



Terakreditasi: SK No.: 66b/DIKTI/Kep/2011

Terakreditasi: SK No.: 60/E/KPT/2016

Website : <http://ejournal.undip.ac.id/index.php/reaktor/>

Reaktor, Vol. 16 No. 3, September Tahun 2016, Hal. 103-108

## Pengembangan Biolarvasida Jentik Nyamuk *Aedes aegypti* Berbahan Aktif Ekstrak Beluntas (*Pluchea indica* Less.)

Agus Rochmat<sup>\*)</sup>, Zahrotul Bahiyah, dan Mitha Fuji AdiatiJurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Sultan Ageng Tirtayasa  
Jl. Jendral Sudirman Km 03 Kota Cilegon Banten

\*)Penulis korespondensi: agus\_rochmat@untirta.ac.id

### Abstract

**POTENSIAL DEVELOPMENT OF EXTRACT BELUNTAS (*Pluchea indica* Less.) as BIOLARVACIDE TO MOSQUITO *Aedes aegypti* LARVAE.** *The eradication of Aedes aegypti mosquito is difficult because they have the ability to adapt the environment which makes it very tough. Although, there are not disturbances due to natural phenomena or human intervention. Termination of the mosquito life cycle is an alternative to reduce the mosquito population. The antimicrobial of beluntas extract is expected to have the ability biolarvacide on mosquito larvae. The biolarvasicide of beluntas leaf extracts was determined LC<sub>50</sub> values and strengthened by identification of the active compound. The biolarvacide tested was conducted on the larvae of Aedes aegypti with variations extract concentrations of 50, 100, 250, 500 and 1000 ppm for 24 hours observation. The experimental results found that yield of ethanol extract, extract n-hexane and ethyl acetate extract: 3.8742%, 1.2054% and 1.8627%. While the value of LC<sub>50</sub> to extract n-hexane and ethyl acetate respectively amount to 46.09 ppm and 108.79 ppm. LC<sub>50</sub> value obtained belong biolarvacide active and positive control using abate value LC<sub>100</sub> Abate at a concentration of 100 ppm. The ability biolarvacide ethyl acetate fraction only make the mosquito larvae die, anwhile the fraction of n-hexane can degrade the cells larvae destroyed. The ability biolarvacide beluntas extract was corroborated by the results of GC-MS analysis which showed contains active compounds beluntas such as quinic acid, hydrazinecarboxamide, benzene acetic acid, and 1,2-benzendicarboxylic acid which is a compound of larvicides.*

**Keywords:** *beluntas; biolarvacide; LC50; GC-MS*

### Abstrak

*Pemberantasan nyamuk Aedes aegypti sulit dilakukan karena mereka memiliki kemampuan adaptasi lingkungan yang membuat sangat tangguh, meski ada gangguan akibat fenomena alam ataupun intervensi manusia. Pemutusan siklus hidup nyamuk merupakan alternatif dalam mengurangi populasi nyamuk. Sifat antimikroba ekstrak nyamuk diharapkan dapat memiliki kemampuan biolarvasida pada jentik nyamuk. Kemampuan biolarvasida ekstrak daun beluntas ditentukan melalui nilai LC<sub>50</sub> dan diperkuat dengan identifikasi kandungan senyawa aktif. Uji biolarvasida ini dilakukan terhadap larva nyamuk Aedes aegypti dengan variasi konsentrasi ekstrak 50, 100, 250, 500 dan 1000 ppm selama 24 jam pengamatan. Hasil percobaan diketahui bahwa: rendemen untuk ekstrak etanol, ekstrak n-heksana dan ekstrak etil asetat masing-masing sebesar 3,8742 %, 1,2054 % dan 1,8627 % sementara nilai LC<sub>50</sub> untuk ekstrak n-heksana dan etil asetat masing-masing sebesar 46,09 ppm dan 108,79 ppm. Nilai LC<sub>50</sub> yang diperoleh termasuk golongan biolarvasida aktif dan kontrol positif menggunakan abate memiliki nilai LC<sub>100</sub> Abate pada konsentrasi 100 ppm. Kemampuan biolarvasida*

fraksi etil asetat hanya membuat larva nyamuk mati sementara fraksi n-heksana dapat mendegradasi sel larva hingga hancur. Kemampuan biolarvasida aktif ekstrak beluntas ini dikuatkan dengan hasil analisa GC-MS yang menunjukkan bahwa kandungan senyawa aktif ekstrak daun beluntas seperti quinic acid, hydrazinecarboxamide, benzene acetic acid, dan 1,2-benzendicarboxylic acid yang merupakan senyawa larvasida.

**Kata kunci:** beluntas; biolarvasida; LC50; GC MS

**How to Cite This Article:** Rochmat, A., Bahiyah, Z., dan Adiati, M.F., (2016), Pengembangan Biolarvasida Jentik Nyamuk *Aedes aegypti* Berbahan Aktif Ekstrak Beluntas (*Pluchea indica Less.*), Reaktor, 16(3), 103-108, <http://dx.doi.org/10.14710/reaktor.16.3.103-108>

## PENDAHULUAN

Kasus demam berdarah dengue (DBD) di Kota Cilegon merupakan yang tertinggi di Banten bila jumlah kasus dirata-ratakan dengan jumlah penduduk yang ada. Di Provinsi Banten angka kesakitan DBD berada di kisaran 55 orang per 100 ribu jumlah penduduk, sementara di Kota Cilegon angka kesakitan DBD masih di atas 100 orang per 100 ribu jumlah penduduk. Data Dinkes Cilegon sampai Juni tahun 2013 sudah ada 233 kasus DBD atau mencapai 61 angka kesakitan dari 100 ribu jumlah penduduk. (Anonim, 2016).

Penyakit DBD disebabkan oleh virus dengue yang disebarkan oleh nyamuk *Aedes aegypti*. Selain membawa virus dengue, *Aedes aegypti* juga merupakan pembawa virus demam kuning (*yellow fever*) dan chikungunya. Pemberantasan nyamuk *Aedes aegypti* sangat sulit karena mereka memiliki kemampuan adaptasi lingkungan yang membuat mereka sangat tangguh, bahkan setelah gangguan akibat fenomena alam atau intervensi manusia. Di sisi lain, penggunaan insektisida sintetik sangat efektif untuk membunuh larva nyamuk. Namun, penggunaannya secara kontinyu dapat menyebabkan dampak negatif seperti polusi lingkungan, serangga menjadi resisten, resurgen maupun toleran terhadap pestisida (Kardinan, 2011). Insektisida nabati menjadi salah satu pengendalian hama alternatif yang layak dikembangkan, karena senyawa insektisida dari tumbuhan mudah terurai di lingkungan, tidak meninggalkan residu di udara, air dan tanah serta mempunyai tingkat keamanan yang lebih tinggi.

Indonesia merupakan salah satu negara berkembang yang mempunyai banyak sumber daya alam hayati. Beberapa tanaman yang dapat digunakan sebagai biolarvasida pada jentik nyamuk adalah daun sirsak (*Annona muricata Linn*) (Komansilan dkk., 2013), kulit batang trengguli (*Cassia fistula*) (Noorhajati dkk., 2013), daun sirih (*Piper betle*) (Parwata dkk., 2011), minyak akar wangi (*Vetiveria zizanoides*) (Lailatul dkk., 2010), daun zodia (*Evodia Sauveolens*), daun tembakau (Susanti dan Boesri, 2012), kulit jeruk purut, kulit jeruk kalamondin, (Andriana dkk., 2011) dan bawang putih (Agnetha, 2010). Sementara itu, beluntas (*Pluchea indica Less*), memiliki sifat antimikroba (Ardiansyah dkk., 2003). Senyawa aktif yang diduga berperan sebagai senyawa antimikroba pada ekstrak daun beluntas adalah fenol hidrokuinon, tanin, dan alkanoid.

## METODE PENELITIAN

Alat yang digunakan adalah rotary evaporator, ekstraktor Soxhletasi, oven vacuum, sonikator. Bahan yang digunakan adalah aquadest, daun Beluntas (Balitro Bogor), larva *Aedes aegypti* (Fakultas Kedokteran Hewan IPB), pelarut etanol 70%, n-heksan Ex. Merck, etil asetat Ex Merck, aqua bidestilata, aluminium foil, dan tissue.

### Pembuatan Ekstrak Daun Beluntas

Pembuatan ekstrak kental ini mengacu pada BPOM (2004) dengan beberapa modifikasi. Daun beluntas mula-mula dibersihkan, dicuci dengan air, dan dikeringkan. Kemudian dihaluskan dengan blender dan diayak 20 mesh. Serbuk daun beluntas dimasukkan kedalam soxhlet selama 4 jam dan diekstraksi dengan pelarut etanol 70% dengan perbandingan 4:1 terhadap serbuk (simplisia) daun beluntas. Filtrat yang diperoleh didistilasi menggunakan rotary evaporator hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental dipartisi menggunakan pelarut yang berbeda yakni etil asetat dan n-heksana. Ekstrak kental pelarut ini disebut sebagai Fraksi heksana dan Fraksi etil asetat.

### Pengujian Biolarvasida

Pengujian biolarvasida mengacu pada Bhawan and Nagar pada tahun 2012 dengan beberapa modifikasi teknis. Larva nyamuk *Aedes Aegypti* dimasukkan dalam media berisi air kemudian dilakukan adaptasi selama 1x24 jam. Fraksi n-heksana dan fraksi etil asetat daun beluntas dibuat konsentrasi larutan uji: 50, 100, 250, 500 dan 1000 ppm.

Larutan uji dimasukkan ke dalam tabung reaksi dengan replikasi sebanyak 3 kali untuk setiap konsentrasi. Pada masing-masing tabung reaksi tersebut dimasukkan 10 – 15 larva. Inkubasi dilakukan selama 1 x 24 jam. Kemudian dilakukan pengamatan terhadap larva yang mati dan dihitung harga LC<sub>50</sub>.

### Perhitungan Nilai Toksisitas

Nilai toksisitas (LC<sub>50</sub>) diolah dari data pada pengujian anti larva nyamuk yang dilakukan dengan analisis probit menggunakan software *microsoft excel*, sedangkan perhitungan LC<sub>50</sub> menggunakan persamaan garis  $y = ax + b$  dengan nilai mortalitas sebagai garis y dan nilai logaritma konsentrasi sebagai garis x. LC<sub>50</sub> dihitung dengan mortalitas sebesar 50% yakni pada  $y = 0,5$ . Perhitungan ini mengacu pada Moekasan dan Prabaningrum (2001).

$$P = \frac{P^1 - C}{100 - C} \times 100\%$$

- P = mortalitas terkoreksi (%)  
 P<sup>1</sup> = mortalitas hasil pengamatan pada setiap perlakuan insektisida (%)  
 C = mortalitas pada kontrol

Fraksi ekstrak etil asetat dan fraksi ekstrak n-heksana dianalisa dengan GC-MS untuk menguatkan hubungan toksisitas ekstrak dengan senyawa yang dikandung ekstrak tersebut.

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi beluntas dilakukan dengan metode sokletasi. Filtrat telah dipisahkan, kemudian dikering-uapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 60°C hingga terbentuk ekstrak kental etanol. Ekstrak kental etanol ini dipartisi menggunakan pelarut n-heksana dan etil asetat. Hasil partisi dikentalkan kembali dengan *rotary evaporator* hingga terbentuk ekstrak kental fraksi n-heksana dan ekstrak kental fraksi etil asetat. Proses pengeringan dengan metode ini menjadikan seluruh pelarut teruapkan pada susu titik didihnya dan dikeluarkan tanpa harus merusak kandungan senyawa yang ada dalam ekstrak. Hasil proses ekstraksi disajikan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Hasil rendemen

Ekstrak kental	% Rendemen
Etanol	3,8742
n-Heksana	1,2054
Etil Asetat	1,8627

Hasil ekstraksi menunjukkan bahwa pelarut etanol menghasilkan rendemen yang lebih besar dibandingkan dengan n-heksana dan etil asetat. Rendemen ekstrak kental etanol memiliki nilai rendemen yang lebih besar, karena bukan hanya senyawa polar yang terekstrakkan, dan senyawa semipolar. Hal ini mungkin disebabkan karena etanol memiliki kepolaran yang lebih besar (konstanta dielektrik 24,6) dibanding dengan etil asetat (konstanta dielektrik 6,0) dan n-heksana (konstanta dielektrik 1,89) (Maniran dkk., 2012). Nilai kepolaran etanol dibawah kepolaran air (konstanta dielektrik 80,1) sehingga senyawa semi polar dan sejumlah kecil senyawa non polar ikut juga terekstraksi.

Senyawa-senyawa yang terekstrak oleh etanol merupakan senyawa-senyawa polar dan semi polar ini seperti metabolit sekunder golongan flavonoid, alkaloid dan golongan bahan alam yang terikat pada glikosida. Sementara senyawa yang terekstrak oleh n-heksana adalah golongan senyawa non polar seperti lipid, steroid dan tanin. Pelarut etil asetat polar seperti Alkaloid, Flavonoid, dan Glikosida.

Fraksi n-heksana dan etil asetat dipilih untuk uji toksisitas karena hasil ekstraknya lebih spesifik golongan senyawa yang diperolehnya. Uji toksisitas ini ditujukan untuk melihat keaktifan fraksi terhadap mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti*.

### Uji Biolarvasida

Toksitas merupakan sifat relatif dari suatu zat kimia, dalam kemampuannya menimbulkan efek berbahaya atau penyimpangan mekanisme biologi pada suatu organisme. Toksisitas dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain komposisi dan jenis toksikan, konsentrasi toksikan, durasi dan frekuensi pemaparan, sifat lingkungan, dan spesies biota penerima.

Tingkat toksisitas suatu tanaman dinilai berdasarkan tingkat mortalitas bahan uji. LC<sub>50</sub> merupakan tingkat konsentrasi ekstrak yang dibutuhkan untuk mematikan 50% dari hewan yang diuji. Klasifikasi nilai toksisitas disajikan pada Tabel 2.

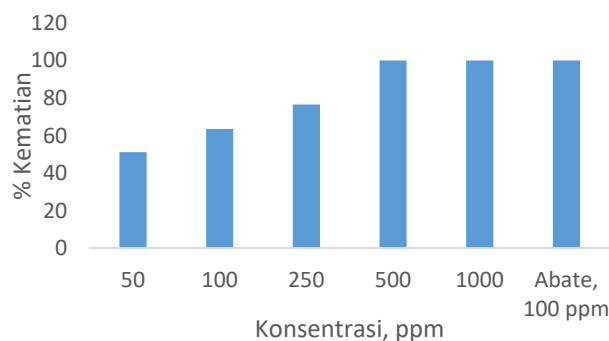
Tabel 2. Klasifikasi tingkat toksik

Nilai LC <sub>50</sub> (mg/L)	Tingkat toksik
≤ 30	Sangat toksik
31 < LC <sub>50</sub> ≤ 1000	Toksik
>1000	Tidak toksik

Sumber: Wagner (1993) dalam Wirasuta dkk. (2006)

Uji biolarvasida ini dilakukan pada suhu ruangan pada larva *Aedes aegypti*. Larva yang digunakan adalah larva instar III dengan umur 5-6 hari dari penetasan telur yang memiliki ciri-ciri ukuran sekitar 0,05 cm dan duri-duri dada mulai jelas terlihat. Kondisi larva ini sehat dan akan selalu menunjukkan pergerakan yang cepat.

Kedua fraksi diujikan aktifitas biolarvasida dengan melihat kematian larva nyamuk yang diberikan perlakuan penambahan fraksi dengan variasi konsentrasi 50, 100, 250, 500 dan 1000 ppm dalam media hidupnya selama 24 jam (12 jam terang dan 12 gelap). Pada pengujian biolarvasida larva ini digunakan kontrol positif yakni bubuk ABATE 100 ppm (Noorhajati dkk., 2013), sehingga dapat kita ketahui langsung perbandingan daya anti larva nyamuk *Aedes aegypti* antara ABATE sebagai kontrol positif dibandingkan dengan fraksi-fraksi ekstrak daun beluntas.



Gambar 1. Grafik uji biolarvasida ekstrak etil asetat

Berdasarkan Gambar 1, hasil uji biolarvasida terhadap ekstrak etil asetat menunjukkan bahwa jumlah kematian larva nyamuk *Aedes aegypti* mencapai 100% mulai konsentrasi ekstrak 500 ppm. Hasil uji biolarvasida terhadap kontrol negatif menunjukkan kematian larva nyamuk *Aedes aegypti* sebesar nol persen. Sedangkan hasil uji biolarvasida terhadap

Abate menunjukkan respon mortalitas 100% setelah larva nyamuk *Aedes aegypti* kontak selama 24 jam. Hal ini menunjukkan bahwa kematian larva *Aedes aegypti* pada larutan uji kemungkinan disebabkan oleh adanya senyawa - senyawa yang bersifat toksik yang mampu membunuh jentik.

Besarnya perbedaan konsentrasi antara fraksi etil asetat dan kontrol positif, ABATE, ini dikarenakan fraksi etil asetat masih dalam bentuk campuran (*crude extract*) bukan senyawa murni. Ini bisa dibuktikan hasil analisa GC-MS terdapat 37 peak senyawa yang teridentifikasi dengan 2 senyawa dominan, sebagaimana disajikan dalam Tabel 3.

Tabel 3. Hasil identifikasi komponen ekstrak etil asetat dengan GC-MS

Waktu retensi	Senyawa	Luas (%)
11.31	1-Dodecanamine	8.90
12.25	Quinic Acid	10.90

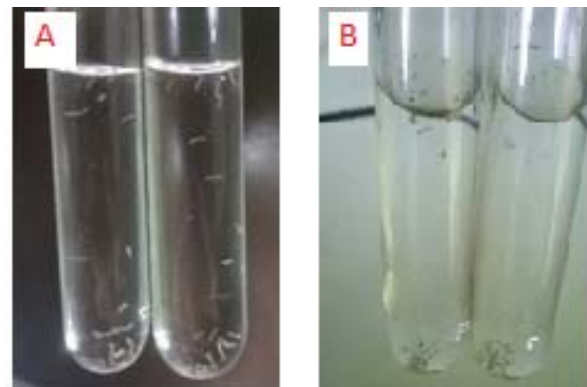
Dari hasil analisa GC-MS etil asetat diperoleh senyawa dominan yaitu *1-dodecanamine*, sebesar 8,90% dan *Quinic acid* 10,90%. Menurut penelitian yang telah dilakukan oleh Zhang dkk. (2013), senyawa *quinic acid* mempunyai kemampuan sebagai antimikroba dan antifungi. Dimana, kemampuan inhibisi *quinic acid* pada pertumbuhan bakteri *salmonella sp* seperti *S. Aureus*, *B. Thuringiensis*, *E. coli*, *S. enterica* dan *S. Dysenteria* terjadi pada konsentrasi 7,5 dan 14,7  $\mu\text{M}$ . Di sisi lain, kemampuan inhibisi *quinic acid* pada pertumbuhan jamur *M. Grisea* terjadi pada konsentrasi 542,3  $\mu\text{M}$  (Zhang dkk., 2013).

Hasil uji biolarvasida ekstrak etil asetat daun beluntas ini menunjukkan bahwa ekstrak beluntas mengandung senyawa *quinic acid* dan terbukti memiliki potensi sebagai biolarvasida. Ini terlihat hasil Analisis probit berdasarkan gambar satu setelah dihitung memiliki nilai  $\text{LC}_{50}$  46,09 ppm dan termasuk ekstrak yang sangat toksik. Hubungan antara  $\text{LC}_{50}$  dengan klasifikasi toksisitas relatif suatu zat kimia dinyatakan dalam Tabel 2.

Toksitas ekstrak etil asetat ini didukung oleh fenomena mortalitas larva nyamuk pada Gambar 2. Dimana, kondisi larva nyamuk *Aedes aegypti* akan mati setelah 24 jam kontak, akan terlihat adanya larva yang tenggelam di dasar larutan dan ada juga yang mengambang diatas permukaan. Semuanya mati pada konsentrasi 500 ppm.

Mekanisme kematian larva disebabkan zat aktif fraksi etil asetat yang masuk ke dalam tubuh larva akan mengganggu alat pencernaan larva. Zat aktif ini juga akan menghambat reseptor perasa pada daerah mulut larva yang menyebabkan larva gagal mendapatkan stimulus rasa sehingga tidak mampu mengenali makanannya yang akhirnya berujung kelaparan hingga kematian (Edwards, 2004). Pada akhirnya, larva akan mati dan mengendap ke bawah atau terapung dipermukaan larutan uji. Pada hasil uji biolarvasida

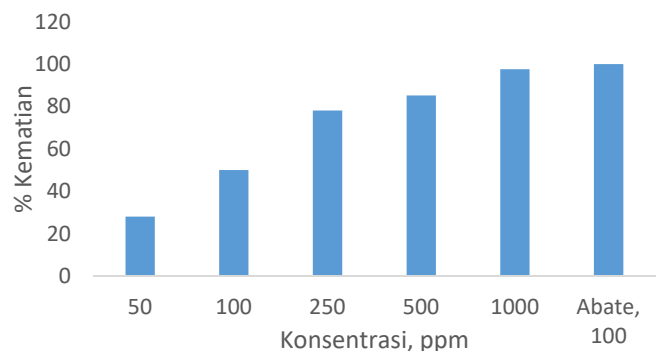
ekstrak n-heksana terlihat pola yang berbeda dari fraksi etil asetat.



Gambar 2. Hasil uji biolarvasida (A) Kontrol negatif (B) Fraksi etil asetat

Hasil uji biolarvasida terhadap fraksi n-heksana menunjukkan bahwa jumlah kematian larva nyamuk *Aedes aegypti* mulai konsentrasi ekstrak 1000 ppm mencapai 97,62%. Sementara kontrol positif, ABATE menunjukkan kematian 100% pada konsentrasi 100 ppm setelah kontak selama 24 jam. Meski, fraksi n-heksana dinilai kurang toksik dibandingkan fraksi etil asetat.

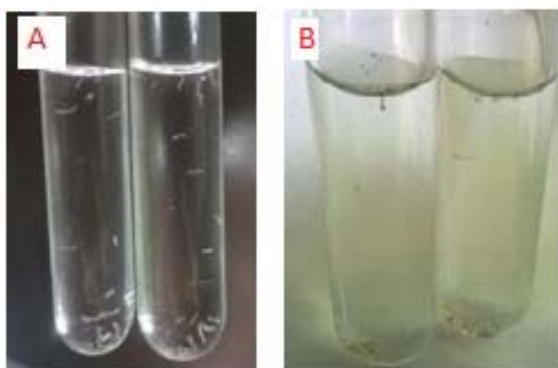
Hasil perhitungan analisis probit berdasarkan Gambar 3 menunjukkan sifat ketoksikan fraksi n-heksana nilai  $\text{LC}_{50}$  108,79 ppm dan  $\text{LC}_{100}$  922,36 ppm. Kategori ekstrak ini masuk golongan toksik.



Gambar 3. Grafik uji biolarvasida ekstrak n-heksana

Hasil uji biolarvasida terhadap fraksi n-heksana menunjukkan bahwa jumlah kematian larva nyamuk *Aedes aegypti* mulai konsentrasi ekstrak 1000 ppm mencapai 97,62%. Sementara kontrol positif, ABATE menunjukkan kematian 100% pada konsentrasi 100 ppm setelah kontak selama 24 jam. Meski, fraksi n-heksana dinilai kurang toksik dibandingkan fraksi etil asetat. Hasil pengamatan uji biolarvasida, larutan uji terlihat lebih keruh dan berwarna agak kekuningan.

Hasil pengamatan larutan uji biolarvasida, terlihat lebih keruh dan berwarna agak kekuningan (Gambar 4). Fenomena ini terlihat, adanya pengendapan larva di dasar tabung dalam kondisi larva yang sebagian besar telah hancur. Beberapa bagian terdapat potongan larva terapung di permukaan larutan.



Gambar 4. Hasil uji biolarvasida (A) Kontrol negatif (B) Fraksi n-heksana

Mekanisme kematian larva disebabkan zat aktif fraksi heksan masuk ke dalam tubuh larva akan mengganggu alat pencernaan larva dan melarutkan lipin pada badan larva (Edwards, 2004). Pada akhirnya, larva akan mati dan hancur sehingga membuat larutan uji menjadi keruh. Sementara sebagian larva yang belum hancur akan terapung dipermukaan larutan uji dalam kondisi mati.

Hasil analisis GCMS secara lengkap disajikan dalam Tabel 4. Komposisi ekstrak heksana daun beluntas, selain quinic acid, juga mengandung adalah hydrazinecarboxamide, benzene acetic acid, dan 1,2-benzendicarboxylic acid.. Ketiga senyawa ini memiliki mekanisme kerja bioarvasida yang berbeda-beda.

Tabel 4. Hasil identifikasi komponen ekstrak n-heksana dengan GC-MS

Waktu tinggal	Komponen	Konsentrasi (%)
8,79	4-vinylphenol	2,65
8,8	Hydrazinecarboxamide	5,98
9,44	1,4-Benzenediol	4,77
	Hydroquinon	
10,78	Benzeneacetic acid	1,17
10,99	1,3-Cyclopentadiene	1,55
12,03	1,2-Benzenedicarboxylic acid	0,82
12,37	Quinic Acid	2,49

Ali dkk. (2014), menyatakan senyawa hydrazinecarboxamide dapat menyebabkan degenerasi pada pupa, keracunan pada instar larva, dan perubahan pada sistem respirasi larva nyamuk. Hal ini ditunjukkan adanya pengendapan larva di bagian bawah dan hancurnya pupa hingga terjadi kerusakan sel pupa yang menyebabkan larutan uji jadi keruh. Sementara, senyawa benzene acetic acid, 1,2-benzendicarboxylic acid hanya dapat menyebabkan degenerasi pupa pada sistem pernapasan (Ali dkk., 2014). Sifat biolarvasida juga ditunjukkan oleh nilai  $LC_{50}$  ekstrak n-heksana 100,79 ppm yang menunjukkan bahwa ekstrak n-heksana masih tergolong ekstrak yang sangat toksik.

## KESIMPULAN

Rendemen untuk ekstrak etanol, ekstrak n-heksana dan ekstrak etil asetat masing-masing sebesar 26,29, 14,05 dan 18,62%. Nilai  $LC_{50}$  dan  $LC_{100}$  ekstrak etil asetat sebesar 46,09 dan 783,12 ppm. Sedangkan nilai  $LC_{50}$  dan  $LC_{100}$  ekstrak n-heksana sebesar 100,79 dan 922,36 ppm. Berdasarkan analisa GC-MS, senyawa aktif biolarvasida yang terkandung dalam ekstrak etil asetat yaitu quinic acid dan senyawa dalam ekstrak n-heksana yaitu hydrazinecarboxamide, benzene acetic acid, dan 1,2-benzendicarboxylic acid.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, (2016), Satu Bulan Terakhir, 760 Kasus DBD Terjadi di Banten dan 25 Orang Meninggal, Beranda Kesehatan, Selasa 2 Februari 2016. Diakses dari: <http://www.radarbanten.co.id/satu-bulan-terakhir-760-kasus-dbd-terjadi-di-banten-dan-25-orang-meninggal/pada tanggal 17 Januari 2017, pukul 14:01>
- Agnetha, A.Y., (2010), Efek Ekstrak Bawang Putih (*Allium sativum* L) sebagai Larvasida Nyamuk *Aedes sp.*, Universitas Brawijaya. Malang. [etd.repository.ugm.ac.id/downloadfile/80224/.../SI-2015-304690-Bibliography.pdf](http://etd.repository.ugm.ac.id/downloadfile/80224/.../SI-2015-304690-Bibliography.pdf)
- Ali, Syed, M., Ravikumar, S., Margaret Beula, J., Anuradha, V., and Yogananth, N., (2014), Insecticidal Compounds from Rhizophoraceae Mangrove Plants for Management of Dengue Vector *Aedes aegypti*, *Journal Vector Borne*, 51, pp. 106-114.
- Andriana, A., Hamidah, dan Moehammadi, N., (2011), Uji Efektivitas Ekstrak Kulit Buah Jeruk Purut (*Citrus hystrix d.c.*) dan Jeruk Kalamondin (*Citrus mitis blanco*) sebagai Biolarvasida Nyamuk *Aedes aegypti* L., Universitas Airlangga. Surabaya. Diakses dari laman <http://journal.unair.ac.id/download-fullpapers-jurnal%20Agustin.pdf> pada tanggal 17 Januari 2017. Pukul 14:06
- Ardiansyah, Nuraida, L., dan Andarwulan, N., (2003), Aktivitas Antimikroba Ekstrak Daun Beluntas (*Plucea indica L.*) dan Stabilitas Aktivasnya pada Berbagai Konsentrasi Garam dan Tingkat pH, *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 14(2), hal. 8.
- Bhawan, V.R. and Nagar, A., (2012), Common Protocol for Uniform Evaluation of Insecticides/Bio-Larvacides for Use in Vector Control, Indian Council of Medical Research, New Delhi. pp 95-97, Diunduh pada 17 Januari 2017. <http://www.icmr.nic.in/icmrnews/Common%20Protocol.pdf>.
- Edwards, D. (2004), Environmental Effects of Mosquito Control, US Fish and Wildlife Service, [https://www.fws.gov/cno/refuges/DonEdwards/CCP-PDFs/Appendix-K4\\_EffectsofMosquitoControl.pdf](https://www.fws.gov/cno/refuges/DonEdwards/CCP-PDFs/Appendix-K4_EffectsofMosquitoControl.pdf). Diakses 17 Januari 2017, pukul 12.04.

- Kardinan, A., (2011), Penggunaan Pestisida Nabati Sebagai Kearifan Lokal dalam Pengendalian Hama Tanaman Menuju Sistem Pertanian Organic, Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik, *Jurnal Pengembangan Inovasi Pertanian*, 4(4), hal. 262-278.
- Komansilan, A., Abadi, A.L., Yanuwadi, B., Kaligis, D.A., (2013), Isolation and Identification of Biolarvicide from Soursop (*Annona muricata linn*) Seeds to Mosquito (*Aedes aegypti*) Larvae, *International Journal of Engineering and Technology*, 12(3), pp. 28-32.
- Manimaran, A.M., Mar Jee jee Cruz, Muthu, C., and Vincent, S. (2012), Larvicidal and Growth Inhibitory Activities of Different Plant Volatile Oils Formulation Against *Anopheles stephensi* (Liston), *Culex quinquefasciatus* Say and *Aedes aegypti* (L.), *International Journal of Phytotherapy Research*, 3(7), pp. 855-862.
- Moekasan, T.K. dan Prabaningrum, L., (2001), Stat-RIV 2.0: Program Komputer Pengolahan Data Untuk Analisis Probit dan Petunjuk Penggunaannya, *Balai Penelitian Holtikultura*, Lembang - Bandung. Monografi No. 22. ISBN: 979-8304-36-5
- Noorhajati, H., Aminah, N.S., Paramita, R., dan Diyani, (2013), Potensi Ekstrak Kulit Batang Trengguli (*Cassia fistula*) sebagai Biolarvasida Nyamuk *Aedes aegypti* yang Ramah Lingkungan, *Prosiding Seminar Rekayasa Kimia dan Proses*, Semarang. ISSN 1411-4216, Makalah A.02.
- Parwata, I.M.O.A., Santi, S.R., Sulaksana, I.M., dan Widiarthini, I.A.A., (2011), Aktivitas Larvasida Minyak Atsiri pada Daun Sirih (*Piper betle linn*) terhadap Larva Nyamuk *Aedes aegypti*, *Jurnal Kimia*, 5(1), hal. 88-93
- Susanti, L. dan Boesri, H., (2012), Toksisitas Biolarvasida Ekstrak Tembakau Dibandingkan dengan Ekstrak Zodia terhadap Jentik Vektor Demam Berdarah Dengue (*Aedes aegypti*), Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Vektor dan Reservoir Penyakit Salatiga, *Buletin Penelitian Kesehatan*, Volume 40, No. 2, Juni 2012, hal. 75 – 84.