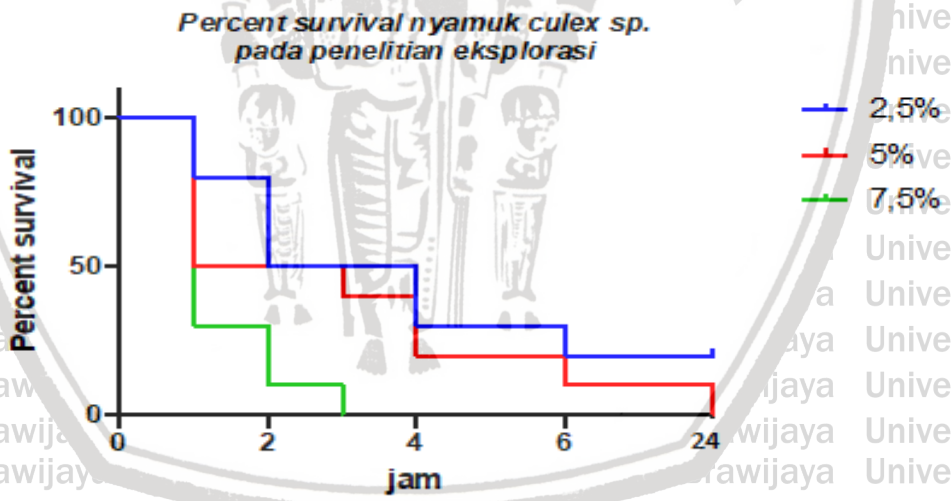
HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 HASIL PENELITIAN PENDAHULUAN

Pada penelitian pengaruh perubahan kadar flavonoid pada penyimpanan ekstrak etanol daun mint (*Mentha Spicata)* terhadap potensinya sebagai insektisida terhadap nyamuk *Culex sp* Dengan metode semprot telah di lakukan uji eksplorasi atau penelitian pendahuluan sebagai dasar pemilihan konsentrasi yang akan digunakan pada penelitian utama dan untuk dapat menentukan konsentrasi terkecil untuk dapat membunuh nyamuk *Culex sp* secara optimal. maka di dapatkan tiga konsentrasi ekstrak daun mint *(Mentha Spicata*) yaitu 2,5% , 5% dan 7,5% . pembanding yang gunakan untuk kontrol + yaitu malation dan sebagai kontrol – digunakan aquades . pada masing-masing kandang nyamuk *Culex sp* di masukan 10 ekor. Nyamuk *Culex sp* di nyatakan mati apabila nyamuk tidak terbang lagi dan tidak ada lagi pergerakan dari nyamuk ketika di rangsang dengan sentuhan. perhitungan jumlah nyamuk yang mati di amati jam ke -1,2,3,4,5,6 dan setelah 24 jam. pada jam ke-7 sampai jam ke-23 tidak di amati karena keterbatasan izin penggunaan sarana dan kemampuan peneliti . hasil dari penelitian yang di lakukan sebagaimana berikut ini tertera pada tabel 5.1.

Tabel 5.1 jumlah nyamuk Culex sp yang mati pada penelitian eksplorasi

WAKTU	EKSTRAK 2, 5 %	EKSTRAK 5%	EKSTRAK 7,5 %
1 jam	2	5	7
2 jam	5	5	7
3 jam	5	6	9
4 jam	7	8	10
5 jam	7	8	10
6 jam	8	9	10
24 jam	9	10	10



Gambar 5.1 percent survival nyamuk culex eksplorasi

Dari data tabel dan gambar 5.1, maka dapat di simpulkan bahwa konsentrasi 5% adalah konsentrasi minimal yang dapat di gunakan untuk membunuh nyamuk

Culex sp secara maksimal. Sehingga atas dasar ini ,maka konsentrasi 5% daun mint (*Mentha Spicata)* yang di jadikan sebagai konsentrasi pada penelitian ini.

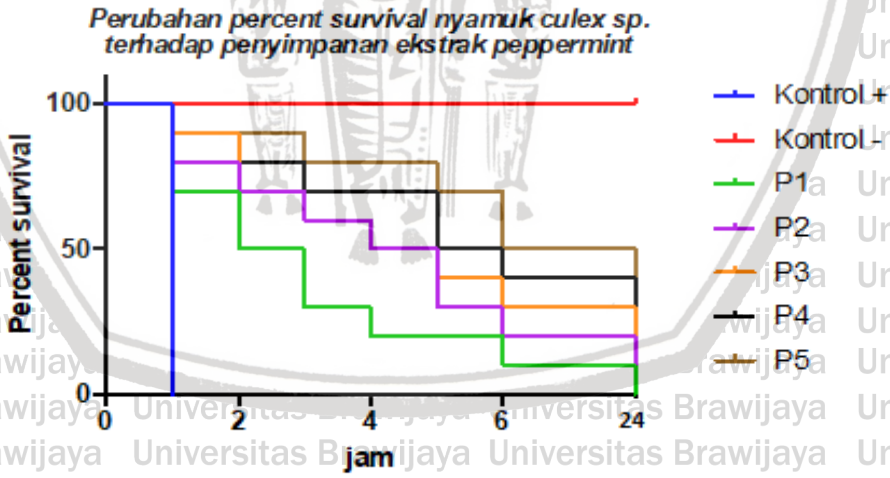
5.2 Hasil Penelitian Antara Lama Penyimpanan Ekstrak Etanol Daun Mint terhadap Potensinya sebagai Insektisida terhadap Nyamuk Culex sp

Dalam penelitian ini dilakukan pengamatan pada pengaruh perubahan kadar flavonoid pada penyimpanan ekstrak etanol daun mint *(Mentha Spicata)* terhadap potensinya sebagai insektisida dengan konsentrasi tetap 5% terhadap jumlah nyamuk *Culex sp* yang mati.

Penelitian mengenai efek lama penyimpanan ekstrak daun mint (*Mentha Spicata)* terhadap potensinya sebagai insektisida terhadap nyamuk *Culex sp* dengan konsentrasi 5%. Penelittian ini di lakukan selama 5 hari, di mulai dengan perlakuan hari pertama dengan menggunakan ekstrak daun mint dengan lama penyimpanan kurang dari 1 hari (perlakuan di lakukan segera setelah proses pembuatan ekstrak selesai). Penelitian ini menggunakan enam kotak kaca yang masing-masing berisi 10 ekor nyamuk *Culex sp* ekstrak daun mint di simpan selama 2 hari , 3 hari , 4 hari dan 5 hari dengan suhu ruang. Jumlah nyamuk *Culex sp* yang mati di amati selama jam ke-1 ,2,3,4,5,6 dan 24 jam perlakuan tersebut di ulang sebanyak empat kali. Setelah di lakukan penelitian untuk melihat lama pengaruh lama penyimpanan ekstrak daun mint terhadap nyamuk *Culex sp* yang mati , di dapatkan hasil penelitian adalah sebagaimana berikut tertera pada tabel 5.2

Tabel 5.2 jumlah nyamuk Culex sp yang mati pada pemberian ekstrak etanol daun mint dengan konsentrasi yang sama yaitu 5% setelah di rata-rata

Jam ke	Kontrol +	Kontrol -	P1	P2	P3	P4	P5
1	10	0	3,5	2,5	1,5	1,25	0,75
2	10	0	4,75	3,25	2,75	2,5	1,5
3	10	0	6,75	4,5	3,75	3,25	2
4	10	0	7,75	5,25	5	3,5	2,5
5	10	0	8,5	6,75	5,75	4,75	3,5
6	10	0	9,25	7,75	6,75	5,75	4,75
24	10	0	10	10	10	10	10



Gambar 5.2 perubahan percent survival nyamuk pada penyimpanan ekstrak

Berdasarkan data tabel di atas bahwa terjadi penurunan waktu kematian nyamuk *Culex sp* seiring dengan bertambahnya hari penyimpanan ekstrak daun mint *(Mentha Spicata).*

5.3 Analisa data

Hasil penelitian dianalisis dengan menggunakan bantuan program SPSS versi 16. Hasil analisis yang di dapat berupa output program yang tercantum pada bagian lampiran. Adapun penjelasan berdasarkan output tersebut di jelaskan sebagai berikut. Penelitian ini menggunakan variabel numerik dengan satu faktor yang ingin di ketahui yaitu faktor perlakuan (ekstrak daun mint *(Mentha Spicata*) dengan konsentrasi 5%) pada setiap waktu lama penyimpanan. Pengujian statistik yang akan di gunakan adalah uji One-Way ANOVA.berikut ini adalah langkah-langkah yang harus di lakukan untuk melakukan analisis data (Dahlan,2004)

1. Memeriksa syarat uji *One-Way ANOVA* yang meliputi uji distribusi data untuk normalitas dan homogenitas ragam data . Apabila salah satu atau kedua asumsi tidak terpenuhi maka uji *One-Way ANOVA* tidak boleh dilakukan dan digantikan dengan uji nonparametrik khususnya uji *Kruskal-Wallis*
2. Melakukan uji *One-Way ANOVA* , untuk mengetahui penurunan potensi insektisida dalam beberapa hari lama penyimpanan yang di lihat dari jumlah kematian nyamuk pada setiap waktu pengamatan. Pada penelitian ini di lakukan 4 kali pengulangan maka dengan menggunakan metode *One-Way* ANOVA dapat memperkecil tingkat kesalahan.

3. Analisa *Post hoc Test (turkey Test),* merupakan analisis lanjutan dalam uji *One-Way ANOVA* untuk melihat adanya perbedaan yang lebih spesifik antara lama waktu penyimpanan terhadap potensi ekstrak daun mint. Jika data non parametrik maka dilakukan uji *Mann Whitney.*
4. Uji korelasi, dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui hubungan lama waktu penyimpanan dan potensi ekstrak daun mint sebagai insektisida terhadap nyamuk *Culex sp* jika data parametrik maka dilakukan uji korelasi pearson. Jika data non parametrik maka dilakukan uji korelasi *spearman.*

5.4 Analisis potensi insektisida ekstrak etanol daun mint *(Mentha Spicata)* terhadap kematian nyamuk Culex sp

5.4.1 Uji Asumsi Data

Pengujian asumsi terhadap data hasil penelitian harus dilakukan sebelum pengujian statistik khususnya uji *One-Way ANOVA* dilakukan. Pengujian asumsi tersebut adalah uji tentang normalitas dan homogenitas keragaman distribusi data. Untuk syarat uji *One-Way ANOVA* distribusi harus normal dan ragam datanya homogen. Berikut ini penjelasan dari hasil analisis yang telah dilakukan.

5.4.2 Uji Normalitas

Sebelum melakukan pengujian menggunakan statistika inferensial, di perlukan pemenuhan terhadap asumsi kenormalan data. Distribusi normal merupakan distribusi teoritis dari variabel random yang kontinu. Kurva yang menggambarkan distribusi normal adalah kurva normal yang berbentuk simetris. Untuk menguji apakah sampel penelitian merupakan jenis distribusi normal maka

digunakan pengujian *Shapiro-Wilk* terhadap masing-masing variabel. Berdasarkan hasil pengujian distribusi normal data penelitian menggunakan metode *Shapiro-Wilk* ,terlihat bahwa data yang di uji yaitu data potensi insektisida ekstrak daun mint (*Mentha Spicata*) terhadap nyamuk *Culex sp* yang mati menunjukan nilai signifikansi (*p-value*) sebesar 0,304. Hal tersebut menunjukan bahwa nilai signifikan yang beragam tersebut lebih besar alpha yang digunakan (0,05) sehingga dapat di simpulkan data penelitian di atas berdistribusi normal,dengan kata lain dapat di simpulkan asumsi normalitas data terpenuhi .

Tabel 5.4 Uji Normalitas

	Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	Df	Sig.
Residual for Y	.084	30	.200*	.962	30	.340

*. This is a lower bound of the true significance.
a. Lilliefors Significance Correction

5.4.3 Uji homogenitas

Uji kehomogenan (kesamaan) ragam data dapat di lakukan dengan mengunakan uji levene *(levene test homogenity of variance).* Dasar pengambilan keputusan yang di gunakan adalah dengan mengunakan nilai signifikansi (*p-value*),di mana *p-value* yang lebih besar dari alpha (0,050) menunjukan ragam data

antar perlakuan adalah homogen. Bila kurang dari (0,050) maka data di katakan tidak homogen

Berdasarkan hasil analisis yang di lakukan di dapatkan hasil pengujian homogenitas ragam dimana nilai signifikansi *(p-value)* di dapatkan sebesar (0,711) lebih besar dari alpha (0,050) sehingga dapat di simpulkan bahwa ragam data anta perlakuan yang di amati adalah homogen .

Tabel 5.5 Uji homogenitas

F	df1	df2	Sig.
.536	4	25	.711

Dependent Variable: Kematian Nyamuk
Levene's Test of Equality of Error Variances[a]
Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

Karena hasil data yang di dapat memenuhi uji normalitas dan uji homogenitas maka pengujian dapat di lanjutkan dengan menggunakan uji parametrik One-Way ANOVA.

5.4.4 Uji One-Way ANOVA

Data yang telah dikumpulkan dianalisis menggunakan uji *One-Way ANOVA* dengan tujuan untuk mengetahui apakah ada atau tidaknya perbedaan yang signifikan antara lama penyimpanan ekstrak etanol daun mint dengan potensinya sebagai insektisida terhadap nyamuk *Culex sp* yang mati. Hipotesis (H0) awal yang digunakan dalam pengujian ini adalah tidak terdapat pengaruh yang signifikan pada

lama penyimpanan ekstrak daun mint selama lima hari dengan potensinya sebagai insektisida . Hipotesis alternatif (H1) adalah terdapat pengaruh yang signifikan pada lama penyimpanan ekstrak daun mint selama lima hari dengan potensi sebagai insektisida. Dasar pengambilan keputusan berdasarkan hipotesis yang di ajukan adalah dengan menggunakan nilai signifikansi (*p-value*),di mana *p-value* yang lebih kecil dari alpha (0,05) menunjukan bahwa hipotesis h1 diterima dan hipotesis h0 di tolak

Tabel 5.6 Uji One-Way ANOVA

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	61.950[a]	4	15.487	4.431	.008
Intercept	580.800	1	580.800	166.180	.000
X	61.950	4	15.487	4.431	.008
Error	87.375	25	3.495		
Total	730.125	30			
Corrected Total	149.325	29			

Tests of Between-Subjects Effects
Dependent Variable: Kematian Nyamuk
a. R Squared = .415 (Adjusted R Squared = .321)

Berdasarkan hasil analisis uji One-Way ANOVA tersebut diperoleh nilai signifikansi dari lama penyimpanan ekstrak daun mint sebagai insektisida terhadap nyamuk *Culex sp* sebesar 0,008 (p<0,05). Hal tersebut menunjukkan bahwa nilai signifikansi dari setiap waktu pengamatan lebih kecil dari alpha (0,05) maka nilai H0 di tolak dan H1 dapat di terima.sehingga dapat di simpulkan bahwa terdapat

perbedaan signifikan antar kelompok minimal antar dua kelompok pada lama penyimpanan ekstrak etanol daun mint selama lima hari dengan potensinya sebagai insektisida .

5.5 Pengujian Berganda *(multiple comparisons)*

Dengan ditemukannya pengaruh signifikan pada lama penyimpanan ekstrak etanol daun mint selama lima hari dengan potensinya sebagai insektisida, maka dilakukan pengujian lebih lanjut untuk mengetahui perbedaan yang lebih spesifik antara lama waktu penyimpanan terhadap potensi ekstrak etanol daun mint. Metode *post hoc test* dilakukan sebagai uji pembandingan berganda (*Multiple Comparison*) menggunakan uji *Tukey.*

Tabel 5.7 Uji Tukey HSD

Lama Penyimpanan	N	Subset	
		1	2
Hari ke-5	6	2.5000	
Hari ke-4	6	3.5000	
Hari ke-3	6	4.2500	4.2500
Hari ke-2	6	5.0000	5.0000
Hari ke-1	6		6.7500
Sig.		.173	.173

Tukey HSDa,b

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 3.495.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.

b. Alpha = .05.

Hasil uji *post hoc* menunjukan bahwa terdapat Hasil analisis di atas menginformasikan bahwa kematian nyamuk pada hari ke-5 yang paling rendah dan berbeda signifikan dengan kematian nyamuk pada hari ke-1, namun berbeda tidak

signifikan dengan kematian nyamuk pada hari ke-2, hari ke-3, dan hari ke-4. Sedangkan kematian nyamuk pada hari ke 1 yang paling tinggi dan berbeda signifikan dengan kematian nyamuk pada hari ke-4 dan ke-5, namun tidak berbeda signifikan dengan kematian nyamuk pada hari ke-2 dan hari ke-3. Sehingga dapat di simpulkan dari hasil analisis statistik bahwa hubungan lama penyimpanan yang signifikan terhadap potensi ekstrak etanol daun mint mulai pada hari ke-4.

1.6 Uji Korelasi *Rank Spearman*

Pengujian kenormalan data lama penyimpanan ekstrak etanol daun mint *(Mentha Spicata)* dan kematian nyamuk dimaksudkan untuk mengetahui normal tidaknya data lama penyimpanan ekstrak etanol daun mint *(Mentha Spicata)* dan kematian nyamuk. Pengujian kenormalan data dilakukan menggunakan *Shapiro Wilk*, dengan kriteria apabila nilai signifikan > *0,05* maka data tersebut dinyatakan normal. Hasil pengujian normalitas data lama penyimpanan ekstrak etanol daun mint (*Mentha Spicata*) dan kematian nyamuk.

Tabel 5.8 Pengujian Asumsi Normalitas Data

	Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Lama Penyimpanan	.157	30	.059	.891	30	.005
Kematian Nyamuk	.121	30	.200*	.964	30	.398

Tests of Normality

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Berdasarkan tabel di atas dapat diketahui bahwa pengujian normalitas data lama penyimpanan ekstrak etanol daun mint *(Mentha Spicata)* dan kematian nyamuk menghasilkan statistik *Shapiro Wilk* masing-masing sebesar 0.891 dan 0.964 dengan signifikan sebesar 0.005 dan 0.398. Hal ini dapat diketahui bahwa pengujian normalitas data lama penyimpanan ekstrak etanol daun mint *(Mentha Spicata)* menghasilkan signifikan < 0.05, sehingga data lama penyimpanan ekstrak etanol daun mint (*Mentha Spicata)* dinyatakan tidak normal. Sementara pengujian normalitas data kematian nyamuk menghasilkan probabilitas > 0,05 , sehingga data kematian nyamuk dinyatakan normal.

Sehingga analisis hubungan lama penyimpanan ekstrak etanol daun mint *(Mentha Spicata)* dan kematian nyamuk dilakukan menggunakan korelasi *Rank Spearman* dengan hipotesis berikut ini , H0 : Tidak ada hubungan yang signifikan lama penyimpanan ekstrak etanol daun mint *(Mentha Spicata)* dan kematian nyamuk , H1 : Ada hubungan yang signifikan lama penyimpanan ekstrak etanol daun mint *(Mentha Spicata)* dan kematian nyamuk.

Kriteria pengujian menyebutkan apabila signifikan ≤ 0.05 maka H0 ditolak, sehingga dapat dinyatakan bahwa ada hubungan yang signifikan lama penyimpanan ekstrak etanol daun mint (Mentha Spicata) dan kematian nyamuk. hasil analisis hubungan lama penyimpanan ekstrak etanol daun mint (*Mentha Spicata*) dan kematian nyamuk dapat dilihat melalui tabel berikut :

Tabel 5.9 Analisis Korelasi Rank Spearman

	Kematian Nyamuk	Lama Penyimpanan

Spearman's rho	Kematian Nyamuk	Correlation Coefficient	1.000	-.611**
		Sig. (2-tailed)	.	.000
		N	30	30
	Lama Penyimpanan	Correlation Coefficient	-.611**	1.000
		Sig. (2-tailed)	.000	.
		N	30	30

**. Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Tabel di atas menginformasikan bahwa pengujian hubungan lama penyimpanan ekstrak etanol daun mint *(Mentha Spicata)* dan kematian nyamuk menghasilkan signifikan sebesar 0.000. Hal ini dapat diketahui bahwa *p-value* < 0,05 , sehingga H0 ditolak. Oleh karena itu, dapat dinyatakan bahwa ada hubungan yang signifikan lama penyimpanan ekstrak etanol daun mint *(Mentha Spicata)* dan kematian nyamuk.

Tabel 5.10 Tingkat hubungan dalam interval koefisien

Signifikansi	Keterangan
0-0,05	Tidak ada korelasi
0,05-0,19	Korelasi sangat lemah
0,20- 0,39	Korelasi lemah
0,40 – 0,59	Korelasi cukup kuat
0,60 – 0,79	Korelasi kuat
0,80- 0,99	Korelasi sangat kuat
1	Sempurna

Berdasarkan data di atas didapatkan koefisien korelasi sebesar -0.611 menunjukkan bahwa ada hubungan yang negatif (berlawanan) dan kuat antara lama penyimpanan ekstrak etanol daun mint *(Mentha Spicata)* dan kematian nyamuk. Hal ini berarti dapat di simpulkan semakin lama penyimpanan ekstrak etanol daun mint *(Mentha Spicata)* maka kematian nyamuk semakin rendah, dan sebaliknya semakin singkat penyimpanan ekstrak etanol daun mint *(Mentha Spicata)* maka kematian nyamuk semakin tinggi. Sebagai bukti dapat di lihat dari penurunan potensi di dapatkan waktu nyamuk yang mati semakin memanjang. .

5.7 Uji regresi linier

Uji analisis metode linier digunakan untuk mengetahui besarnya pengaruh penyimpanan terhadap penurunan potensi insektisida dan lamanya penurunan kematian nyamuk *Culex sp* tiap satuan waktu penyimpanan.

Tabel 5.11 Uji regresi linier

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	T	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	7.400	.765		9.676	.000
	Lama Penyimpanan	-1.000	.231	-.634	-4.337	.000

a. Dependent Variable: Kematian Nyamuk

Berdasarkan hasil analisis regresi pada tabel 5.11 sehingga dapat di buat persamaan regresi ,yaitu

Y= 7.400- 1.000 X

Model regresi linier pengaruh lama pengimpanan ekstrak etanol daun mint terhadap potensi insektisida pada nyamuk *Culex sp* adalah Y= 7.400- 1.000X nilai konstanta sebesar 7.400 menunjukan bahwa tanpa mempertimbangankan pengaruh dari lama penyimpanan esktrak etanol daun mint maka besarnya jumlah nyamuk *Culex sp* yang mati adalah sebesar 7.400 . nilai koefisien lama penyimpanan sebesar 1000 menunjukan jumlah nyamuk *Culex sp* yang mati akan menurun sebesar 1000 ekor untuk setiap penambahan 1 hari pada lama penyimpanan dengan asumsi variabel yang lain konstan.

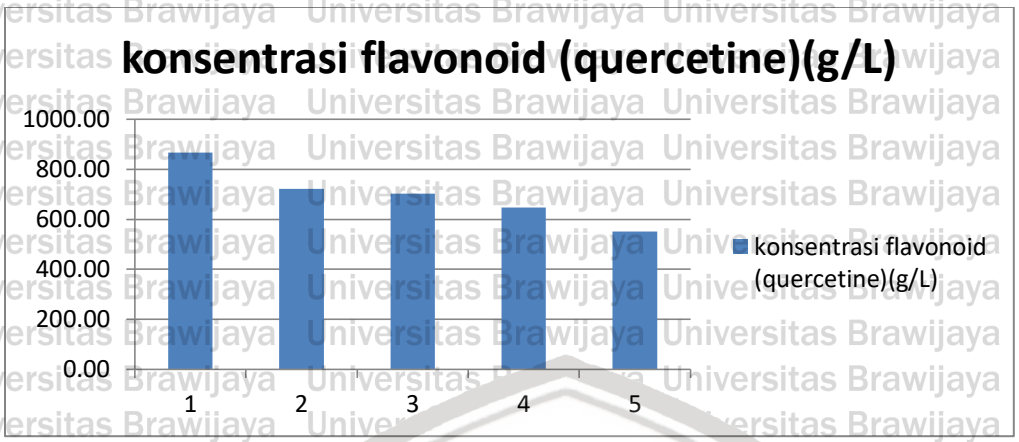
Koefisien determinasi menunjukan seberapa besar pengaruh lama penyimpanan ekstrak etanol daun mint terhadap potensi insektisida pada nyamuk *Culex sp* nilai koefisien determinasi berkisar 0% sampai 100% , dimana semakin besar nilai koefisien determinasi maka pengaruh yang di timbulkan pada kematian nyamuk *Culex sp* akan semakin besar juga. Berdasarkan hasil analisis regresi di peroleh koefisien determinasi sebesar 63,4% ,nilai ini menunjukan bahwa potensi insektisida pada nyamuk *Culex sp* di pengaruhi oleh lama penyimpanan adalah sebesar 63,4%. sisa pengaruh terhadap potensi insektisida pada nyamuk *Culex sp* sebesar 36,6% mungkin disebabkan oleh faktor lain selain lama penyimpanan ekstrak etanol daun mint.

5.8 Analisis Hubungan Antara Lama Penyimpanan dengan Penurunan Kadar Flavonoid.

Setelah melakukan penelitian untuk mengamati pengaruh lama penyimpanan ekstrak etanol daun mint terhadap penurunan kadar flavonoid, hasil dari penelitian adalah tertera pada tabel berikut

Hari	Konsentrasi Flavonoid (*quercetin*)
1	867,50 g/ml
2	701,73 g/ml
3	428,67 g/ml
4	340,00 g/ml
5	374,22 g/ml

Berdasarkan tabel di atas dapat dilihat bahwa telah terjadi penurunan konsentrasi flavonoid seiring dengan bertambahnya waktu penyimpanan ekstrak daun mint *(Mentha Spicata).*



Gambar 5.4 Konsentrasi Flavonoid

Grafik di atas merupakan grafik standar kadar quercetin pada ekstrak daun mint (*Mentha Spicata*) yang telah di simpan selama 5 hari. Sumbu X menunjukan lama penyimpanan ekstrak etanol daun mint dalam satuan hari sedangkan sumbu Y menunjukan konsentrai flavonoid (quarsertin). Grafik di atas menunjukan penurunan konsentrasi flavonoid (quarsertin) seiring dengan lama penyimpanan yang di lakukan selama 5 hari.

5.5.1 Uji Normalitas

Berdasarkan hasil pengujian distribusi normal data penelitian menggunakan metode *Shapiro-Wilk,* terlihat bahwa data yang diuji yaitu data lama penyimpanan ekstrak daun mint (*Mentha Spicata)* terhadap kadar flavonoid menunjukkan nilai signifikansi (*p-value*) sebesar 0,710 Hal tersebut menunjukkan bahwa nilai signifikansi yang beragam tersebut lebih besar dari *alpha* yang digunakan (0,050) sehingga dapat disimpulkan bahwa data penelitian yang diuji simetris mengikuti distribusi normal, dengan kata lain asumsi normalitas data terpenuhi.

Tabel 5.11 Uji Normalitas 2

	Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Flavonoid	.149	10	.200*	.954	10	.710

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

5.5.2 Uji Homogenitas

Berdasarkan hasil pengujian kehomogenan (kesamaan) ragam data penelitian menggunakan uji levene (*levene test homogenity of variance*), didapatkan nilai signifikansi (*p-value*) sebesar 0,143 . Hal tersebut menunjukkan bahwa nilai signifikansi (0,143) lebih besar dari *alpha* yang digunakan (0.050) sehingga disimpulkan bahwa ragam data antar perlakuan yang diamati adalah homogen, dengan kata lain asumsi homogenitas ragam terpenuhi.

Tabel 5.12 Uji Homogenitas Kadar Flavonoid 5%

Flavonoid

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.517	4	5	.143

Karena data yang didapat memenuhi uji normalitas dan homogenitasnya, maka pengujian dilanjutkan dengan menggunakan Uji parametrik *One-Way ANOVA*.

5.5.3 Uji *One-Way ANOVA*

Data yang telah dikumpulkan dianalisis menggunakan uji *One-Way ANOVA* dengan tujuan untuk mengetahui adakah perbedaan yang signifikan pada lama penyimpanan ektrak etanol daun mint dengan penurunan kadar flavonoid. Hipotesis awal (H0) yang digunakan dalam pengujian ini adalah tidak terdapat pengaruh yang signifikan dari lama penyimpanan ektrak etanol daun mint dengan penurunan kadar flavonoid. Hipotesis

alternatif (H1) adalah adanya pengaruh yang signifikan dari lama penyimpanan ekstrak etanol daun mintdengan penurunan kadar flavonoid. Dasar pengambilan keputusan berdasarkan hipotesis yang diajukan adalah dengan menggunakan nilai signifikansi (*p-value*), di mana *p-value* yang lebih kecil dari *alpha* (0.05) menunjukkan bahwa hipotesis H1 diterima dan hipotesis H0 ditolak.

Tabel 5.13 Uji *One-way ANOVA*

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	107683.9	4	26920.966	19.601	.003
Within Groups	6867.280	5	1373.456		
Total	114551.1	9			

Berdasarkan hasil analisis uji *One-Way ANOVA* tersebut diperoleh nilai signifikansi (*p-value*) dari lama penyimpanan ektrak etanol daun mint dengan penurunan kadar flavonoid sebesar 0.003. Hal tersebut menunjukkan bahwa nilai signifikansi dari setiap waktu pengamatan lebih kecil dari *alpha* (0.05) maka nilai H0 ditolak dan H1 dapat diterima sehingga disimpulkan bahwa terdapat perbedaan signifikan antar kelompok minimal antar dua kelompok pada lama penyimpanan ekstrak etanol daun mint selama lima hari dengan kadar flavonoid yang terkandung.

5.5.4 Pengujian Berganda (*Multiple Comparisons*)

Dengan ditemukannya pengaruh signifikan pada lama penyimpanan ekstrak etanol daun mint dengan penurunan kadar flavonoid, maka dilakukan pengujian lebih lanjut untuk mengetahui perbedaan yang lebih spesifik pada penurunan kadar quercetin pada flavonoid. Metode *post hoc test* dilakukan sebagai uji pembandingan berganda (*multiple comparison*) menggunakan uji *Tukey.*

5.14 Tabel Uji HSD tukey

Hari	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
5	2	550.0000		
4	2	646.4000	646.4000	
3	2		701.7000	
2	2		721.1000	721.1000
1	2			867.5000
Sig.		.205	.374	.053

Means for groups in homogeneous subsets are displayed

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

Hasil uji *post hoc* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara penurunan jumlah kadar quercetin pada hari pertama dengan kelompok hari kedua, ketiga, keempat dan kelima. Sehingga dapat disimpulkan dari analisis statistik bahwa hubungan lama penyimpanan yang signifikan terhadap potensi ekstrak flavonoid daun mint yang terkandung yang dimulai pada hari kedua.

5.5.5 Uji Korelasi *Pearson*

Pengujian korelasi dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui korelasi lama penyimpanan ekstrak etanol daun mint dengan penurunan kadar flavonoid. Dasar pengambilan keputusan yang digunakan dalam pengujian korelasi adalah dengan menggunakan nilai signifikansi (*p-value*), dimana nilai signifikansi yang lebih kecil dari *alpha* (0.05) menunjukkan bahwa terdapat korelasi atau hubungan yang signifikan.

Tabel 5.15 Uji Korelasi *Pearson*

		Hari	Flavonoid
Hari	Pearson Correlation	1	-.938**
	Sig. (2-tailed)	.	.000
	N	10	10
Flavonoid	Pearson Correlation	-.938**	1
	Sig. (2-tailed)	.000	.
	N	10	10

**. Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Berdasarkan tabel 5.15 didapatkan koefisien korelasi hubungan antara lama penyimpanan dengan penurunan kadar flavonoid sebesar -0,938 dengan nilai signifikansi sebesar 0,000. Hal ini menunjukkan bahwa nilai signifikansi (0,000) lebih kecil dari *alpha* (0,05) sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat korelasi atau hubungan yang signifikan antara lama penyimpanan dengan penurunan kadar quarcetrin (flavonoid) pada ekstrak etanol daun mint.. Koefisien korelasi yang bertanda negatif (-) menunjukkan bahwa hubungan antar kedua variabel adalah berbanding terbalik yang berarti bahwa semakin lama waktu penyimpanan maka kadar quercetrin (flavonoid) pada ekstrak etanol daun mint akan semakin menurun. Hal ini dapat dilihat dari menurunnya kadar kandungan flavonoid. Dapat disimpulkan bahwa koefisien korelasi *Pearson* sebesar -0,938 menunjukkan korelasi negatif dengan kekuatan korelasi sangat kuat.

5.5.6 Uji Regresi Linier

Uji analisis metode regresi linier digunakan untuk mengetahui besarnya pengaruh perubahan kadar flavonoid dalam ekstrak daun mint terhadap besarnya penurunan jumlah kematian nyamuk *Culex sp* setiap satuan waktu penyimpanan. Berdasarkan tabel hasil analisis

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	910.250	30.820		29.534	.000
	Hari	-70.970	9.293	-.938	-7.637	.000

a. Dependent Variable: Flavonoid

Berdasarkan hasil analisis regresi pada tabel 5.13 dapat dibuat persamaan regresi

$$Y = 910.250 – 70.970x$$

Model regresi linier pengaruh penurunan kadar flavonoid ekstrak daun mint terhadap penurunan jumlah kematian nyamuk *Culex sp* adalah Y =910.250 – 70.970x. Nilai konstanta sebesar 910.250 menunjukkan bahwa tanpa mempertimbangkan penurunan jumlah kadar flavonoid daun mint maka besarnya jumlah nyamuk *Culex sp* yang mati adalah sebesar 910.250 ekor. Nilai koefisien penurunan kadar quercetin sebesar 70.970 menunjukkan jumlah nyamuk *Culex sp* yang mati akan menurun sebesar 70.970 ekor untuk setiap penurunan kadar flavonoid dengan asumsi variable yang lainnya konstan.

Koefisien determinasi menunjukkan seberapa besar pengaruh penurunan kadar flavonoid terhadap penurunan jumlah kematian nyamuk *Culex sp* Nilai koefisien determinasi berkisar antara 0% hingga 100%, di mana semakin besar nilai koefisien determinasi maka pengaruh yang ditimbulkan kematian nyamuk *Culex sp* semakin besar pula. Berdasarkan hasil analisis regresi diperoleh koefisien determinasi sebesar 93,8%. Nilai tersebut menunjukkan bahwa pengaruh penurunan kadar quercetin pada flavonoid terhadap penurunan jumlah kematian nyamuk *Culex sp* adalah sebesar 93,8%. Sisa pengaruh terhadap penurunan jumlah kematian pada nyamuk *Culex sp* sebesar 6,2% disebabkan oleh faktor lain selain penurunan kadar quercetin pada flavonoid.

BAB 6

PEMBAHASAN

Daun mint *(Mentha Spicata)* termasuk dari salah satu tanaman yang bisa berpotensi sebagai insektisida alami. Ekstrak daun mint memiliki kandungan yang berperan aktif untuk insektisida antara lain *flavonoid, tannin, terpena, menthol, menthone, dan carvone* (Setiawati, 2008). Flavonoid bekerja dengan cara masuk ke dalam tubuh nyamuk melewati sistem pernapasan kemudian melemaskan sistem pernafasan lalu akan menimbulkan kelumpuhan syaraf serta kerusakan pada sistem pernafasan dan mengakibatkan nyamuk tidak bisa bernafas kemudian mati. Pada penelitian Adianita (2009) menyatakan bahwa flavonoid adalah salah satu senyawa yang bersifat racun, flavonoid merupakan persenyawaan glukosida yang terdiri dari gula yang terikat dengan flavon. Flavonoid juga dapat menghambat daya makan serangga *(antifeedant)* cara kerja senyawa tersebut adalah dengan bertindak sebagai *stomach poisoning*,bila senyawa ini masuk dalam tubuh serangga,maka alat pencernaannya akan tergangu.senyawa ini juga bekerja dengan menghambat reseptor perasa pada daerah mulut serangga.hal ini menyebabkan serangga gagal mendapatkan stimulus rasa sehingga tidak mampu mengenali makanannya sehingga akibatnya serangga akan mati kelaparan (rahmawati dkk,2013)

Tannin bersifat racun karena berperan dalam menghambat enzim serangga yang menyebabkan menurunnya nafsu makan serangga dan pertumbuhan serangga menurun. Mekanisme insektisida dari tannin bersifat menghambat enzim asetilkolinesterase yang merusak sistem saraf nyamuk . apabila ada penetrasi tannin pada dinding badan nyamuk ,enzim asetilkolinesterase akan di hambat untuk memecah asetilkolin dan menyebabkan penumpukan asetilkolin.kerja asetilkolin akan berjalan terus tanpa henti ,sehingga menyebabkan terjadinya kerusakan dan disfungsi sistem saraf yang berakhir dengan kematian nyamuk, tidak bisa diketahui dengan pasti seberapa besar kandungan dari masing-masing

bahan tersebut, namun zat aktif tersebut yang berperan penting dalam daya bunuh ekstrak daun mint *(Mentha Spicata)*

Pada penelitian ini perlu di lakukan pengukuran kadar quarsertin setiap harinya untuk mengetahui apakah ada penurunan kadar flavonoid pada ekstrak daun mint. Ekstrak yang telah di simpan dengan suhu ruangan pada hari ke-1,2,3,4, dan 5 kemudian diencerkan dengan quarsertin, $NaNO_2$, $AlCl_2$,NaOH serta aquades. Setelah diencerkan larutan kemudian di ukur menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Hasil dari pengukuran spektofotometri di dapatkan bahwa terjadi penurunan kadar quarsertin secara signfikan pada hari ke 4 dan 5.

Penetilian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh lama penyimpanan ekstrak etanol daun mint *(Mentha Spicata)* terhadap potensinya sebagai insektisida terhadap nyamuk *Culex sp* sebelum melakukan penelitian dilakukan uji eksplorasi atau penelitian pendahuluan sebagai dasar pemilihan konsentrasi yang akan digunakan pada penelitian utama dan untuk dapat menentukan konsentrasi terkecil untuk dapat membunuh nyamuk culex secara optimal. maka di dapatkan tiga konsentrasi ekstrak daun mint *(Mentha Spicata)* yaitu 2,5% , 5% dan 7,5%. Kemudian setelah dilakukan penelitian pendahuluan di dapatkan bahwa konsentrasi 5% adalah konsentrasi minimal yang dapat di gunakan untuk membunuh nyamuk *Culex sp* secara maksimal.sehingga konsentrasi tersebut di pilih untuk melakukan penelitian ini. Penelitian ini menggunakan 4 sangkar kaca dengan ukuran 25 cmx 25 cm ,setiap sangkar berisi 10 nyamuk *culex sp,* pegulangan pada masing-masing kelompok di lakukan sebanyak empat kali dengan tujuan untuk mengurangi faktor bias yang dapat terjadi akibat berbagai faktor perancu yang tidak dapat di kontrol,sehingga penelitian ini lebih akurat dan representatif. Pengamatan di lakukan pada penyimpanan ekstrak daun mint yang di mulai pada hari ke-1, hari ke-2 , hari ke-3,hari ke-4 dan hari ke-5 dan jumlah nyamuk *culex sp*, yang mati di amati pada jam ke 1.2,3,4,5,dan 6. Jumlah sampel keseluruhan yang digunakan adalah 300 ekor nyamuk Culex sp ekstrak daun mint di simpan pada suhu ruangan selama 5 hari.

Hasil penelitian membuktikan bahwa ekstrak daun mint 5% yang langsung digunakan tanpa penyimpanan memiliki efek insektisida yang sangat tinggi yakni mampu membunuh nyamuk culex sp 100%. efek insektisida yang tinggi ini masih bertahan sampai hari ke-3 dan pada akhirnya mengalami penurunan di hari ke-4 penyimpanan. Turunnya potensi pada hari ke-4 di tandai dengan penurunan konsentrasi flavonoid dan lama waktu kematian nyamuk yang lebih panjang. Kemudian pada hari selanjutnya juga di dapatkan terjadinya penurunan potensi dari ekstrak daun mint.pada hari ke-5 penurunan potensi juga semakin rendah sehingga lama kematian nyamuk juga makin memanjang.

Adanya penurunan potensi ekstrak etanol daun mint dapat disebabkan karena perubahan potensi bahan aktif dalam larutan ekstrak daun mint tersebut. Seperti yang telah dijelaskan di atas, bahan aktif yang terkandung dalam ekstrak daun mint diantaranya adalah flavonoid yang memiliki kandungan zat aktif terbesar yaitu *quercetin* yang kadarnya dapat merepresentasikan kandungan flavonoid. Proses yang menyebabkan penurunan potensi sebagai insektisida dari senyawa kimia (zat aktif) yang terkandung dalam ekstrak daun mint diduga terjadi karena pengaruh faktor endogen dan eksogen. Faktor endogen yang mampu menyebabkan perubahan kadar dan sifat-sifat senyawa zat aktif dalam ekstrak daun mint yaitu reaksi antar senyawa, terjadinya penguapan, dan perubahan struktur kimia zat aktif tersebut. Faktor eksogen yang mampu mempengaruhi potensi ekstrak etanol daun mint diantaranya adala suhu, cahaya, dan oksigen udara (Yuni, 2012).

Berdasarkan hasil analisi data mengunakan uji parametrik *One-Way ANOVA* di dapatkan hasil sebesar p= 0,008, hal ini menunjukan bahwa pada setiap waktu pengamatan memiliki nilai signifikansi yang lebih kecil dari alpha (0,05) sehingga memberikan pengaruh yang signifikan terhadap jumlah nyamuk *Culex sp* yang mati. Data signifikan tersebut kemudian di analisis dengan uji *Post Hoc Mann-Whitney*,di dapatkan bahwa kematian nyamuk pada hari ke-5 yang paling rendah dan berbeda signifikan dengan kematian nyamuk pada hari ke-1, namun berbeda

tidak signifikan dengan kematian nyamuk pada hari ke-2, hari ke-3, dan hari ke-4. Sedangkan kematian nyamuk pada hari ke 1 yang paling tinggi dan berbeda signifikan dengan kematian nyamuk pada hari ke-4 dan ke-5, namun tidak berbeda signifikan dengan kematian nyamuk pada hari ke-2 dan hari ke-3. Sehingga dapat di simpulkan dari hasil analisis statistik bahwa hubungan lama penyimpanan yang signifikan terhadap potensi ekstrak etanol daun mint pada hari ke-4 dan 5 selanjutnya untuk mengetahui hubungan antara lama waktu penyimpanan dengan potensi ekstrak etanol daun mint sebagai insektisida terhadap nyamuk *culex sp* kemudian di lakukan Uji Korelasi rank spearman dengan signifikan sebesar 0.000. Hal ini dapat diketahui bahwa signifikan < 0,05 dan didapatkan koefisien korelasi sebesar -0.611 menunjukkan bahwa ada hubungan yang negatif (berlawanan) dengan kekuatan korelasi yang kuat antara lama penyimpanan ekstrak etanol daun mint *(Mentha Spicata)* dan kematian nyamuk. Hal ini berarti koefisien korelasi yang bertanda negatif menandakan bahwa hubungan antara kedua variabel berbanding terbalik yang berarti bahwa semakin lama waktu penyimpanan maka potensi ekstrak daun mint semakin menurun. Untuk memastikan bahwa penurunan kadar quarsertin setiap harinya berpengaruh pada penurunan jumlah kematian nyamuk *Culex sp*

Pada proses penyimpanan terjadi perubahan kimia zat aktif terutama senyawa polifenol seperti flavonoid yang mudah rusak akibat proses oksidasi, yaitu kontak dengan udara terbuka sehingga terjadi reaksi dengan bahan aktifnya (Ruchmana, 2017). Hal ini mengakibatkan menurunnya kualitas komponen utamanya. Karena itu, sebaiknya ekstrak tersebut disimpan didalam botol berwarna gelap dan diusahakan tidak terjadi kontak langsung dengan udara (Baskoro,2006). Sedangkan suhu penyimpanan maupun suhu proses pengolahan mempengaruhi degradasi dari suatu senyawa (Hendry dan Houghton, 1992).

Hasil penelitian Fajarningtyas. (2015) menyatakan bahwa setelah dilakukan penyimpanan pada daun mint, terdapat perubahan yang signifikan antara yang disimpan satu

hari dengan penyimpanan 15 hari . Terutama pada penyimpanan dalam botol vial bening, senyawa sitronelal dalam botol vial bening memiliki persentase area yang lebih signifikan peningkatannya dibandingkan sitronelal dalam botol vial hitam. Selain itu terdapat pula hasil penelitian *Goldberg* dan *British Nutrition Foundation* (2003) yang melaporkan bahwa flavonoid mengalami penurunan pada hari ke-7 dalam suhu lemari pendingin. Proses oksidasi flavonoid oleh oksigen di udara juga dapat menurunkan kadar flavonoid selama penyimpanan, karena memiliki sifat mudah menguap dan mudah mengalami perubahan biokimiawi apabila disimpan dalam waktu yang cukup lama. Perubahan biokimiawi yang dapat terjadi diantaranya reaksi oksidasi, polimerisasi, resinifikasi, dan esterifikasi.

Hasil yang di dapatkan pada penelitian ini menunjukan bahwa potensi sebagai insektisida ekstrak etanol daun mint mengalami penurunan yang signifikan dengan lama penyimpanan selama lima hari. Sehingga dapat di simpulkan karena adanya penurunan kadar flavonoid pada hari ke-4 kandungan quarsetin didalamnya juga mengalami penurunan. penurunan kadar flavonoid dan quarsertin setelah di simpan dalam beberapa hari menyebabkan menurunnya potensi ekstrak etanol daun mint sebagai insektisida

Kelemahan dari penelitian ini adalah area penyemprotan ekstrak daun mint yang terbatas hanya pada kandang dengan ukuran 25 cm x 25 cm x 25 cm saja, sehingga kemungkinan terjadinya efek akumulasi lebih besar. Faktor eksogen seperti suhu, kelembapan udara, polutan, dan cahaya dalam ruang penyimpanan yang tidak dapat dikontrol dan dapat berubah sewaktu-waktu. Faktor eksogen yang dapat dikendalikan menyebabkan hasil penyimpanan ekstrak daun mint lebih sesuai. Kurangnya data tentang perbedaan stabilitas antar bahan aktif yang terkandung dalam daun mint yang berguna untuk mengetahui zat aktif mana yang lebih stabil dan tetap berpotensi untuk insektisida selama proses penyimpanan. Selain itu, homogenitas usia nyamuk *Culex sp* yang digunakan sebagai sampel tidak dapat dipastikan, sehingga ada kemungkinan nyamuk yang mati bukan karena pengaruh ekstrak

melainkan mati secara alami. Tidak dilakukannya pengkajian tentang perbedaan efek cara penyimpanan pada suhu dalam lemari pendingin dan suhu ruangan juga merupakan keterbatasan dalam penelitian ini. Zat aktif dalam ekstrak daun mint dapat menguap pada suhu ruang dan penguapan semakin besar dengan kenaikan suhu .

Apabila dilakukan penyimpanan pada suhu lemari pendingin terdapat kemungkinan bahwa kandungan zat aktif pada ekstrak daun mint dapat bertahan lebih lama. Namun terdapat rasa kurang nyaman yang dimiliki masyarakat apabila menyimpan ekstrak bersama dengan bahan makanan dalam lemari pendingin. Pengamatan pada penelitian ini dilakukan 24 jam setelah penyemprotan kandang sehingga tidak didapatkan rincian perbedaan penurunan potensinya pada jam keberapa. Hal ini juga merupakan sebuah keterbatasan yang disarankan pada penelitian selanjutnya untuk mengamati tidak hanya pada jam ke-24 tetapi pada setiap jamnya.

BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian ini dapat di simpulkan beberapa hal ,yaitu:

1. Semakin lama ekstrak etanol daun mint *(Mentha Spicata)* disimpan maka semakin menurun efektivitas dari ekstrak daun etanol mint (*Mentha Spicata)* sebagai insektisida pada nyamuk Culex sp
2. Penurunan kadar flavonoid yang signifikan pada lama penyimpanan ekstrak etanol daun mint *(Mentha Spicata*) 5% selama lima hari terhadap potensinya sebagai insektisida alami terhadap nyamuk *Culex sp* Penyimpanan memiliki hubungan yang sangat kuat dengan penurunan potensi insektisida.
3. Terdapat korelasi negative atau hubungan yang signifikan antara perubahan kadar flavonoid pada ekstrak etanol daun mint *(Mentha Spicata)* dengan jumlah nyamuk yang mati ,artinya semakin menurunnya kadar flavonoid pada ekstrak daun mint (Mentha Spicata) maka akan semakin menurun kematian nyamuk *culex sp.*

7.2 Saran

Berdasarkan kelemahan yang terdapat dalam penelitian ini,maka saran yang dapat di berikan antara lain**:**

1. Perlu di lakukan penelitian tentang perbedaan cara-cara penyimpanan ekstrak sehingga di dapatkan cara penyimpanan yang dapat memperpanjang stabilitas potensi ekstrak dan mudah penggunaannya oleh masyarakat.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mencari cara mengontrol faktor eksogen dan endogen agar menghasilkan kondisi penyimpanan yang stabil.
3. Penelitian lanjutan dengan luasan yang dapat mempresentasikan ruang terbuka.

4. Penelitian lanjutan untuk identifikasi zat-zat yang dominan di dalam ekstrak terhadap potensinya sebagai insektisida daun mint dan efek dari masing-masing zat aktif (flavonoid,tannin, terpena, menthol, menthone) terhadap nyamuk *Culex sp* untuk mengetahui zat aktif manakah yang lebih berpotensi sebagai insektisida.
5. Perlu dilakukan penelitian yang lebih rinci dengan mengamati perbedaan dengan interval waktu 1 jam sampai 24 jam
6. Perlu dilakukan sosialisasi kepada masyarakat bahwa penyimpanan ekstrak daun mint sebagai insektisida sebaiknya tidak lebih dari lima hari ,karena kemungkinan sudah terjadi penurunan potensi insektisida.

DAFTAR PUSTAKA

Anonim, 1980. Materia Medika Indonesia.Jilid IV. Departemen Kesehatan RI.

Brown, Harold W. 1994.Dasar-Dasar Parasitologi Klinis.PT.Gramedia,jakarta.

Burhanuddin T.,2004.Fitokimia Flavonoid. (Online), Diakses http://www.scribd.com/doc/26845050/Oleh-Burhanuddin-Taebe tanggal 21 september 2017

Burhanuddin T.,2004 fitokimia flavonoid (online) http://www.scribd.com/doc/26845050/Oleh-Burhanuddin-Taebe di akses 2 oktober2017

CDC. 2010. Parasites-Lyphatic Filariasis. http://www.cdc.gov/parasites/lympaticfilariasis/biologywbancrofti.html.24 februari 2017

Dahlan, Sopiyudin. 2004. Statistik untuk kedokteran dan kesehatan: Uji Hipotesis Jakarta : Binamitra Press

Dahlan, M.S.2008.Statistika untuk kedokteran dan kesehatan. Jakarta : salemba medika

Depkes.2009.Penderita Filariasis Tersebar di 386 kabupaten/kota http://wwwdepkes.go.id/index.php?vw=2&id=453 diakses 26 mei 2017

Djakaria,S. 2004. Pendahuluan Entomologi Parasitologi Kedokteran Edisi Ke-3 Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.Jakarta.343 hlm

Endy TP, Nisalak A. Japanese Encephalitis Virus: Ecology and Epidemiology. Current Topic in Microbiology and Immunology 2002; 267:11-47.

Gandahusada, S, Ilahude,H.D. dan Pribadi, W..2006. *Parasitology Kedokteran. Edisi Ketiga.* Jakarta : Balai Penerbit FKUI. Gaya Baru. Hal 221-235.

Irma.2009. Uji potensi ekstrak daun pandan wangi sebagai insektisida terhadap nyamuk Culex sp Dewasa (online).; (http://eprints.umm.ac.id/1656/ di akses 20 april 2017)

Judarwanto, W. 2006. *Penatalaksanaan Demam Chikungunya.* (Online). (http:/www.medicastore.com , diakses 23 desember 2017

Hoedojo R dan Zulhasril ,2008. Buku Ajar Parasitologi Kedokteran Edisi Keempat. Jakarta : balai penerbit fakultas kedokteran universitas Indonesia

Kardinan, A.2003. *Tanaman Pengusir dan Pembasmi Nyamuk*. Agromedia Pustaka.Jakarta

Kemenkes.2012.Pedoman Penggunaan Insektisida (Dalam Pengendalian Vektor).Dirjen Pengendalian Penyakit dan Lingkungan: Kemenkes RI

Herdana,A.2015.klasifikasi dan daur hidup nyamuk Culex sp(online).; (http://www.informasi kesling.blogspot.com/2015/05/nyamuk-culex-sp-penular-penyakit-pada.html

Hudayya,A.Jayanti,H.2012.Pengelompokan pestisida berdasarkan cara kerjanya (mode of action).(online) (http://balitsa.litbang.pertanian.go.id/ind/images/isi monografi/M-66%20pengelompokan%20pestisida.pdf

Kemenkes RI. 2012. Pedoman Penggunaan Insektisida (*pestisida)* Dalam Pengendalian Vektor, Jakarts

Kementrian Kesehatan Repbulik Indonesia. 2012. Pedoman Penggunaan Insektisida *(Pestisida) dalam pengendalian vektor* . Jakarta : Kementrian Kesehatan RI

Kardinan, A. 2003. Tanaman Pengendalian Hama. Argomedika Pustaka, Jakarta

Masrizal, Penyakit Filariasis. Jurnal Kesehatan Masyarakat, September 2012-maret 2013:7(1) : 33-35

Novizan, 2003. Petunjuk Pemakaian Pestisida, Agromedia Pustaka, Jakarta

Pusat Data dan Surveilans Epidemiology Kemenkes RI. 2010. Filariasis di Indonesia. Buletin Jendela Epidemiology, Volume 1 , Juli 2010.

Rahmawati, E ., Hidayat, T.H ., Budijastuti, W . Pemamfaatan Biji Mimba (*azadirachta indica*) Sebagai Larvasida Nyamuk *Culex sp* LenteraBio 2013;2(3):207-210

Safar, R. 2009. Parasitologi Kedokteran: Protozoologi, Entomologi, dan Helmintologi. Bandung: Yrama Widya

Staf Pengajar Departemen Parasitologi FKUI. 2008. *Buku Ajar Parasitologi Kedokteran.* Jakarta : Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia

Solomon T, Dung NM, Kneen R,*et al.* 2000. Japanese encephalitis.J Neurol Neurosurg psychiatry 68:405-415.

Soedarto,1992.Atlas Entomologi Kedokteran .ECG.Jakarta.

Soeyoko.2002.Penyakit Kaki Gajah *(filariasis limfatiik): Permasalahan dan Alternatif Penanggulangannya.* Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada

Shoclichah,Z. 2009. Ancaman dari nyamuk culex sp. yang Terabaikan.Balaba

Sukowati, Supratman .1996. *Resistensi Vektor Penyakit Terhadap Insektisida*. Jakarta : Balai Penerbit FKUI. Hal 22

Sukowati, Supratman. 1996. *Resistensi Vektor Penyakit terhadap Insektisida*. Jakarta : Balai Penerbit FKUI. Hal 22

Soeyoko. 2002. Penyakit Kaki Gajah *(Filariasis Limfatik*) : Permasalahan dan Alternatif Penanggulangannya. Yogyakarta :Universitas Gadjah Mada

Sendow I, Bahri S. 2005. Perkembangan Japanese Encephalitis di Indonesia Wartazoa 15(3);111-118

Veroshini, Diana. 2012. Uji Potensi Ekstrak Daun Mint (Mentha piperita) Sebagai Insektisida Terhadap Lalat Musca domestica sp. Menggunakan Metode Semprot : Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

WHO.2006.Guideliness for Testing Mosquitos Adultcides for Indoor Residual Spraying and Treatment of Mosquitos Nets. http:/whqlibdoc.who.int/hq/2006/WHO CDS NTD WHOPES GCDPP 2006.3 ENG.PDF. 8 januari 2014 (22.13)