

Potensi Ekstrak Daun *Marigold (Tagetes erecta L.)* sebagai Larvasida terhadap Larva *Aedes aegypti* di Laboratorium

Potential Extract of Marigold (Tagetes erecta L.) Leaves as Larvacide Against Aedes aegypti Larvae in the Laboratory

Marini *, Tanwirotun Ni'mah, Vivin Mahdalena, Rahayu Hasti Komariah dan Hotnida Sitorus

Balai Litbang Kesehatan Baturaja, Badan Litbang Kesehatan, Kementerian Kesehatan RI
Jl. A. Yani KM7 Kemelak Baturaja, Sumatera Selatan, Indonesia

INFO ARTIKEL

Article History:
Received: 6 Feb. 2018
Revised: 23 July 2018
Accepted: 26 Sep. 2018

Keywords:
marigold (*T. erecta L.*),
extract,
larvacide,
Ae. aegypti

Kata kunci:
marigold (T. erecta L.),
ekstrak,
larvasida,
Ae. aegypti

ABSTRACT / ABSTRAK

Control of mosquito vectors by using natural ingredients is being developed intensively. Marigold (*Tagetes erecta*) was widely used as a mosquito repellent plant. The results of research before had found that marigold leaf extract has a repulsive effect on *Aedes aegypti* mosquitoes. This study aimed to identify the potential of marigold leaf extract as larvacide against *Ae. aegypti* larvae in the laboratory. The material used in this research was extracts of marigold leaves. Larvacide test was carried out by dissolving of extract in water at the concentration of 2,000 ppm, 4,000 ppm, 6,000 ppm, 8,000 ppm, and 10,000 ppm. The larvae used was *Ae. aegypti* larvae as many as 25 larvae each five treatment of replications. Probit analysis was conducted on larval mortality after 24 hours of exposure. The results of the probit analysis showed that the estimated concentration of extracts that could result in larval mortality up to 95% (LC95) was 7,456 ppm. From the result we can conclude that ethanol extract of marigold leaves (*T. erecta L.*) has the biolarvacidal activity against *Ae. aegypti* larvae.

Pengendalian vektor nyamuk dengan memanfaatkan bahan alam makin banyak dikembangkan. *Marigold (T. erecta)* merupakan tumbuhan yang banyak dimanfaatkan sebagai tanaman pengusir nyamuk. Hasil penelitian sebelumnya menemukan bahwa ekstrak daun *marigold* memiliki daya tolak terhadap nyamuk *Ae. aegypti*. Penelitian ini bertujuan untuk melihat potensi ekstrak daun *marigold* sebagai larvasida terhadap larva *Ae. aegypti* instar III di laboratorium. Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstrak etanol daun *marigold* hasil ekstraksi dari penelitian sebelumnya. Uji larvasida dilakukan dengan melarutkan ekstrak dalam air pada konsentrasi 2.000 ppm, 4.000 ppm, 6.000 ppm, 8.000 ppm, dan 10.000 ppm. Larva yang digunakan yaitu larva *Ae. aegypti* sebanyak 25 larva tiap perlakuan dengan lima ulangan. Dilakukan analisis probit terhadap kematian larva setelah 24 jam paparan. Hasil analisa probit menunjukkan perkiraan konsentrasi ekstrak yang mampu mengakibatkan kematian larva hingga 95% (LC₉₅) adalah 7.456 ppm. Ekstrak etanol daun *marigold (T. erecta L.)* memiliki potensi sebagai biolarvasida terhadap larva *Ae. aegypti*.

© 2018 Jurnal Vektor Penyakit. All rights reserved

*Alamat Korespondensi : email : riniehta@gmail.com

PENDAHULUAN

Nyamuk dapat menjadi hewan berbahaya bagi manusia, karena dapat menimbulkan berbagai macam penyakit, seperti malaria, filariasis dan Demam Berdarah Dengue (DBD). Virus dengue sebagai penyebab DBD ditularkan melalui gigitan nyamuk terutama *Aedes aegypti* betina. Nyamuk *Aedes albopictus* juga dapat menularkan DBD akan tetapi peranannya dalam penyebaran penyakit ini

sangat kecil.¹

Berbagai upaya telah dilakukan oleh pemerintah untuk mengendalikan penyakit DBD, diantaranya dengan pengendalian larva yaitu dengan pemantauan jentik rutin (PJR), pemberantasan sarang nyamuk (PSN) yang dilakukan dengan beberapa cara yaitu kimia (pengasapan, larvasida abate),² biologi (ikan pemakan jentik, menggunakan bakteri *Bacillus thuringiensis*)³ dan mekanis (kegiatan

3M : menguras, menutup tempat penampungan air serta menimbun barang bekas yang dapat menampung air).⁴ Pemakaian bahan kimia pada pengendalian vektor nyamuk dapat menimbulkan efek negatif diantaranya pencemaran lingkungan dan resistensi vektor.^{5,6} Penggunaan pestisida kimia di Indonesia telah memusnahkan 55% jenis hama dan 72% agen pengendali hayati. Oleh karena itu diperlukan pestisida pengganti yang ramah lingkungan.⁷

Tumbuhan mengandung banyak bahan kimia yang merupakan metabolit sekunder dan digunakan oleh tumbuhan sebagai alat pertahanan diri dari serangan organisme pengganggu. Kandungan metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tumbuhan diketahui mampu membunuh organisme pengganggu seperti serangga, khususnya nyamuk. Dalam rangka pengendalian nyamuk yang ramah lingkungan dan dapat dijangkau oleh semua masyarakat, diharapkan tumbuhan-tumbuhan yang ada disekitar pemukiman dapat dimanfaatkan, yaitu dengan memanfaatkan kandungan metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tumbuhan tersebut.

Marigold (T. erecta) banyak dijumpai di pekarangan dan di sekitar rumah sebagai tanaman hias karena memiliki bunga yang menarik dan tahan lama,^{8,9} memiliki bau khas yang menyengat sehingga banyak digunakan sebagai tanaman pengusir serangga.^{10, 11} Penelitian daya tolak ekstrak daun *marigold* terhadap nyamuk *Ae. aegypti*, yang telah dilakukan oleh Marini, dkk menunjukkan bahwa ekstrak daun *marigold* memiliki aktifitas repelen terhadap nyamuk *Ae. aegypti*.¹⁰ Berdasarkan hasil penelitian tersebut juga diketahui bahwa ekstrak daun *marigold* mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin.¹⁰ Senyawa fitokimia tersebut memiliki efek sebagai insektisida nabati.^{10, 12, 13} Berdasarkan hasil penelitian tersebut maka peneliti ingin melihat potensi lain dari ekstrak etanol daun *marigold* yaitu sebagai larvasida. Penelitian ini bertujuan untuk melihat potensi ekstrak etanol daun *marigold* sebagai larvasida terhadap *Ae. aegypti* di laboratorium.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini telah dilaksanakan dari bulan April sampai dengan Mei tahun 2017 di Laboratorium Entomologi Balai Litbang Kesehatan Baturaja. Ekstrak yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstrak etanol daun *marigold* yang merupakan hasil ekstraksi yang dilakukan secara maserasi dari penelitian sebelumnya.¹⁰

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen murni menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan lima kali ulangan dan satu kontrol. Instrumen yang digunakan pada penelitian ini adalah formulir pengamatan. Dalam penelitian ini diperlukan alat berupa kontainer plastik, pipet tetes, gelas ukur, kain kassa, tabung reaksi, timbangan. Bahan yang dibutuhkan adalah ekstrak etanol daun *marigold*, *tween 80* dan akuades. Sampel dari penelitian ini adalah 25 larva nyamuk *Ae. aegypti strain* Jepang instar III per konsentrasi.

Variasi konsentrasi ditentukan berdasarkan hasil uji pendahuluan pada penelitian ini, yaitu konsentrasi 2.000 ppm (*part per million*), 4.000 ppm, 6.000 ppm, 8.000 ppm, dan 10.000 ppm. Pembuatan larutan uji dilakukan dengan terlebih dahulu membuat larutan stok 10.000 ppm dengan melarutkan 4 gram ekstrak etanol daun *marigold* dengan akuades 2 liter. Konsentrasi larutan uji yang lain dibuat melalui pengenceran menggunakan rumus:

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

Keterangan :

- V_1 = Volume yang dibutuhkan
- N_1 = Konsentrasi awal
- V_2 = Volume yang diinginkan
- N_2 = Konsentrasi yang diinginkan

Prosedur pengujian mengacu pada standar pengujian larvasida dari WHO.¹⁴ Pengujian dilakukan menggunakan lima variasi konsentrasi dan satu kontrol dengan pengulangan sebanyak lima kali. Masing-masing konsentrasi menggunakan 25 ekor larva uji, sehingga berdasarkan pengulangan yang dilakukan, maka jumlah larva yang dibutuhkan pada penelitian ini adalah 125 larva per perlakuan, total keseluruhan dibutuhkan sebanyak 750 larva.

Pengamatan dilakukan dengan cara menghitung jumlah kematian larva nyamuk setelah 1 jam dan 24 jam paparan ekstrak uji.¹⁴ Data selanjutnya di analisis secara probit menggunakan SPSS 17.0 untuk memperoleh nilai LC₉₅.

Persiapan larva uji dilakukan dengan aklimatisasi selama satu jam, dengan tujuan memperoleh larva yang sehat dan siap digunakan pada penelitian. Larva yang dipilih adalah larva yang tampak lincah dan aktif bergerak dengan gerakan membentuk angka delapan (*zig-zag*) dan gerakan naik turun ke permukaan air dan turun ke dasar wadah (kontainer).

HASIL

Pengamatan terhadap homogenitas ekstrak setelah pengenceran, dilakukan pada uji pendahuluan. Dari hasil uji pendahuluan tersebut diketahui bahwa tingginya konsentrasi ekstrak mengakibatkan ekstrak tidak bisa tercampur sempurna sehingga perlu ditambahkan *tween 80*.

Hal ini sesuai dengan sifat homogenitas larutan ekstrak, yaitu semakin tinggi konsentrasi maka larutan semakin lengket dan berminyak serta tidak bisa terlarut dengan sempurna sehingga perlu ditambahkan *tween 80*. Penggunaan *tween 80* berfungsi sebagai senyawa yang menghomogenkan larutan namun tidak bersifat toksik terhadap larva dan tidak mempengaruhi hasil uji:

Pengamatan kematian larva dilakukan setelah paparan dengan ekstrak daun *marigold* selama satu jam dan 24 jam. Hal ini dilakukan untuk mengetahui kecepatan reaksi ekstrak etanol daun *marigold* terhadap kematian larva. Berdasarkan hasil pengamatan diketahui bahwa reaksi ekstrak etanol daun *marigold* sudah terjadi pada satu jam pertama setelah paparan, yaitu ditemukan 16% kematian larva pada konsentrasi 10.000 ppm.

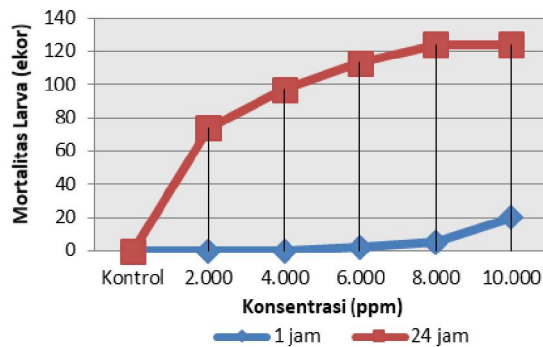
Persentase kematian larva semakin meningkat seiring bertambahnya waktu paparan. Semakin tinggi konsentrasi maka kematian larva semakin tinggi. Kematian lebih dari 95% setelah paparan 24 jam terjadi pada konsentrasi 8.000 ppm dan 10.000 ppm. Hasil

selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 1 dan Gambar 1.

Tabel 1. Persentase Kematian Larva *Ae. aegypti* Setelah Paparan dengan Ekstrak Daun *Marigold* 1 Jam dan 24 Jam.

Konsentrasi (ppm*)	Σlarva uji	Mortalitas Larva uji			
		1 jam	%	24 jam	%
Kontrol	125	0	0	0	0
2.000	125	0	0	74	59,2
4.000	125	0	0	97	77,6
6.000	125	2	1,6	113	90,4
8.000	125	5	4	124	99,2
10.000	125	20	16	124	99,2

Keterangan : * ppm = part per million



Gambar 1. Grafik Mortalitas Larva *Ae. aegypti* setelah Paparan dengan Ekstrak Daun *Marigold* 1 Jam dan 24 Jam.

Pengamatan secara morfologi terhadap larva uji, terlihat bahwa semakin tinggi konsentrasi maka kondisi fisik larva uji semakin banyak yang rusak/hancur. Hal ini terlihat pada pengamatan 24 jam setelah perlakuan, kondisi larva uji tidak sempurna. Pada konsentrasi tertinggi hanya beberapa ekor larva uji yang masih utuh. Pada konsentrasi 8.000 ppm dan 10.000 ppm hanya satu larva yang masih hidup dan hampir semua larva tubuhnya hancur.

Perkiraan konsentrasi ekstrak yang mampu membunuh larva hingga 95% (LC₉₅) dari hasil analisa probit adalah 7.456 ppm. Nilai LC₉₅ berdasarkan hasil analisa probit dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Perhitungan nilai LC₉₅ ekstrak daun *marigold*.

Sampel	LC ₉₅ (ppm)
Ekstrak daun <i>marigold</i> (<i>T. erecta</i> L.)	7.456 Lower bound : 6,376 Upper bound : 9,251

PEMBAHASAN

Menurut Kartika dan Isti'annah, bahwa upaya pengendalian vektor DBD, salah satunya adalah dengan memutus siklus hidup nyamuk pada stadium larva. Pemberantasan stadium larva dapat dilakukan secara hayati dan kimia, dan untuk menghindari efek negatif penggunaan bahan kimia sintesis maka digunakan alternatif lain yaitu senyawa kimia hayati yang diperoleh langsung dari tumbuhan.¹⁵ Senyawa kimia yang dianggap dapat berpotensi sebagai pestisida pada tumbuhan merupakan hasil metabolit sekunder.¹⁶ Berdasarkan hasil uji fitokimia, ekstrak etanol daun *marigold* diketahui mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin dan tanin.¹⁰ Menurut Bhatt, bahwa *T. erecta* L. memiliki kandungan minyak atsiri. Aktivitas minyak atsiri dari *T. erecta* L. dan *Cymbopogon flexuosus* mampu membunuh larva *Ae. aegypti*.¹⁷

Pada penelitian ini digunakan larva nyamuk *Ae. aegypti* strain Jepang instar III awal. Tujuan penggunaan larva instar III awal adalah agar saat pengamatan setelah 24 jam paparan, larva belum mencapai tahap pupa. Selain itu, instar III dianggap secara morfologi lebih sempurna sehingga memiliki sistem pertahanan yang lebih baik.²⁰ Menurut Sulastri dan Cahyati, bahwa pemilihan instar III sebagai hewan uji, selain morfologi sudah sempurna karena merupakan fase makan bagi larva nyamuk.²¹

Hasil pengamatan pada penelitian diketahui bahwa ekstrak etanol daun *marigold* tergolong kedalam jenis racun kontak. Hal ini terlihat dari cepatnya reaksi kematian larva, yaitu pada satu jam pertama setelah paparan. Menurut Moerid dkk, respon mortalitas larva uji yang terpapar racun kontak lebih cepat, karena racun kontak langsung dapat membunuh larva jika ada kontak pada bagian luar tubuh ataupun salah satu anggota tubuh.²²

Gerakan larva yang melambat dan hancurnya tubuh larva mungkin disebabkan efek racun dari ekstrak daun *marigold* yaitu saponin dan alkaloid. Senyawa saponin mempunyai kemampuan untuk merusak membran sel dengan cara merubah struktur sel yang dapat mengakibatkan sel mengalami

lisis.^{23, 24} Menurut Utami, senyawa alkaloid dalam bentuk garam dapat mendegradasi membran sel dan merusak sel serta dapat juga merusak sistem kerja saraf. Terjadinya perubahan pada larva seperti menjadi lebih transparan dan gerakannya melambat dan selalu membengkokkan badannya dapat disebabkan oleh senyawa alkaloid.²

Hasil analisis probit uji larvasida yang dilakukan, diperoleh LC_{95} sebesar 7.495 ppm (Tabel 2). Apabila merujuk pada pendapat Ni'mah dan Komisi Pestisida Departemen Pertanian, yang menyatakan bahwa larvasida dikatakan efektif apabila dapat mematikan 90-100% larva uji dan memiliki nilai LC_{50} dibawah 1000 ppm,^{25, 26} maka ekstrak daun *marigold* belum efektif untuk dijadikan pestisida karena nilai LC_{50} masih diatas 1000 ppm, yaitu sebesar 1763 ppm. Menurut Arbieastuti bahwa suatu ekstrak bahan alam dinyatakan berpotensi pestisida jika nilai LC_{50} adalah >200 - 1.000 ppm.²⁷ Semakin tinggi nilai LC_{50} maka akan semakin banyak bahan yang dibutuhkan sehingga ekstrak tersebut semakin tidak efisien dan tidak ekonomis jika dijadikan sumber larvasida nabati.²⁷

Kandungan lain yang berpotensi sebagai larvasida yaitu senyawa tanin. Interaksi tanin dengan protein dapat bersifat racun yang berperan dalam menghambat pertumbuhan dan mengurangi nafsu makan serangga melalui penghambatan aktivitas enzim pencernaan.²³

Kandungan senyawa flavonoid dapat bekerja sebagai inhibitor kuat pernafasan atau sebagai racun pernafasan. Kondisi larva yang gerakannya melambat dan tidak normal lagi dapat disebabkan oleh senyawa flavonoid. Cara kerja flavonoid masuk ke tubuh larva yaitu melalui sifon sehingga mengakibatkan kerusakan sistem pernafasan larva.²⁸ Hal ini terlihat saat pengamatan satu jam, terlihat larva banyak sejajar dipermukaan air, kemungkinan hal itu karena posisi tersebut memudahkannya mengambil oksigen, gerakan dan respon larva melambat, yaitu harus diberi sentuhan baru bergerak.

Hasil penelitian terhadap ekstrak daun *marigold* untuk melihat potensinya sebagai pestisida alami, yaitu terhadap nyamuk dewasa dengan pengaplikasian sebagai

repelen,¹⁰ dan pemanfaatannya sebagai biolarvasida dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun *marigold* memiliki potensi sebagai pestisida. Ekstrak tanaman dapat dijadikan sebagai larvasida dan anti nyamuk alternatif selama meraka memiliki potensi bioaktif, tetapi diperlukan pengkajian lebih dalam dengan mengisolasi senyawa bioaktif tersebut.²⁹

KESIMPULAN

Ekstrak etanol daun *marigold* (*T. erecta L.*) belum berpotensi sebagai biolarvasida hayati dengan nilai LC₉₅ 7.456 ppm.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan menggunakan kandungan senyawa kimia spesifik dari ekstrak daun *marigold* agar mendapatkan nilai LC₅₀ dan LC₉₅ yang lebih kecil.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada bapak Yahya, SKM.,M.Si, bapak Lasbudi P. Ambarita, S.Si, M.Si, ibu Milana Salim, S.Si, M.Si yang telah membantu dalam penyempurnaan tulisan ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Betriyon, Yahya. Potensi Serbuk Daun Sirih (*Piper betle*, Linn.) sebagai Larvasida Nyamuk *Aedes aegypti*. *Spirakel*. 2013;1.
- Utami WW, Ahmad AR, Malik A. Uji Aktivitas Larvasida Ekstrak Daun jarak Kepyar (*Ricinus communis L.*) terhadap Larva Nyamuk *Aedes aegypti*. *J Fitofarmaka Indones*. 2014;3(1):141-145.
- Benelli G, Jeffries CL, Walker T. Biological Control of Mosquito Vectors: Past, Present, and Future. *Insects*. 2016;7(4):1-18. doi:10.3390/insects7040052.
- Tairas S, Kandou GD, Posangi J. Analisis Pelaksanaan Pengendalian Demam Berdarah Dengue di Kabupaten Minahasa Utara. *JIKMU*. 2015;5(1):21-29.
- Widiastuti D, Kalimah IF. Efek Larvasida Metabolit Sekunder *Beauveria bassiana* terhadap Kematian Larva *Aedes aegypti*. *Spirakel*. 2016;8(2):1-8.
- Champakaew D, Junkum A, Chaithong U, et al. Assessment of *Angelica Sinensis* (Oliv.) Diels as a Repellent for Personal Protection Against Mosquitoes Under Laboratory and Field Conditions in Northern Thailand. *Parasit Vectors*. 2016;9(1):373. doi:10.1186/s13071-016-1650-y.
- Ridwan M, Isharyanto. Potensi Kemangi sebagai Pestisida Nabati. *Serambi Saintia*. 2016;IV(1):27-34.
- Munhoz VM, Longhini R, Souza JRP, et al. Extraction of flavonoids from *Tagetes patula*: process optimization and screening for biological activity. *Brazilian J Pharmacogn*. 2014;24:576-583. doi:10.1016/j.bjp.2014.10.001.
- Sakthivadivel M, Gunasekaran P, Tenzin G, et al. Laboratory evaluation of Asteraceae species *Tagetes erecta* Linnaeus and *Tridax procumbens* Linnaeus for their toxicity against the larvae of *Culex quinquefasciatus* Say 1823 (Diptera : Culicidae). 2016;3(3):35-46.
- Marini, Ni'mah T, Mahdalena V, Komariah RH, Sitorus H. Potensi Daya Tolak Ekstrak Daun Marigold (*Tagetes erecta L.*) terhadap Nyamuk *Aedes aegypti*. *Balaba*. 2018;14(1).
- Arefin S, Islam MT, Hossain MT. Proximate Analysis , Phytochemical Screening and Antioxidant Activity of *Tagetes erecta* Flower Growing in Coastal Area of Bangladesh. *J Glob Biosci*. 2015;4(05):140-151.
- Noshirma M, Willa RW. Larvasida Hayati yang Digunakan dalam Upaya Pengendalian Vektor Penyakit Demam Berdarah di Indonesia. *SEL*. 2016;3(1):31-40.
- Widawati M dan Prasetyowati H. Efektivitas Ekstrak Buah *Beta vulgaris L.* (Buah Bit) Dengan Berbagai Fraksi Pelarut Terhadap Mortalitas Larva *Aedes aegypti*. *Aspirator*. 2013;5(1):23-29.
- WHOPEP. *Guidelines for Laboratory and Field Testing of Mosquito Larvicides World Health Organization Communicable Disease Control, Prevention and Eradication WHO Pesticide Evaluation Scheme.*; 2005. http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/69101/1/WHO_CDS_WHOPEP_GCDPP_2005.13.pdf. Accessed August 11, 2017.
- Kartika FD, Isti'anah S. Efek Larvasida Ekstrak Etanol Daun kemangi (*Ocimum sanctum Linn*) terhadap Larva Instar III *Aedes aegypti*. *JKKI*. 2014;6(1):37-45.
- Salim M, Sitorus H, Yahya, Ni'mah T, Marini. Hubungan Kandungan Hara Tanah dengan Produksi Senyawa Metabolit Sekunder pada

- Tanaman Duku (*Lansium domesticum* Corr var *Duku*) dan Potensinya sebagai Larvasida. *J Vektor Penyakit*. 2016;10(1):11-18.
17. Bhatt BJ. Comparative analysis of larvicidal activity of essential oils of *Cymbopogon flexuosus* (Lemon grass) and *Tagetes erecta* (Marigold) against *Aedes aegypti* larvae. *Eur J Exp Biol*. 2013;3(5):422-427. <http://www.imedpub.com/articles/comparative-analysis-of-larvicidal-activity-of-essential-oils-of-cymbopogon-flexuosus-lemon-grass-and-tagetes-erecta-marigoldagains.pdf>. Accessed March 16, 2017.
 18. Dwijayati N. Aktivitas Larvasida Ekstrak Daun Kemuning (*Murraya paniculata* (L.) Jack.) Terhadap Larva *Aedes aegypti*. *J Ilm Mhs Univ Surabaya*. 2013;2(2):1-14.
 19. Widawati M, Prasetyowati H, Hodijah DN, Riandi MU. Enkapsulasi *B. bassiana* menggunakan maizena dan daya infeksi terhadap larva *Aedes aegypti*, *Anopheles sp.*, *Culex sp.* *Aspirator*. 2015;7(2):36-41.
 20. Kuncoro H. Aktivitas Larvasida Ekstrak Daun Tumbuhan Mara Tunggal (*Clausena excavata* BURM.F) dan Daun Zodia (*Euodia ridleyi* HOCHR) terhadap Larva Nyamuk *Culex SP.* *J Trop Pharm Chem*. 2013;2(2):91-99. doi:10.25026/jtpc.v2i2.53
 21. Sulastris, Cahyati WH. Dosis Konsentrasi Tawas (Al₂(SO₄)₃) Terhadap Kematian Larva *Aedes Aegypti*. *J Care*. 2016;4(2):1-10.
 22. Moerid MS, Mangindaan R, F Losung. Uji Aktivitas Larvasida Nyamuk *Aedes aegypti* dari beberapa ekstrak ascidian. *Pesisir dan Laut Trop*. 2013;1(1):15-20.
 23. Ningsi EW, Yuniar N, Fachlevy AF. Efektivitas Uji Daya Bunuh Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) Terhadap Larva Nyamuk *Anopheles aconitus* Donits dalam Upaya Pencegahan Penyakit Malaria di Daerah Persawahan Desa Lalonggombu Kecamatan Andoolo Kabupaten Konawe Selatan. *Fak Kesehatan Masy Univ Halu Oleo*. 2016:1-10.
 24. Wijayani L. A, S.I. Efek Larvisidal Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum sanctum* Linn) terhadap Larva Instar III *Culex quinquefasciatus*. *Biomedika*. 2014;6(2):5-8.
 25. Pestisida K. *Metode Standar Pengujian Efikasi Pestisida*. Jakarta: Departemen Pertanian; 2012.
 26. Ni'mah, Tanwirotnun, Oktarina R, Mahdalena V, Asyati D. Potensi Ekstrak Biji Duku (*Lansium domesticum* Corr) terhadap *Aedes aegypti*. *Bul Penelit Kesehat*. 2014;43(2):131-136.
 27. Y A, Muflihati. Isolasi dan Uji Aktivitas Kandungan Kimia Bioaktif dari Biji Duku (*Lansium domesticum* Corr). *J Penelit Univ Tanjungpura*. 2008;x(2):70-86.
 28. Cania E, Setyaningrum E. Uji Efektivitas Larvasida Ekstrak Daun Legundi (*Vitex trifolia*) terhadap Larva *Aedes aegypti*. *Med J Lampung Univ*. 2013;52(4):52-60. <http://jukeunila.com/MAJORITY/Volume 2 No.4/62-116-1-SM.pdf>. Accessed July 14, 2017.
 29. Susheela CP. Evaluation of larvicidal action of natural extracts on mosquito larvae of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Int J Mosq Res I J M R*. 2016;3(36):26-30. <http://www.dipterajournal.com/pdf/2016/vol3issue6/PartA/3-5-3-227.pdf>. Accessed March 16, 2017.