

PERBEDAAN JUMLAH KEMATIAN LARVA NYAMUK *Aedes aegypti* DENGAN PEMBERIAN EKSTRAK BIJI KELOR (*Moringa oleifera*) PELARUT ETANOL DAN AQUADES

Nur Laelatul Fitriyah, S.M.J. Koamesah, Rr. Listyawati Nurina

ABSTRAK

Aedes aegypti merupakan vektor dari berbagai penyakit seperti dengue, chikungunya, yellow fever dan zika. Demam berdarah dengue di Kota Kupang terjadi peningkatan dari tahun 2014 – 2016. Salah satu upaya pengendalian kasus DBD adalah abatesasi, namun sudah terjadi resistensi di beberapa wilayah Indonesia. Oleh karena itu, perlu dikembangkan tanaman kelor yang memiliki senyawa *alkaloid*, *saponin*, *tannin* dan *flavonoid* sebagai larvasida biologi, yang mana kelor sebagai tanaman daerah semiringkai sesuai dengan kondisi geografis di Kota Kupang. Tujuan penelitian ini menganalisis jumlah kematian larva nyamuk *Aedes aegypti* dengan pemberian ekstrak biji kelor (*Moringa oleifera*) pelarut etanol dan aquades dalam jangka waktu 48 jam. Metode penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan pendekatan *post test control group*. Ekstraksi menggunakan pelarut etanol dan aquades dengan berat simplisia 300g dalam 1.100 mL volume pelarut selama 36 jam. Penelitian dilakukan terhadap larva *Aedes aegypti* instar III/IV dengan 4 kelompok yaitu ekstrak etanol biji kelor, ekstrak aquades biji kelor, kontrol negatif dan kontrol positif dengan 5 kali pengulangan. Data dianalisis menggunakan uji *T Independent* untuk mengetahui apakah ada perbedaan jumlah kematian larva nyamuk *Aedes aegypti* dengan pemberian ekstrak biji kelor (*Moringa oleifera*) antara pelarut etanol dan aquades. Hasil rerata jumlah kematian larva pada tiap kelompok perlakuan yaitu kelompok ekstrak etanol biji kelor (4,2 larva), ekstrak aquades biji kelor (3,2 larva), kontrol negatif (0 larva) dan kontrol positif (25 larva). Kesimpulan hasil penelitian menunjukkan rerata persentase jumlah kematian larva nyamuk *Aedes aegypti* dengan pemberian ekstrak biji kelor (*Moringa oleifera*) pelarut etanol adalah 16,8% dan pelarut aquades adalah 12,8% artinya tidak ada perbedaan signifikan diantara keduanya dengan nilai $p > 0,095$.

Kata Kunci : Larva *Aedes aegypti*, Ekstrak Biji Kelor (*Moringa oleifera*), Pelarut Etanol dan Pelarut Aquades

Aedes aegypti merupakan vektor dari berbagai penyakit seperti dengue, chikungunya, yellow fever dan zika. *Aedes aegypti* tersebar luas di berbagai dunia khususnya pada daerah perkotaan. *Aedes aegypti* betina mengambil darah manusia maupun mamalia lain yang membuatnya menjadi vektor sebagai pembawa virus dengue, chikungunya, yellow fever dan zika⁽¹⁾.

Demam Berdarah Dengue (DBD) merupakan masalah kesehatan dunia yang ditularkan oleh virus dengue yang tergolong *Arthropod- Borne Virus*. Demam Berdarah Dengue ditularkan melalui air liur

dari gigitan nyamuk genus *Aedes*, terutama *Aedes aegypti* atau *Aedes albopictus*. Kementerian Kesehatan Indonesia melaporkan pada tahun 2016 terdapat jumlah kasus DBD sebanyak 204.171 kasus dengan kematian sebanyak 1.598 orang. Kasus DBD tahun 2016 tersebut mengalami peningkatan dibandingkan tahun 2015 sebanyak 50,75 menjadi 78,85 per 100.000 penduduk⁽²⁾. Kejadian DBD di Provinsi Nusa Tenggara Timur (NTT) tahun 2014- 2016 berturut-turut sebanyak 487, 665 dan 1.213 kasus, sedangkan di Kota Kupang pada tahun 2014 - 2016 secara berurutan terdapat 102, 239 dan 381 kasus, data tersebut menunjukkan adanya

kenaikan kasus DBD di NTT maupun di Kota Kupang dari tahun 2014-2016⁽³⁾⁽⁴⁾⁽⁵⁾.

Penyakit DBD hingga saat ini belum ditemukan obat yang efektif untuk pengobatannya. Upaya pencegahan DBD dilakukan melalui kegiatan Pemberantasan Sarang Nyamuk (PSN) – DBD, melalui kegiatan abatesasi massal maupun selektif, penyelidikan epidemiologi, larvasida dengan membunuh jentik nyamuk aedes, *fogging focus*, dan penyuluhan⁽⁶⁾. Cara lain dapat dilakukan dengan pengendalian larva nyamuk yang dapat dikontrol secara kimiawi maupun biologi⁽⁷⁾. Larvasida kimia yang digunakan secara terus-menerus dapat mengakibatkan efek buruk terhadap lingkungan sehingga terjadi resistensi terhadap sarangnya. Di beberapa wilayah Indonesia sudah didapatkan adanya resisten abate pada larva *Aedes aegypti*, sehingga perlunya beralih dari larvasida kimiawi ke larvasida biologi⁽⁸⁾⁽⁹⁾. Larvasida biologi dapat berasal dari hewan (larvasida hewani) maupun tumbuhan (larvasida nabati). Larvasida nabati didapatkan dari mulai akar, batang, daun, buah, hingga bijinya.

Tanaman kelor (*Moringa oleifera*) merupakan tumbuhan asli daerah Himalaya, akan tetapi saat ini sudah menjadi tumbuhan asli di beberapa wilayah Indonesia, salah satunya sebagai tumbuhan lokal di daerah semiringkai kepulauan NTT. Nusa Tenggara Timur mengenal kelor sebagai salah satu menu sayuran yang dikonsumsi oleh masyarakat setempat⁽¹⁰⁾. Manfaat dan khasiat tanaman kelor terdapat pada semua bagian tanaman baik daun, batang, akar, maupun biji, sehingga disebut sebagai *Miracle tree* dan *Mother's Best Friend*. Biji kelor dapat diolah menjadi tepung atau minyak sebagai bahan baku pembuatan obat dan kosmetik yang bernilai tinggi. Minyak hasil dari biji kelor yang diekstraksi memiliki senyawa alkaloid, flavonoid, saponin dan tanin. Namun saat ini ekstraksi biji kelor belum banyak dimanfaatkan dalam industri pengolahan dan belum banyak diperjual belikan di kalangan ekstraksi minyak nabati⁽¹⁰⁾.

Penelitian sebelumnya dilaporkan ekstrak dahan kelor efektif dalam membunuh larva *Aedes aegypti*, ekstrak biji sirsak efektif dalam membunuh larva *Aedes aegypti*, ekstrak etanol biji kelor efektif dalam membunuh larva *Aedes aegypti*, dan juga ekstrak daun sirih efektif dalam membunuh pupa *Culex* yang mana pelarut metanol lebih cepat dibandingkan etanol, begitu pula dengan aquades⁽¹¹⁾⁽¹²⁾⁽¹³⁾⁽¹⁴⁾.

Berdasarkan uraian di atas, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian dengan judul “Perbedaan Jumlah Kematian Larva Nyamuk *Aedes aegypti* Dengan Pemberian Ekstrak Biji Kelor (*Moringa oleifera*) Pelarut Etanol Dan Aquades” untuk mengetahui perbedaan jumlah kematian larva nyamuk *Aedes aegypti* pada ekstrak biji kelor (*Moringa oleifera*) pelarut etanol dan aquades yang dilakukan secara bersamaan, sehingga didapatkan hasil yang dapat diaplikasikan oleh masyarakat secara mudah dan efektif.

METODELOGI PENELITIAN

Jenis penelitian ini adalah penelitian *experimental* dengan pendekatan *Post test control group*, menggunakan 5 kelompok (kelompok etanol, ekstrak etanol biji kelor, ekstrak aquades biji kelor, kontrol negatif dan kontrol positif). Populasi penelitian ini adalah larva *Aedes aegypti* instar III/IV. Sampel pada penelitian ini digunakan 25 ekor sampel tiap kelompok sesuai dengan rekomendasi WHO⁽¹⁵⁾. Larva dimasukkan dalam 5 wadah perlakuan dengan setiap wadah berisi 25 ekor larva yang dilakukan replikasi sebanyak 5 kali⁽¹⁶⁾. Sehingga jumlah sampel adalah 625 larva.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Simplisia

Bahan yang digunakan dalam pembuatan simplisia adalah biji kelor yang telah dikupas yang diperoleh dari tempat pengumpulan. Biji kelor yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 840 gram

selanjutnya dihaluskan dan disaring sehingga diperoleh 800 gram serbuk biji kelor (simplisia).

Ekstraksi

Simplisia biji kelor sebanyak 800 gram, selanjutnya digunakan untuk proses ekstraksi metode maserasi pada masing-masing pelarut etanol dan aquades digunakan 300 gram simplisia dalam 1100 mL selama tiga hari. Hasil penyaringan dari proses maserasi pada pelarut etanol sebanyak 650 mL dan pelarut aquades sebanyak 750 mL. Hasil penyaringan diendapkan selama satu malam, kemudian dilakukan penguapan dengan *rotatory evaporator* pada ekstrak pelarut etanol hingga didapatkan 150 mL ekstrak etanol biji kelor.

Kadar Sisa Etanol

Ekstrak etanol biji kelor sebanyak 150 mL yang didapatkan dari proses sebelumnya, selanjutnya dilakukan uji kadar sisa etanol menggunakan alat *alcoholmeter*. Hasil didapatkan kadar etanol dalam ekstrak etanol biji kelor adalah 0%.

Hasil Deskriptif

Tabel 1. Jumlah kematian larva *Aedes aegypti* setelah 48 jam pengamatan.

Replikasi	Kelompok			
	K2	K3	K4	K5
I	5	3	0	25
II	4	3	0	25
III	4	4	0	25
IV	3	2	0	25
V	5	4	0	25
Jumlah	21	16	0	125
Rata-rata	4,2	3,2	0	25
Presentase(%)	16,8	12,8	0	100

Keterangan : K2 = kelompok ekstrak etanol biji kelor, K3 = kelompok ekstrak aquades biji kelor, K4 = kelompok tidak diberi perlakuan (kontrol negatif), dan K5 = kelompok abate (kontrol positif)

Waktu penelitian perbedaan jumlah kematian larva *Aedes aegypti* dengan pemberian ekstrak biji kelor (*Moringa oleifera*) pelarut etanol dan aquades dilakukan selama 48 jam. Hasil pengamatan dan perhitungan jumlah kematian larva *Aedes aegypti* instar III/IV pada tabel 4.1 diatas memperlihatkan bahwa jumlah kematian larva *Aedes aegypti* pada kelompok K2 sebanyak 16,8%, K3 sebanyak 12,8%, K4 sebanyak 0%, dan K5 sebanyak 100% dari total sampel sebanyak 25 ekor pada setiap kelompok dan replikasi.

Uji Normalitas Data

Tabel 2. Hasil uji normalitas Kolmogrov-Smirnov

	Pelarut Ekstrak Biji Kelor	Sig	Keterangan
Jumlah Larva Mati	Ekstrak Etanol Biji Kelor	0,200	Distribusi Normal
	Ekstrak Aquades Biji Kelor	0,200	Distribusi Normal

Keterangan: Uji normalitas Kolmogrov-Smirnov dengan $\alpha = 0,05$

Hasil uji normalitas menunjukkan bahwa jumlah larva mati pada ekstrak etanol maupun aquades biji kelor memiliki nilai signifikansi 0,200 ($p > 0,05$), maka dapat disimpulkan bahwa data berdistribusi normal.

Uji T Independent

Tabel 4. Hasil uji T independent

	n	Rerata \pm s.b	Perbedaan Rerata (IK 95%)	p
Ekstrak etanol biji kelor	5	4,20 \pm 0,837	1.000 (-0,22-2,220)	0,095*
Ekstrak aquades biji kelor	5	3,20 \pm 0,837		

Keterangan: Uji T tidak berpasangan dengan $\alpha = 0,05$; $p > 0,05$

Hasil uji *T independent* menunjukkan nilai signifikansi 0,095 dengan ($p > 0,05$), maka dapat disimpulkan tidak terdapat perbedaan rerata jumlah larva mati *Aedes aegypti* dengan pemberian ekstrak biji kelor pelarut etanol dan aquades.

Perbedaan Jumlah Kematian Larva *Aedes aegypti* dengan Pemberian Ekstrak Biji Kelor (*Moringa oleifera*) Pelarut Etanol dan Aquades

Setiap tanaman memiliki senyawa metabolit sekunder yang berbeda-beda, dipengaruhi oleh morfologi, populasi, dan keadaan lingkungan tanaman berasal. Senyawa metabolit sekunder pada tanaman dapat mempengaruhi perilaku, pertumbuhan dan pengembangan, serta reproduksi serangga dan bersifat patogen (bioinsektisida)⁽¹⁷⁾. Oleh karena itu, untuk mencari alternatif dalam mengontrol serangga maka digunakanlah sifat dari sebuah tanaman⁽¹⁸⁾.

Senyawa metabolit sekunder dari sebuah tanaman dapat didapatkan dengan berbagai cara, salah satunya dengan melakukan ekstraksi dari tanaman tersebut. Proses ekstraksi tanaman dapat dilakukan dengan menggunakan sebuah pelarut yang sesuai dengan sifat/senyawa dari sebuah tanaman. Pelarut memiliki tingkat kepolaran yang berbeda-beda yang akan mempengaruhi kandungan dari senyawa metabolit yang akan dihasilkan. Pelarut polar memiliki tingkat kepolaran yang tertinggi yang akan menarik senyawa metabolit lebih banyak dibandingkan pelarut semi polar dan non polar⁽¹⁹⁾⁽²⁰⁾. Senyawa polar diketahui dapat menarik senyawa *alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, terpenoid, polisakarida* dan *tannin*⁽²⁰⁾⁽²¹⁾⁽²²⁾.

Pelarut etanol dan aquades diketahui memiliki tingkat kepolaran yang berbeda sehingga akan mempengaruhi hasil dari senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan⁽²²⁾. Dalam proses pembuatan ekstrak etanol biji kelor, dilakukan maserasi dan sesudahnya dilakukan evaporasi guna menguapkan pelarut etanol

yang digunakan, sehingga dihasilkan ekstrak etanol biji kelor yang bebas dari etanol sisa (kadar sisa etanol 0%). Oleh karena itu, ekstrak biji kelor dengan pelarut etanol dapat dikatakan sama dengan ekstrak biji kelor pelarut aquades.

Pelarut etanol maupun aquades telah diketahui termasuk jenis pelarut polar, sehingga akan menarik senyawa polar jika digunakan untuk mengekstraksi. Biji kelor yang diekstraksi menggunakan pelarut etanol maupun aquades diketahui dapat menarik senyawa metabolit berupa *alkaloid, flavonoid, saponin, dan tannin*. Senyawa metabolit tersebutlah yang memberikan efek larvasidal terhadap larva *Aedes aegypti*⁽²²⁾⁽²³⁾.

Alkaloid dapat bersifat nontoksik maupun toksik. Alkaloid bersifat nontoksik ketika organisme yang berhubungan dapat melakukan adaptasi dengan baik, namun bersifat toksik ketika organisme tersebut terlalu banyak menyerap alkaloid maupun karena tidak dapat beradaptasi pada tubuh⁽²⁴⁾. Toksisitas alkaloid pada serangga terjadi pada jaringan hati dan paru-paru yang merupakan komponen dari metabolisme xenobiotic, metabolisme ini mengubah senyawa asing yang terserap untuk dikeluarkan lagi dengan menjadikan senyawa tidak beracun menjadi senyawa yang beracun bagi tubuhnya sendiri⁽²⁴⁾⁽²⁵⁾. Alkaloid selain bersifat toksik pada organ-organ tertentu, juga menghambat daya makan larva dan menghambat kerja glikolisis (pemecahan karbohidrat menjadi glukosa)⁽²⁶⁾⁽²⁷⁾. Glikolisis merupakan metabolisme pemecahan glukosa kompleks menjadi glukosa sederhana yang mana akan digunakan sebagai sumber energi dari tubuh. Apabila glikolisis terhambat maka tidak akan terjadi pemecahan glukosa dan tidak ada sumber energi yang digunakan untuk beraktivitas. Penelitian didapatkan bahwa alkaloid bersifat menghambat pada serangga⁽²⁷⁾.

Saponin merupakan senyawa metabolit yang tergolong steroid atau triterpenoid yang mempengaruhi efek biologis pada makhluk hidup⁽²⁸⁾⁽²⁹⁾. Saponin pada serangga juga memberikan efek biologis mulai dari ketahanan hidup, pertumbuhan dan reproduksi yang selanjutnya dikembangkan menjadi pest insect⁽³⁰⁾. Serangga mengalami pertumbuhan yang disebut metamorfosis, pada daur hidupnya saponin bersifat antagonis yang menyebabkan apoptosis pada sel (mengelupasnya kulit/ganti kulit/ekdisis/rontoknya kutikula) sehingga menyebabkan gangguan pertumbuhan, menurunnya laju reproduksi dan kematian⁽³⁰⁾⁽³¹⁾.

Saponin bersifat toksik pada kelangsungan membran sel dengan kerjanya yang mirip sabun yang akan memasuki permukaan dinding sel dan ikut masuk ke dalam sel sehingga menurunkan tegangan permukaan selaput mukosa traktus digestivus larva sehingga menjadi korosif dan membrane sel rusak⁽³²⁾. Ekstrak saponin dari *Balanites callus* dan mesorp telah terbukti bersifat larvasidal pada *Aedes aegypti*⁽³³⁾⁽³⁴⁾⁽³⁵⁾. Tannin dapat ditemukan pada jaringan tumbuhan, hemiselulos, dan lignin sehingga mudah ditemukan di mana saja. Tannin dipercaya dapat menghambat terjadinya proteinase (pemecahan protein menjadi molekul sederhana) sehingga dapat menghambat dua enzim pencernaan sekaligus dan terjadinya oksidasi (penggabungan senyawa+oksigen / pelepasan electron). Peristiwa oksidasi akan memproduksi ROS pada

pencernaan sehingga menyebabkan kerusakan sistem biologis pada serangga. Tannin juga dipercaya dapat menghambat aktivitas tyrosine, aktivitas tyrosine ini yang menjadi alternatif dalam agen kontrol serangga karena tyrosine adalah enzim yang bekerja dalam proses metamorfosis serangga (*molting*)⁽³⁶⁾.

Flavonoid tergolong dalam polifenol yang memiliki banyak macam jenis yang tersebar di banyak tumbuhan. Penelitian oleh Abou-Zaid et al didapatkan flavonoid

pada pinus bersifat toksik pada *gypsy moth* (insekta order Lepidoptera) dengan menghambat pertumbuhannya⁽³⁷⁾⁽³⁸⁾. Flavonoid juga berikatan dengan enzim lain membentuk senyawa yang mempengaruhi kebiasaan makan serangga sehingga mengganggu pertumbuhannya⁽³⁹⁾⁽⁴⁰⁾⁽⁴¹⁾. Selain mempengaruhi kebiasaan makan, flavonoid juga bersifat racun pada pernapasan yang menyebabkan kerusakan sistem pernapasan dan mempengaruhi ATPase pada otot yang menyebabkan kerusakan pada relaksasi otot (26)(39)(42).

Abate dipercaya sebagai agen kontrol vektor dari *Aedes aegypti*, *Anopheles* dan filariasis, dengan dosis penggunaan 8g/100L yang kemudian dikonversikan sesuai kebutuhan besarnya kontainer. Abate memiliki kandungan temephos 1% yang merupakan organophosphate insecticide yang bekerja pada sistem saraf, penggunaan abate dalam kontainer akan membunuh larva-larva nyamuk sehingga tidak dapat berkembang biak dan mencegah terjadinya reproduksi. Abate bekerja dengan cepat dan efektif dalam waktu jangka panjang. Penelitian oleh Thavara et al penggunaan dosis 0,05 mg/L dapat bertahan selama lima bulan dalam kontainer walaupun air dalam kontainer digunakan dalam kehidupan sehari-hari baik pengisian air, dikuras, dan dibersihkan⁽⁴³⁾⁽⁴⁴⁾. Sehingga penggunaan abate (Temephos 1%) dalam penelitian ini sebagai kontrol positif memiliki efektivitas tertinggi dibandingkan dengan kelompok ekstrak etanol maupun aquades dari biji kelor.

KESIMPULAN

1. Kadar sisa etanol pada ekstrak biji kelor (*Moringa oleifera*) pelarut etanol adalah 0%.
2. Ekstrak biji kelor (*Moringa oleifera*) pelarut etanol dan aquades memiliki efek larvasida terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III/IV.

3. Rerata persentase jumlah kematian larva nyamuk *Aedes aegypti* pada pemberian ekstrak biji kelor (*Moringa oleifera*) pelarut etanol adalah 16,8% dan pelarut aquades adalah 12,8% artinya tidak terdapat perbedaan signifikan diantara keduanya dengan nilai p 0,095.

SARAN

1. Penelitian ini dapat dikembangkan dengan metode ekstraksi bertingkat, sehingga didapatkan hasil ekstrak dengan kandungan senyawa polar, semi polar, dan non polar.
2. Penelitian ini dapat dilakukan uji fitokimia kualitatif dan kuantitatif
3. Penelitian ini perlu diteliti lebih lanjut untuk menemukan dosis/formulasi yang efektif, sehingga penggunaannya lebih mudah dan praktis.
4. Penelitian ini perlu diteliti lebih lanjut mengenai uji hambat dari daur hidup *Aedes aegypti*, toksisitas terhadap ikan dan binatang peliharaan air, serta efek terhadap lingkungan

DAFTAR PUSTAKA

1. WASH Regional Group. *Aedes aegypti* vector control and prevention measures in the context of Zika , Yellow Fever , Dengue or Chikungunya Technical Guidance WASH Regional Group (West and Central Africa). 2016;(July).
2. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Profil kesehatan Indonesia tahun 2016. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia; 2017.
3. Dinas Kesehatan Provinsi Nusa Tenggara Timur. Profil kesehatan Provinsi Nusa Tenggara Timur tahun 2014. 2015;
4. Dinas Kesehatan Provinsi Nusa Tenggara Timur. Profil kesehatan

Provinsi Nusa Tenggara Timur tahun 2015. 2016;

5. Dinas Kesehatan Provinsi Nusa Tenggara Timur. Profil kesehatan Provinsi Nusa Tenggara Timur tahun 2016. 2017;
6. Dinas Kesehatan Kota Kupang. Profil kesehatan Kota Kupang Tahun 2016.
7. Kamahayanikan SH, Wiwaha A, Rajya-rajya P, Nusantara B, Praratwan P. Berbagai cara pengendalian larva nyamuk. 6:59–62.
8. Ridha MR, Nisa K. Larva *Aedes aegypti* sudah toleran terhadap temepos di Kota Banjarbaru , Kalimantan Selatan. *J Vektora*. 1976;III(2):93–111.
9. Fuadzy H, Hodijah DN, Jajang A, Widawati M. Kerentanan larva *Aedes aegypti* terhadap temefos di tiga kelurahan endemis demam berdarah dengue Kota Sukabumi. *Bul Penelit Kesehat*. 2015;43(1):41–6.
10. Aminah S, Ramdhan T, Yamin M. Kandungan nutrisi dan sifat fungsional tanaman kelor (*Moringa oleifera*). *Bul Pertan Perkota*. 2015;5(30):35–44.
11. Baharuddin A, Kesehatan P, Universitas M, Indonesia M, Belakang L. Efektivitas ekstrak dahan kelor terhadap mortalitas larva *Aedes aegypti*. 2018 p. 10–5.
12. Setiawan E, Karimuna SR, Kesehatan F, Universitas M, Oleo H, Setiawan E, et al. Efektifitas ekstrak biji sirsak (*Annona muricata* L) sebagai insektisida alami terhadap nyamuk *Aedes aegypti* sebagai vektor DBD. :1–8.
13. Bureni EYN. Uji efektivitas ekstrak biji kelor (*Moringa oleifera*) terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*. Universitas Nusa Cendana; 2018.

14. Setyawaty D. Studi pengaruh ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) dalam pelarut aquades, etanol, dan metanol terhadap perkembangan larva nyarnuk *Culex quinquefasciatus*. Institut Pertanian Bogor; 2002.
15. World Health Organization. Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvacides. 2005;
16. Syahdrajat T. Panduan penelitian untuk skripsi kedokteran & kesehatan. 2018.
17. Cory JS, Hoover K. Plant-mediated effects in insect-pathogen interactions. *Trends Ecol Evol*. 2006;21(5):278–86.
18. Kubo I. Chapter 4 New concept to search for alternate insect control agents from plants. In: *Naturally Occurring Bioactive Compounds*. 2006. p. 61–80.
19. Kasminah. Aktivitas antioksidan rumput laut *Halymenia durvillaei* dengan pelarut non polar, semi polar, dan polar. Universitas Airlangga; 2016.
20. Kuppusamy P, Yusoff MM, Parine NR, Govindan N. Evaluation of in-vitro antioxidant and antibacterial properties of *Commelina nudiflora* L. extracts prepared by different polar solvents. *Saudi J Biol Sci*. 2015;22(3):293–301.
21. Suryani NC, Permana DGM, Jambe AAGNA. Pengaruh jenis pelarut terhadap kandungan total flavonoid dan aktivitas antioksidan ekstrak daun matoa (*Pometia pinnata*). (2013):1–10.
22. Cabardo DE, Portugaliza HP. Anthelmintic activity of *Moringa oleifera* seed aqueous and ethanolic extracts against *Haemonchus contortus* eggs and third stage larvae. *Int J Vet Sci Med*. 2017;5(1):30–4.
23. Hamany Djande CY, Piater LA, Steenkamp PA, Madala NE, Dubery IA. Differential extraction of phytochemicals from the multipurpose tree, *Moringa oleifera*, using green extraction solvents. *South African J Bot*. 2018;115:81–9.
24. Liu X, Klinkhamer PGL, Vrieling K. The effect of structurally related metabolites on insect herbivores: A case study on pyrrolizidine alkaloids and western flower thrips. *Phytochemistry*. 2017;138:93–103.
25. Hartmann T, Theuring C, Schmidt J, Rahier M, Pasteels JM. Biochemical strategy of sequestration of pyrrolizidine alkaloids by adults and larvae of chrysomelid leaf beetles. *J Insect Physiol*. 1999;45(12):1085–95.
26. Setyaningsih NMP, Swastika IK. Efektivitas ekstrak ethanol daun salam (*Syzygium polyanthum*) sebagai larvasida terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*.
27. Scofield AM, Witham P, Nash RJ, Kite GC, Fellows LE. Castanospermine and other polyhydroxy alkaloids as inhibitors of insect glycosidases. *Comp Biochem Physiol -- Part A Physiol*. 1995;112(1):187–96.
28. Francis G, Kerem Z, Makkar HPS, Becker K. The biological action of saponins in animal systems : a review. *Br J Nutr*. 2002;88:587–605.
29. Sparg SG, Light ME, Staden J Van. Biological activities and distribution of plant saponins. *J Ethnopharmacol*. 2004;94:219–43.
30. Geyter E De, Lambert E, Geelen D, Smagghe G. Novel advances with plant saponins as natural insecticides

- to control pest insects. *Pest Technol.* 2007;(January):95–105.
31. Dinan L, Bourne PC, Meng Y, Sarker SD, Tolentino RB, Whiting P. Assessment of natural products in the *Drosophila melanogaster* B II cell bioassay for ecdysteroid agonist and antagonist activities. *Cell Mol Life Sciences.* 2001;58:321–2.
 32. Irwan A, Noer K, Rusdiana. Uji aktifitas ekstrak saponin fraksi n-butanol dari kulit batang kemiri (*Aleurites moluccana* WILLD) pada larva nyamuk *Aedes aegypti*. *Sains dan Terap Kim.* 2007;1(2):93–101.
 33. Geyter E De, Swevers L, Soin T, Geelen D, Smagghe G. Saponins do not affect the ecdysteroid receptor complex but cause membrane permeation in insect culture cell lines. *J Insect Physiol.* 2012;58(1):18–23.
 34. Wiesman Z, Chapagain BP. Larvicidal activity of saponin containing extracts and fractions of fruit mesocarp of *Balanites aegyptiaca*. *Fitoterapia.* 2006;77:420–4.
 35. Chapagain BP, Saharan V, Wiesman Z. Larvicidal activity of saponins from *Balanites aegyptiaca* callus against *Aedes aegypti* mosquito. *Bioresour Technol.* 2008;99:1165–8.
 36. Kubo I, Kinst-hori I, Nihei K, Soria F, Takasaki M. Tyrosinase inhibitors from Galls of *Rhus javanica* Leaves and their effects. 2003;
 37. Simmonds MSJ. Importance of avonoids in insect- plant interactions : feeding and oviposition. *Phytochemistry.* 2001; 56:245–52.
 38. Şöhretoğlu D, Sari S, Barut B, Özel A. Tyrosinase inhibition by some flavonoids: Inhibitory activity, mechanism by in vitro and in silico studies. *Bioorg Chem.* 2018;81:168–74.
 39. Mierziak J, Kostyn K, Kulma A. Flavonoids as important molecules of plant interactions with the environment. *Molecules.* 2014;19(10):16240–65.
 40. Simmonds MSJ. Flavonoid- insect interactions: recent advances in our knowledge. *Phytochemistry.* 2003;64(1):21–30.
 41. Simmonds MSJ, Stevenson PC. Effects of isoflavonoids from *Cicer* on larvae of *Heliocoverpa armigera*. *J Chem Ecol.* 2001;27(5):965–77.
 42. Sosa T, Chaves N, Alias JC, Escudero JC, Henao F, Gutiérrez-Merino C. Inhibition of mouth skeletal muscle relaxation by flavonoids of *Cistus ladanifer* L.: a plant defense mechanism against herbivores. *J Chem Ecol.* 2004;30(6):1087–101.
 43. Tawatsin A, Thavara U, Chompoosri J, Bhakdeenuan P, Asavadachanukorn P. Larvicidal efficacy of new formulations of temephos in non-woven sachets against larvae of *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) in water-storage containers. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 2007;38(4):641-5
 44. Thavara U, Tawatsin A, Srithommarat R, Zaim M, Mulla MS. Sequential release and residual activity of temephos applied as sand granules to water-storage jars for the control of *Aedes aegypti* larvae (Diptera: Culicidae). *J Vector Ecol.* 2005 Jun;30(1):62—72.