

UJI EFEKTIVITAS LARVASIDA EKSTRAK DAUN KELOR (*Moringa oleifera*) TERHADAP MORTALITAS LARVA VEKTOR DEMAM BERDARAH DENGUE *Aedes aegypti*

Dewinda Rahmanningtyas¹, Prisca Deviani Pakan², Elisabeth Levina Sari Setianingrum³

¹Fakultas Kedokteran Universitas Nusa Cendana

²Departemen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Nusa Cendana

³Departemen Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Nusa Cendana

ABSTRAK

Latar Belakang. Demam Berdarah Dengue merupakan penyakit yang disebabkan oleh virus dengue melalui vektor *Aedes aegypti*. Penggunaan insektisida sintetik sebagai larvasida masih kurang efektif karena menimbulkan masalah lingkungan serta resistensi serangga sasaran. Upaya alternatif untuk mengatasi dampak negatif tersebut adalah menggunakan larvasida nabati dari ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) yang lebih ramah lingkungan. Kandungan senyawa metabolit sekunder berupa alkaloid, saponin, tanin, terpenoid dan flavonoid dalam daun kelor (*Moringa oleifera*) dapat dimanfaatkan sebagai larvasida nabati yang menimbulkan kematian larva.

Tujuan. Untuk mengetahui ada tidaknya efek larvasida ekstrak daun kelor sebagai larvasida nabati terhadap kematian larva nyamuk *Aedes aegypti*.

Metode. Ekstrak daun kelor dibuat menggunakan pelarut etanol 70% dengan teknik maserasi. Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder dari ekstrak daun kelor. Digunakan 700 ekor larva *Aedes aegypti* instar III/IV yang dibagi dalam 7 kelompok perlakuan, (kelompok kontrol positif dengan abate 100 ppm, kelompok kontrol negatif dengan aquades, kelompok ekstrak daun kelor 750 ppm, 1500 ppm, 2250 ppm, 3000 ppm, dan 3750 ppm). Pengamatan dilakukan selama 24 jam dengan 4 kali pengulangan.

Hasil. Pada uji fitokimia didapatkan ekstrak daun kelor mengandung alkaloid, flavonoid, terpenoid, saponin, dan tanin. Rata-rata kematian larva yang paling tinggi ditemukan pada konsentrasi 3750 ppm yaitu 19,50 ekor larva *Aedes aegypti*. Hasil analisis *Kruskall Wallis* menunjukkan bahwa ekstrak daun kelor sebagai larvasida nabati memiliki efek larvasida untuk membunuh larva *Aedes aegypti* ($p=0,000$). Pada analisis probit didapatkan bahwa LC_{50} dari ekstrak terhadap *Aedes aegypti* adalah 3589 ppm dan LC_{99} 10391 ppm.

Kesimpulan. Ekstrak daun kelor sebagai larvasida nabati memiliki efek larvasida terhadap kematian larva *Aedes aegypti*.

Kata Kunci : Daun kelor, *Aedes aegypti*, Larvasida nabati

PENDAHULUAN

Nyamuk merupakan salah satu vektor yang paling banyak diketahui menularkan penyakit⁽¹⁾. *Aedes aegypti* adalah jenis nyamuk penyebab penyakit DBD sebagai pembawa utama (*primary vector*) virus dengue⁽²⁾. DBD merupakan salah satu penyakit menular yang sudah menjadi penyakit endemis di Indonesia sejak 1968⁽³⁾. Angka kesakitan atau *Incidence*

Rate (IR) cenderung meningkat setiap tahun, dengan *IR* tertinggi mencapai 75,85/100.000 penduduk pada tahun 2015-2016⁽⁴⁾.

Nusa Tenggara Timur (NTT) merupakan salah satu provinsi dengan *IR* dan *Case Fatality*

Rate (CFR) yang masih tinggi jika dibandingkan angka nasional. *IR* DBD NTT di tahun 2018 sebesar 24,82 sedangkan angka nasional berada di 24,75 dan *CFR* sebesar 0,90 sedangkan angka nasional berada di 0,71⁽⁴⁾. Data kasus infeksi dengue di NTT dilaporkan sebanyak 1.599 kasus, dimana penderita DBD ditemukan pada 17 Kabupaten dengan kasus paling banyak terdapat pada Kabupaten Manggarai Barat, Kota Kupang dan Sumba Timur⁽⁵⁾.

Dampak negatif yang ditimbulkan oleh nyamuk *Aedes aegypti* perlu dikendalikan⁽³⁾. Pemberantasan larva merupakan kunci strategi program pengendalian *vector borne diseases*⁽⁶⁾. Pengendalian vektor nyamuk ini salah satunya dapat dilakukan dengan penggunaan larvasida⁽⁷⁾, namun penggunaan larvasida sintetik seperti abate (*temephos* 1%) sendiri mempunyai dampak negatif, antara lain pencemaran lingkungan, kematian predator, resistensi serangga sasaran, bahkan dapat meracuni manusia⁽⁸⁾.

Salah satu upaya untuk mengatasi masalah yang timbul akibat penggunaan larvasida sintetik adalah dengan menggunakan bahan alami yang efektif, aman, ramah lingkungan dan tidak memberikan efek toksisitas terhadap organisme non target⁽⁹⁾. Bahan alami yang merupakan bagian dari tumbuhan ini mengandung unsur metabolit sekunder seperti flavonoid, saponin, terpenoid dan tanin yang dapat menimbulkan efek toksik pada larva, dengan keunggulan lebih mudah terurai di alam⁽¹⁰⁾.

Berdasarkan uraian di atas, peneliti tertarik untuk menggunakan daun kelor (*Moringa oleifera*) sebagai bahan larvasida. Alasan peneliti tertarik menggunakan tumbuhan ini adalah karena merupakan salah satu tumbuhan khas NTT, dan juga menurut penelitian yang dilakukan oleh Ratna Mustika Yasi dan Restiani Sri Harsanti pada tahun 2018, disebutkan bahwa daun kelor mengandung alkaloid, flavonoid dan tanin yang merupakan senyawa metabolit sekunder. Senyawa metabolit tersebut bersifat toksik, dimana toksik ini merupakan zat beracun yang memberikan efek berbahaya terhadap organisme yang memiliki potensi untuk dijadikan sebagai larvasida untuk membunuh larva nyamuk⁽¹⁵⁾.

*corresponding author
Dewinda Rahmangtyas
dewindar18@gmail.com

METODELOGI PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan rancangan *post test only group design* dengan menggunakan 700 ekor larva yang dibagi dalam 7 kelompok perlakuan. Satu kelompok kontrol positif dengan menggunakan abate dengan konsentrasi 100 ppm, satu kelompok kontrol negatif dengan menggunakan aquades dan lima kelompok lainnya digunakan konsentrasi bertingkat ekstrak daun kelor dari 750 ppm,

1500 ppm, 2250 ppm, 3000 ppm, dan 3750 ppm. Larva yang digunakan adalah larva *Aedes aegypti* instar III/IV, yang didapatkan dari Laboratorium Kesehatan Lingkungan Politeknik Kesehatan Kemenkes Kupang.

Pembuatan ekstrak daun kelor dalam penelitian ini menggunakan teknik maserasi. Pelarut yang digunakan adalah etanol 70%. Pengamatan jumlah kematian larva nyamuk dilakukan pada jam ke-24 setelah perlakuan dengan menggunakan abate, aquades dan ekstrak. Replikasi dilakukan sebanyak 4 kali.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Simplisia

Daun kelor yang digunakan sebagai bahan dasar pembuatan ekstrak dikumpulkan dari beberapa lokasi di Kota Kupang. Daun kelor yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 8.000 gram, lalu disortasi dan dicuci hingga bersih. Daun kelor kemudian diangin-anginkan ditempat teduh selama 7 hari. Selanjutnya daun dihaluskan menggunakan blender dan dihasilkan simplisia. Simplisia yang didapatkan adalah sejumlah 900 gram.

Ekstraksi

Simplisia yang didapat selanjutnya dicampurkan dengan pelarut etanol 70%, dengan perbandingan 1:5 untuk simplisia berbanding pelarut. Simplisia yang digunakan sebanyak 900 gram dan pelarut 4.500 ml. Larutan daun kelor dan etanol direndam selama 3 hari sambil sesekali diaduk. Inilah yang disebut teknik maserasi. Kemudian, dilakukan penyaringan untuk memisahkan ampas dari larutan dengan kertas saring. Larutan yang sudah disaring, lalu dipisahkan menggunakan *rotatory evaporator* dan menghasilkan 110 gram ekstrak.

Uji Fitokimia

Hasil yang didapatkan untuk kandungan metabolit sekunder dari ekstrak daun kelor adalah sebagai berikut:

Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia

No	Metabolit Sekunder	Hasil	Keterangan
1	Flavonoid	Merah	Positif
2	Alkaloid	Endapan putih	Positif
3	Terpenoid	Merah	Positif
4	Saponin	Terbentuk busa	Positif
5	Tanin	Hijau kehitaman	Positif

Berdasarkan hasil di atas, diketahui zat aktif yang ditarik adalah flavonoid, alkaloid, terpenoid, saponin dan tanin. Akan tetapi karena uji inimerupakan uji kualitatif, maka tidak dapat diketahui metabolit mana yang mendominasi dan menjadi zat utama dalam membunuh larva nyamuk.

Hasil Deskriptif.

Kematian dari larva nyamuk *Aedes aegypti* setelah 24 jam perlakuan dengan 4 kali replikasi adalah :

Tabel 2. Jumlah Kematian Larva *Aedes aegypti* Instar III/IV

Replikasi	Kelompok						
	K1	K2	K3	K4	K5	K6	K7
1	0	25	10	12	13	15	19
2	0	25	11	13	14	16	20
3	0	25	10	12	13	15	20
4	0	25	10	11	12	15	19
Jumlah kematian	0	100	41	48	52	61	78
Rata-rata kematian	0	25	10,25	12	13	15,25	19,50
Persentase kematian (%)	0	100	41	48	52	61	78

Berdasarkan Tabel 2 ditemukan kelompok perlakuan dengan persentase kematian larva *Aedes aegypti* instar III/IV terbanyak adalah K2, yaitu kelompok kontrol positif yang diberikan abate sebesar 100% (25 ekor). Untuk kelompok perlakuan menggunakan ekstrak daun kelor, persentase kematian larva terbesar terdapat pada K7 yaitu 78% (19,50 ekor), sedangkan kelompok dengan persentase kematian terendah adalah K3 yaitu sebesar 41% (10,25 ekor). Pada kelompok kontrol negatif yaitu K1, pada semua replikasi tidak ditemukan adanya larva yang mati.

Uji Kruskal-Wallis

Uji hipotesis digunakan uji nonparametrik *Kruskall Wallis*, karena uji normalitas *Kolmogorov Smirnov* menunjukkan hasil data tidak terdistribusi normal. Hasil dari uji *Kruskall Wallis* adalah :

Tabel 3. Hasil Uji *Kruskall-Wallis*

	Asymp.Sig
Ekstrak daun kelor terhadap kematian larva <i>Aedes aegypti</i>	0,000

Keterangan : $\alpha = 0,05$

Dari hasil di atas, dapat dilihat bahwa nilai $p < 0,05$ ($p=0,000$) sehingga H_0 dapat ditolak dan H_1 dapat diterima. Sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun kelor sebagai larvasida nabati memiliki efek larvasida pada larva nyamuk *Aedes aegypti*. Hasil uji *Kruskall-Wallis* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan antar kelompok uji, namun uji ini belum menunjukkan kelompok mana yang mempunyai perbedaan nilai yang lebih signifikan. Sehingga dilakukan analisis *Post Hoc*, dengan menggunakan uji *Mann-Whitney*.

Tabel 4. Hasil Uji *Mann-Whitney*

	Asymp. Sig (2-tailed)
Jumlah kematian larva selama 24 jam	0,008
	K3 0,011
	K4 0,013
	K5 0,013
	K6 0,011
	K7 0,013

Keterangan : $\alpha = 0,05$

Pada Tabel 4 hasil analisis Uji *Mann-Whitney* menunjukkan bahwa semua kelompok uji berbeda secara signifikan terhadap kelompok kontrol negatif dengan nilai $p < 0,05$.

Analisis Probit

Analisis probit dilakukan untuk mencari konsentrasi yang dapat membunuh sejumlah larva dalam suatu populasi (*Lethal Concentration*). Dalam penelitian ini, dicari konsentrasi yang dibutuhkan untuk mematikan 50% (LC_{50}) dan 99% (LC_{99}) dari ekstrak daun

kelor terhadap populasi larva *Aedes aegypti* selama 24 jam. Hasil perhitungan ditampilkan pada tabel di bawah ini.

Tabel 5. Hasil Analisis Probit

95% Confidence Limits for Konsentrasi Ekstrak			
Probability			
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
0,500	3589,664		-
0,990	10391,451		-

Berdasarkan Tabel 5, hasil dari analisis probit didapatkan nilai LC_{50} adalah 3589 ppm yang artinya dibutuhkan konsentersasi ekstrak daun kelor sebesar 3589 ppm untuk membunuh 50% populasi larva. Kemudian dari hasil analisis probit juga didapatkan nilai LC_{99} adalah 10391 ppm yang artinya dibutuhkan konsentersasi ekstrak daun kelor sebesar 10391 ppm untuk membunuh 99% populasi larva.

PEMBAHASAN

Pada penelitian ini diperoleh nilai LC_{50} dari populasi larva *Aedes aegypti* adalah 3589 ppm dan nilai LC_{99} adalah 10391 ppm. Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak daun kelor memiliki efek larvasida dengan adanya aktivitas larvasida, akan tetapi nilai dari LC_{50} maupun LC_{99} dari ekstrak ini cukup besar jika dibandingkan dengan kontrol positif yang dapat mengakibatkan kematian 100% pada larva, yaitu abate yang hanya berkonsentrasi 100 ppm. Semakin kecil angka konsentrasi dari LC yang didapatkan, menunjukkan bahwa zat tersebut memiliki aktivitas larvasida yang kuat. Hal ini dikarenakan zat tersebut memerlukan konsentersasi yang jauh lebih rendah untuk mematikan hewan uji dalam waktu yang sama⁽¹²⁾.

Melalui penelitian ini juga diketahui bahwa ekstrak daun kelor secara signifikan memberikan pengaruh pada kematian larva nyamuk *Aedes aegypti*. Hal ini diduga disebabkan oleh karena adanya efek larvasida ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) yang merupakan pengaruh dari kandungan senyawa metabolit sekunder yang terkandung didalamnya. Berdasarkan hasil uji fitokimia

yang dilakukan, didapatkan bahwa ekstrak daun kelor dengan menggunakan pelarut etanol 70% mengandung metabolit sekunder berupa saponin, tanin, terpenoid, flavonoid dan alkaloid.

Senyawa saponin dalam ekstrak daun kelor termasuk dalam golongan racun kontak dengan mekanisme kerja dengan menurunkan tegangan permukaan selaput mukosa saluran pencernaan dari larva sehingga dinding saluran menjadi korosif dan proses metabolisme mengalami gangguan dan *intake* makan menurun⁽¹³⁾. Saponin yang berbusa dalam air mempunyai sifat detergen yang baik serta mempunyai aktivitas hemolisis⁽¹⁴⁾. Oleh karena itu, saponin dapat merusak membran kutikula larva sehingga senyawa toksik dapat masuk dengan mudah ke dalam tubuh larva sehingga menyebabkan kematian larva⁽¹⁵⁾.

Tanin dalam ekstrak daun kelor juga berperan dalam mekanisme penghambatan makan, seperti saponin. Tanin berperan sebagai racun pencernaan, dimana tanin menyebabkan penurunan aktivitas enzim protease dalam mengubah asam-asam amino sehingga kerja enzim tersebut dapat menjadi terhambat dan proses metabolisme sel menjadi terganggu⁽¹⁶⁾. Tanin merupakan senyawa polifenol yang tidak dapat dicerna lambung dan mempunyai daya ikat dengan protein, karbohidrat, vitamin dan mineral⁽¹⁷⁾. Adanya metabolisme sel yang terganggu menyebabkan larva kekurangan nutrisi dan adanya kemampuan tanin dalam mengikat protein yang dibutuhkan bagi pertumbuhan larva menyebabkan terhambatnya pertumbuhan larva dan jika proses ini berlangsung secara terus menerus dapat menyebabkan kematian larva^(16,17).

Terpenoid juga merupakan salah satu metabolit sekunder yang ditemukan pada ekstrak daun kelor. Terpenoid termasuk dalam golongan steroid yang dapat mengikat sterol bebas dalam saluran pencernaan, dimana sterol bekerja sebagai prekursor hormon ecdison. Dengan menurunnya sterol, dapat mempengaruhi proses pergantian kulit pada serangga⁽¹⁸⁾, sehingga larva akan sulit berkembang menuju tahap selanjutnya yaitu pupa⁽¹⁷⁾.

Senyawa aktif lain yang terkandung dalam daun kelor adalah flavonoid yang

berperan sebagai racun pernafasan. Mekanisme kerja senyawa ini yaitu dengan masuk ke dalam tubuh larva melalui sistem pernapasan yang kemudian akan menimbulkan kelayuan pada saraf serta kerusakan pada sistem pernapasan dan mengakibatkan larva tidak bisa bernapas dan akhirnya mati⁽¹⁹⁾.

Senyawa alkaloid bertindak sebagai racun perut dan racun kontak. Alkaloid berupa garam, sehingga dapat mendegradasi membran sel saluran pencernaan untuk masuk ke dalam dan merusak sel⁽²⁰⁾. Alkaloid juga berpengaruh pada kerja sistem saraf larva dengan menghambat kerja enzim asetilkolinesterase, sehingga terjadi penumpukan asetilkolin yang berakibat pada larva mengalami kekejangan secara terus-menerus dan akhirnya terjadi kelumpuhan dan jika kondisi ini terus berlanjut dapat menyebabkan kematian larva^(21,22). Terjadinya perubahan warna pada tubuh larva sehingga menjadi lebih transparan dan gerakan tubuh yang melambat jika diberikan rangsangan sentuhan dapat disebabkan oleh senyawa alkaloid⁽¹³⁾.

Pada kelompok kontrol positif yang menggunakan abate sebesar 100 ppm, dapat dilihat bahwa kematian larva nyamuk *Aedes aegypti* mencapai 100% untuk setiap pengulangan. Abate merupakan senyawa fosfat organik yang mengandung gugus phosphorotiate, dengan mekanisme kerja sama seperti senyawa alkaloid yaitu menghambat enzim cholinesterase baik pada vertebrata maupun invertebrata sehingga menimbulkan gangguan pada aktifitas saraf karena tertimbunnya asetilkolin pada ujung saraf⁽²³⁾. Asetilkolin ini berfungsi sebagai mediator antara saraf dan otot sehingga memungkinkan penyaluran impuls listrik yang merangsang otot untuk berkontraksi dalam waktu lama sehingga terjadi konvulsi (kejang). Temephos 1% yang terdapat pada abate akan mengikat enzim kolinesterase, sehingga terjadi kontraksi otot yang terus menerus, kejang dan akhirnya larva akan mati⁽²⁴⁾.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

1. Ekstrak daun kelor memiliki efek larvasida yang dapat membunuh larva *Aedes aegypti* instar III/IV.
2. *Lethal Concentration 50% (LC₅₀)* bagi *Aedes aegypti* adalah 3589 ppm dan *Lethal Concentration 99% (LC₉₉)* adalah 10.391 ppm.

Saran

1. Peneliti berharap adanya penelitian lebih lanjut mengenai bentuk sediaan yang tepat dari ekstrak daun kelor pada saat digunakan sebagai larvasida, sehingga dapat diterima oleh masyarakat.
2. Diharapkan pada penelitian selanjutnya dilakukan uji secara kuantitatif untuk dapat mengetahui jumlah kadar senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*), sehingga diketahui senyawa mana yang lebih dominan dalam mengakibatkan kematian larva.
3. Pada penelitian selanjutnya dapat dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai toksisitas ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) terhadap ikan dan binatang peliharaan air lainnya.
4. Penelitian selanjutnya diharapkan dapat dilakukan penelitian mengenai uji residual untuk mengetahui berapa lama efek yang dimiliki oleh ekstrak daun kelor dalam suatu lingkungan air.
5. Penelitian ini dapat dikembangkan dengan uji coba pada spesies larva nyamuk lain seperti *Anopheles sp.* dan *Culex sp.*

DAFTAR PUSTAKA

1. Infodatin. Situasi Demam Berdarah Dengue di Indonesia. Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan Indonesia. 2014.
2. Susanti, Suharyo. Hubungan Lingkungan Fisik dengan Keberadaan Jentik *Aedes* pada Area Bervegetasi Pohon Pisang. *Unnes J Public Heal.* 2017;6(4):271–276.
3. Ramayanti I, Febriani R. Uji Efektivitas Larvasida Ekstrak Daun Pepaya (*Carica*

- papaya Linn) terhadap Larva *Aedes aegypti*. Syifa'MEDIKA. 2016;6(4):80.
4. Wulan S, Setyawati T, Towidjojo VD, Wahyuni RD. Uji Efektivitas Larvasida Ekstrak Daun Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) Terhadap Larva Nyamuk *Aedes aegypti* Instar III. *J Ilmiah Kedokteran Medika Tadulako*. 2018;5(3):2.
 5. Badan Pusat Statistik Provinsi Nusa Tenggara Timur. DATA SENSUS : Jumlah Kasus Demam Berdarah Dengue (DBD) Menurut Kabupaten/Kota di Provinsi Nusa Tenggara Timur, 2015-2018. BPS Provinsi NTT. [Internet]. [cited 2020may28]. <https://ntt.bps.go.id/dynamictable/2018/08/31/761/jumlah-kasus-demam-berdarah-dengue-dbd-menurut-kabupaten-kota-di-provinsi-nusa-tenggara-timur-2015-2017.html>
 6. Hanafiah E, Syuhriatin, Meidatuzzahra D, Swandayani RE. Efektivitas Penggunaan Abate Dan Bactivec Terhadap Kematian Larva Nyamuk *Aedes sp* Di Kabupaten Lombok Barat. *Lombok Journal of Science*.2019;1(1):41-38.
 7. Ramayanti I, Febriani R. Uji Efektivitas Larvasida Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya* Linn) terhadap Larva *Aedes aegypti*. Syifa'MEDIKA.2016;6(4):80.
 8. Musiam S, Armianti M, PutraAMP. Uji Biolarvasida Ekstrak Metanol Daun Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) Terhadap Larva Nyamuk *Aedes aegypti* L. *J Ilmiah Ibnu Sina*. 2018;3(1):63-55.
 9. Yasi RM, Harsanti RS. Uji Daya Larvasida Ekstrak Daun Kelor (*Moringa aloifera*) Terhadap Mortalitas Larva (*Aedes aegypti*). *J of Agromedicine and MedicalSciences*. 2018; 4 (3): 164-159.
 10. Prasetyowati H, Hendri J, Wahono T, Litbang L, Ciamis P, Raya J, et al. Status Resistensi *Aedes aegypti* (Linn.) terhadap Organofosfat di Tiga Kotamadya DKI Jakarta The Resistance Status of *Aedes aegypti* (Linn.) to Organophosphate in Three District Jakarta. 2016. Balaba. Juni 2016; 12(1): 30-23.
 11. Hikma SR, Ardiansyah S. Kombinasi Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lamk) Dengan Ekstrak Daun Tin (*Ficus carica* Linn) Sebagai Larvasida Terhadap Larva *Aedes aegypti*. *Medicra J*. 2018 Desember ;1(2): 94-102.
 12. Ardianto T. Pengaruh Ekstrak Bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum l.*) terhadap Mortalitas Larva *Aedes aegypti* L. Skripsi. Universitas Sebelas Maret; 2008
 13. Cania E. Efektivitas Larvasida Ekstrak Daun Lengundi (*Vitex trifolia*) Terhadap Larva *Aedes aegypti*. *Med J Lampung Univ*. 2013;2.
 14. Danusulistyo M. Uji Larvasida Ekstrak Daun Lidah Buaya (*Aloe vera L*) terhadap Kematian Larva Nyamuk *Anopheles aconitus* Donitz. Skripsi Surakarta Fak Ilmu Kesehat Univ Muhammadiyah.2011.
 15. Gutierrez PM, Antepuesto AN, Eugenio BAL, Santos MFL. Larvicidal Activity of Selected Plant Extracts against the Dengue vector *Aedes aegypti* Mosquito. *Int Res J Biol Sviences*. 2014;3(4):23–32
 16. Tandil J. Pengaruh Tanin Terhadap Aktivitas Enzim Protease (Effect of Tannin on Protease Enzyme Activities) 2010;(1993):567–70.
 17. Yunita E, Suprapti N, Hidayat J. Pengaruh Ekstrak Daun Teklan (*Eupatorium riparium*) terhadap Mortalitas dan Perkembangan Larva *Aedes aegypti*. *Bioma*. 11(1):11–7.
 18. Widawati M. Efektivitas Ekstrak Buah Bit (*Beta vulgaris L.*) dengan Berbagai Fraksi Pelarut Terhadap Mortalitas Larva *Aedes aegypti*. 2013;5(1):23–9.
 19. Gautam K, Kumar P, Poonia S. Larvicidal activity and GC-MS analysis of flavonoids of *Vitex negundo* and *Andrographis paniculata* against two vector mosquitoes *Anopheles stephensi* and *Aedes aegypti*. *J Vector Borne Dis*. 2013;50(3):171–8.
 20. Yuantri M. Studi Ekonomi Lingkungan Penggunaan Pestisida dan Dampaknya Pada Kesehatan Petani di

- Area Pertanian Holtikultura Desa Sumber Rejo Kec Ngablak Jawa Tengah. Tesis Univ Diponegoro. 2009;
22. Papaya Leaf (*Carica Papaya* Linn) Ethanol Extract As Larvacide For *Aedes Aegypti* Instar III. 2015;4:76–84.
 23. Nindatu M, et al. Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Sirih (*Piper betle* L.) terhadap Mortalitas Larva Nyamuk *Anopheles* sp dan *Culex*. *J Kedokteran dan Kesehatan Mollusca Med.* 2011;4(1): 88–105.
 24. Lauwrens, F. I., Wahongan, G.J., & Bernadus, J. B. Pengaruh Dosis Abate
 21. Kurniawan B, Rapina R, Sukohar A, Nareswari S. Effectiveness Of The Terhadap Jumlah Populasi Jentik Nyamuk *Aedes* Spp Di Kecamatan Malalayang Kota Manado. 2014. [Internet]. [cited 2020 nov 28]. <http://ejournal.unsrat.ac.id/index.php/ebiomedik/article/view/4391>
 25. Rahayu DF, Ustiawan A. Identifikasi *Aedes aegypti* dan *Aedes albopictus*. *J of Balaba.* 2013;9(1):7-10