

UJI AKTIVITAS FRAKSI N-HEKSAN EKSTRAK ETANOL DAUN CEREMAI (*Phyllanthus acidus*) SEBAGAI LARVASIDA NYAMUK *Aedes aegypti*

Ermelinda D. Meye, Djeffry Amalo, Vinsensius M. Ati, Alfred O.M. Dima, Ike Septa, Yuvinensiana Vesa

Program Studi Biologi FST Undana

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas fraksi n-heksan ekstrak daun ceremai (*Phyllanthus acidus*) sebagai larvasida nyamuk *Aedes aegypti*, nilai LC_{50} dan LT_{50} fraksi n-heksan ekstrak daun Ceremai (*Phyllanthus acidus*) terhadap mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti*. Rancangan yang digunakan pada penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) terdiri dari 6 perlakuan dan 4 kali pengulangan dengan P0 (kontrol), P1 (6,25 ppm), P2 (12,5 ppm), P3 (25 ppm), P4 (50 ppm), P5 (100 ppm). Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa fraksi n-heksan ekstrak daun ceremai berpengaruh nyata ($P= 0,000$) terhadap mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti*. Fraksi n-heksan ekstrak daun ceremai dengan konsentrasi 100 ppm paling efektif membunuh larva nyamuk *Aedes aegypti* mencapai 84%. Akan tetapi secara statistik perlakuan dengan konsentrasi 25 ppm (P3), 50 ppm (P4), dan 100 ppm (P5) memberikan pengaruh yang berbeda tidak nyata ($P > 0,05$) tetapi berbeda dengan P1 (6,25 ppm), artinya ketiga perlakuan ini (P3,P4,P5) memiliki pengaruh yang tidak berbeda secara signifikan terhadap kematian larva. Sehingga untuk pertimbangan efisiensi maka pemberian fraksi n-heksan ekstrak etanol daun ceremai pada konsentrasi 25 ppm (P3) sudah dapat memberikan pengaruh mortalitas pada larva nyamuk *Aedes aegypti*. Hasil analisis probit menunjukkan bahwa LC_{50} sebesar 9,2 ppm dengan pemaparan selama 24 jam dan LT_{50} pada perlakuan P5 dibutuhkan waktu 15,965 jam.

Kata Kunci : *Aedes aegypti*, mortalitas, n-heksan

Demam Berdarah Dengue atau biasa disebut DBD adalah penyakit demam akut yang tergolong penyakit menular dan sangat berbahaya karena dapat menyebabkan penderita meninggal dalam waktu singkat dan sering menimbulkan wabah yang disebabkan oleh virus dengue, yang masuk ke peredaran darah melalui gigitan nyamuk dari genus *Aedes*, misalnya *Aedes aegypti* dan *Aedes albopictus*. Nyamuk *Aedes aegypti* adalah vektor yang paling banyak ditemukan menyebabkan penyakit DBD. Nyamuk dapat membawa virus dengue setelah menghisap darah orang yang terinfeksi virus tersebut, sesudah masa inkubasi virus didalam nyamuk selama 8-10 hari. Nyamuk yang terinfeksi dapat mentransmisikan virus dengue tersebut ke manusia sehat yang digigitnya (Haryono dkk., 2013).

Upaya pemberantasan nyamuk DBD dititikberatkan pada pemberantasan nyamuk dewasa dengan pengendalian secara kimiawi yang sering digunakan dalam penanggulangan nyamuk *Aedes aegypti* adalah dengan menggunakan Temepos pada stadium larva. Pemakaian insektisida kimia yang berlebihan dan tidak terkontrol dapat menimbulkan pengaruh yang tidak diharapkan, seperti resistensi pada vektor sasaran yaitu nyamuk *Aedes aegypti*, membahayakan kesehatan manusia dan berdampak buruk terhadap lingkungan (Ekawati dkk, 2017).

Sehubungan dengan hal tersebut dibutuhkan insektisida alternatif yaitu menggunakan insektisida alami yakni insektisida yang dihasilkan oleh tanaman beracun terhadap serangga tetapi tidak mempunyai efek samping terhadap lingkungan dan tidak berbahaya bagi manusia (Susana, 2003).

Senyawa yang terkandung pada tumbuhan dan diduga berfungsi sebagai insektiisida diantaranya adalah golongan sianida, saponin, tanin, flavonoid, alkaloid, steroid, dan minyak atsiri. Tanaman ceremai (*Phyllanthus acidus*) mengandung senyawa flavonoid, tanin, dan saponin. Ekstrak daun ceremai berpengaruh nyata terhadap mortalitas larva *Aedes aegypti* (Haryono dkk., 2013). Oleh karena itu, telah dilakukan penelitian tentang Uji Aktivitas Fraksi N-Heksan Ekstrak Etanol Daun Ceremai (*Phyllanthus acidus*) Sebagai Larvasida Nyamuk *Aedes aegypti*.

MATERI DAN METODE

Jenis Penelitian : Penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 6 perlakuan dan 4 pengulangan yaitu, 0 ppm, 6,25 ppm, 12,5 ppm, 25 ppm, 50 ppm, 100 ppm. Variabel yang diamati dalam penelitian ini yaitu, uji kandungan Flavonoid, jumlah larva yang mati, LC₅₀ (*Lethal Concentration 50*), LT₅₀ (*Lethal Concentration Time 50*).

Penyiapan Larva Nyamuk : Telur *Aedes aegypti* diperoleh dari Badan Loka Penelitian dan Pengembangan Kesehatan (Loka Litbangkes) Waikabubak. Telur nyamuk *Aedes aegypti* ditetaskan dalam wadah plastik berisi air bersih 1000 cc dan diberi makan *dogfood* selama pemeliharaan. Telur nyamuk *Aedes aegypti* yang sudah menetas dibiarkan kurang lebih 3-5 hari agar larva mencapai instar III dan IV, kemudian digunakan untuk penelitian.

Pembuatan ekstrak : Pembuatan ekstrak etanol daun ceremai dilakukan dengan menggunakan metode maserasi. Simplisia daun ceremai dimeserasi (direndam) menggunakan etanol 70% dengan perbandingan 1:4. Simplisia yang telah dibuat sebanyak 400 gram dimasukkan dalam wadah maserasi lalu direndam dengan etanol 70% sebanyak 1.600 ml, sambil diaduk secara berkala. Pengadukan dilakukan 2 kali yakni pada pagi dan sore hari. Setelah 24 jam disaring dan dipisahkan ampas dan filtratnya. Selanjutnya ampas dimaserasi dengan cairan penyari etanol yang baru dan dilakukan berulang hingga filtratnya bening. Filtrat yang diperoleh, dikumpulkan dan dipekatkan dengan alat rotari evaporator pada suhu 40°C sampai diperoleh ekstrak kental.

Fraksinasi ekstrak : Ekstrak kental sebanyak 10 gram dilarutkan dengan 25 ml air, diaduk hingga encer dan homogen kemudian dimasukkan dalam corong pisah, difraksinasi secara berturut-turut secara ekstraksi cair dengan pelarut n-heksana, kloroform, dan etil asetat. Dihasilkan fraksi n-heksana, fraksi kloroform, dan fraksi etilasetat. Selanjutnya ketiga fraksi diuapkan dengan alat rotary evaporator pada suhu 40°C.

Uji Fitokimia : 1) Ketiga fraksi yaitu fraksi n-heksana, kloroform, dan etil asetat, kemudian dimasukkan kedalam 6 tabung reaksi masing-masing sebanyak 1 mL. 2) Ekstrak pada tabung pertama direaksikan dengan serbuk magnesium dan 2-5 tetes HCl pekat dan dikocok. Terbentuknya warna merah menunjukkan adanya flavonoid golongan flavonol dan flavanon. 3) Tabung kedua ditambahkan dengan HCl pekat beberapa tetes kemudian dipanaskan selama

15 menit diatas penangas. Terbentuknya warna jingga menunjukkan adanya flavonoid golongan antosianidin. 4) Tabung ketiga ditambahkan larutan NaOH 10% 5 tetes dan terjadi perubahan warna menunjukkan adanya flavonoid golongan fenol (Zirconia dkk, 2015).

Perlakuan Terhadap Hewan Uji : 1) Disiapkan 24 wadah yang dibagi dalam 6 perlakuan dengan pengulangan sebanyak 4 kali. 2) Fraksi *n*-heksana yang positif mengandung senyawa flavonoid pada uji fitokimia dibuat seri konsentrasi 6,25 ppm, 12,5 ppm, 25 ppm, 50 ppm, 100 ppm. 3) Masing-masing wadah ditambahkan air hingga 100 ml, lalu dimasukan 25 ekor larva *Aedes aegypti* instar III/IV ke dalam setiap wadah dan ditetesi larutan uji pada setiap perlakuan, yaitu : P1 (0,484 ml) P2 (0,969 ml) P3 (1,938 ml) P4 (3,876 ml) P5 (7,752 ml). 4) Dilakukan pengamatan selama 24 jam, dengan lama waktu pengamatan setiap 2 jam, 4 jam, 6 jam, 8 jam, 10 jam, 12 jam, 14 jam, 16 jam, 18 jam, 20 jam, 22 jam, 24 jam. Perhitungan waktu, dimulai setelah dimasukkan larva ke dalam wadah uji. 5) Efek kematian yang dimaksud yaitu saat larva uji mengalami mortalitas akibat adanya aktivitas dari ekstrak larvasida dan tidak bergerak disentuh dengan jarum di daerah siphon atau lehernya, tubuh larva kaku (Moniharopon dkk, 2019). Larva yang hampir mati juga dikategorikan kedalam larva yang mati dimana ciri-ciri larva yang hampir mati adalah larva tersebut tidak dapat meraih permukaan air atau tidak bergerak aktif ketika air digerakkan (Kartikasari dkk., 2020).

6) Dihitung jumlah larva yang mati. Jika setelah 24 jam larva masih ada yang hidup maka pengamatan dilanjutkan ke 24 jam berikut.

Analisis Data : Persentase mortalitas larva, LC₅₀ dan LT₅₀ dianalisis menggunakan Analisis Varians (ANOVA) menggunakan program SPSS untuk mengetahui efektivitas senyawa flavonoid pada larva *Aedes aegypti*. Jika ada pengaruh perlakuan dilanjutkan dengan uji Duncan MRT (*Multiple Range Test*).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Fraksi N-Heksan Ekstrak Daun Ceremai Terhadap Mortalitas Larva Nyamuk *Aedes aegypti*

Pengaruh senyawa flavonoid sebagai larvasida pada larva *Aedes aegypti* dilakukan dengan fraksi n-heksan yang positif mengandung senyawa flavonoid.

Sebelum ditetapkan konsentrasi untuk perlakuan pada uji larva terlebih dahulu fraksi n-heksan diuji kadar total flavonoid yang terkandung dalam ekstrak daun ceremai menggunakan metode spektrofotometer dan diperoleh kadar total senyawa flavonoid yang terkandung didalamnya sebesar 1289,971 ppm. Perbedaan total kadar senyawa flavonoid dapat dibuktikan dengan nilai rendemen. Semakin tinggi nilai rendemen suatu ekstrak menunjukkan kadar flavonoid yang dihasilkan semakin besar dan semakin tinggi senyawa bioaktif yang terkandung di dalamnya. Perbedaan total kadar senyawa flavonoid dapat dipengaruhi oleh faktor ekologi seperti cekaman suhu. Sebagai bentuk adaptasi terhadap suhu lingkungan yang tinggi, tumbuhan akan memproduksi senyawa yang bersifat antioksidan. Pada suhu yang lebih tinggi akan menghasilkan total flavonoid yang lebih tinggi sebagai ekstra sinergi pertahanan terhadap cekaman pada lingkungan (Shamloo *et al.* 2017).

Tabel 1. Persentase Kematian Larva Nyamuk *Aedes aegypti* Setelah 24 Jam Diberi Perlakuan Fraksi N-Heksan Daun Ceremai

Perlakuan (ppm)	Ulangan				Σ kematian	Rata-Rata	% Kematian
	1	2	3	4			
P0 (0)	0	0	0	0	0	0 ^a	0
P1 (6,25)	12	7	10	10	39	9,75 ^b	39
P2 (12,5)	13	11	18	15	57	14,25 ^c	57
P3 (25)	15	14	21	22	72	18,00 ^{cd}	72
P4 (50)	24	21	19	19	83	20,75 ^d	83
P5 (100)	21	21	24	18	84	21,00 ^d	84

Keterangan : Angka didikuti dengan superskrip yang sama dalam kolom yang sama berarti berbeda tidak nyata

Hasil uji Anova menunjukkan bahwa fraksi n-heksan ekstrak daun ceremai berpengaruh nyata ($P = 0,000$) terhadap kematian larva nyamuk *Aedes aegypti*. Perlakuan dengan konsentrasi 100 ppm (P5) fraksi n-heksan ekstrak daun ceremai memberikan efek toksik paling efektif karena menyebabkan kematian larva *Aedes aegypti* mencapai 84% dibandingkan perlakuan lainnya. Akan tetapi secara statistik perlakuan dengan konsentrasi 25 ppm (P3), 50 ppm (P4), dan 100 ppm (P5) memberikan pengaruh yang berbeda tidak nyata ($P > 0,05$) tetapi berbeda dengan P1 (6,25 ppm), artinya ketiga perlakuan ini (P3,P4,P5) memiliki pengaruh yang tidak berbeda secara signifikan terhadap kematian larva. Sehingga untuk pertimbangan efisiensi maka pemberian fraksi n-heksan ekstrak etanol daun ceremai pada konsentrasi 25 ppm (P3) sudah dapat memberikan pengaruh mortalitas pada larva nyamuk *Aedes aegypti*. Flavonoid bekerja sebagai inhibitor kuat pernapasan atau sebagai racun pernapasan. Senyawa flavonoid ekstrak daun ceremai masuk ke dalam tubuh larva melalui sistem pernapasan yang akan menimbulkan kelayuan pada syaraf serta kerusakan pada sistem pernapasan yang menyebabkan larva tidak bisa bernapas dan akhirnya mati. Cara kerja flavonoid dalam menyebabkan kelayuan syaraf adalah menghambat kerja enzim asetilkolinesterase. Asetilkolin yang dibentuk oleh sistem saraf pusat berfungsi menghantarkan impuls dari sel saraf ke sel otot. Setelah penghantar impuls, proses dihentikan oleh enzim asetilkolinesterase yang memecah asetilkolin menjadi asetil ko-A dan kolin.

Adapun flavonoid akan menyebabkan penumpukan asetilkolin sehingga terjadi gangguan penghantaran impuls ke otot yang berakibat pada kekejangan otot, terjadi paralisis, dan berakhir pada kematian (Annafi' 2016). Berdasarkan hasil pengamatan yang dilakukan pada penelitian ini, larva yang keracunan memiliki pergerakan dan respon yang lambat ketika diberi rangsang berupa sentuhan pada sifon maupun bagian tubuh yang lain, Kondisi larva yang mati yaitu tenggelam dengan tubuh memanjang kaku atau membengkok.

Nilai LC_{50} Fraksi N-Heksan Ekstrak Daun Ceremai Terhadap Mortalitas Larva Nyamuk *Aedes aegypti*

LC_{50} (Lethal Concentration 50) adalah konsentrasi yang dibutuhkan untuk membunuh larva hingga 50% dari total hewan uji. Hasil analisis probit didapatkan nilai LC_{50} sebesar 9,2 ppm. Hal ini berarti setiap penambahan fraksi n-heksan senyawa flavonoid ekstrak daun ceremai sebesar 9,2 ppm sudah dapat membunuh 50% larva *Aedes aegypti* dari total hewan uji selama 24 jam. Hubungan antara persentase kematian larva nyamuk *Aedes aegypti* dengan konsentrasi fraksi n-heksan ekstrak daun ceremai. Pola hubungan tersebut dinyatakan dalam persamaan: $y = 0,6354x + 35,314$ dengan nilai koefisien determinan (R^2) = 0,549. Persamaan ini menunjukkan bahwa setiap peningkatan fraksi n-heksan ekstrak daun ceremai (x) sebesar 1 ppm maka akan menyebabkan peningkatan presentase kematian larva nyamuk *Aedes aegypti* (y) sebesar 0,6354%.

Nilai koefisien $R^2 = 0,549$ menunjukkan bahwa 54,9% kematian larva disebabkan oleh fraksi n-heksan ekstrak daun ceremai yang terdeteksi mengandung senyawa flavonoid pada uji fitokimia dan sisanya dipengaruhi oleh senyawa lain yang tidak diamati serta faktor-faktor lain yang tidak diamati dalam penelitian ini seperti faktor makanan, periode pemaparan, kualitas air, dan perilaku makan larva.

Nilai LT_{50} Fraksi N-Heksan Ekstrak Daun Ceremai Terhadap Mortalitas Larva Nyamuk *Aedes aegypti*

LT_{50} (Lethal Concentration Time 50) yaitu waktu yang dibutuhkan untuk membunuh 50% dari populasi hewan atau serangga uji.

Tabel 2. Nilai LT_{50} Fraksi N-Heksan Ekstrak Etanol Daun Ceremai

Konsentrasi	Nilai LT_{50}
6,25 ppm	33,536 jam
12,5 ppm	24,362 jam
25 ppm	20,081 jam
50 ppm	18,043 jam
100 ppm	15,965 jam

Berdasarkan tabel 2 dapat dilihat bahwa pada konsentrasi 100 ppm fraksi n-heksan ekstrak daun ceremai mampu memicu kematian larva mencapai 50% hanya dalam waktu 15,965 jam. Semakin tinggi konsentrasi fraksi n-heksan ekstrak daun ceremai maka semakin singkat waktu yang dibutuhkan untuk mencapai 50% kematian larva nyamuk *Aedes aegypti*.

Secara teoritis penggunaan 100 ppm membutuhkan waktu yang lebih singkat untuk membunuh larva nyamuk *Aedes aegypti* dengan jumlah ekstrak yang dibutuhkan 15 kali lebih banyak dari P1(6,25 ppm). Akan tetapi dari sisi efisiensi ekonomis jika dikaitkan dengan siklus hidup dari larva menjadi nyamuk dewasa yaitu 3-4 hari maka penerapan P1 sebagai perlakuan dengan konsentrasi terendah (6,25 ppm) dan dari sisi ekonomis menghemat biaya, sehingga disarankan menggunakan perlakuan dengan konsentrasi 6,25 ppm. karena hanya membutuhkan waktu 1,5 hari untuk membunuh larva dari waktu siklus hidup larva menjadi nyamuk dewasa.

Hubungan antara persentase kematian larva dengan waktu dinyatakan dalam persamaan regresi linear: $y = 1,7857x + 43$ dengan koefisien determinasi (R^2) = 0,9833. Persamaan ini berarti bahwa setiap penambahan waktu (x) selama 1 jam akan meningkatkan presentase kematian larva (y) sebesar 1,7857%. Koefisien determinan (R^2) = 0,9833 yang berarti bahwa 98,33% mortalitas larva *Aedes aegypti* disebabkan oleh lama waktu (x) larva terpapar dengan fraksi n-heksan ekstrak daun ceremai yang mengandung senyawa flavonoid sedangkan sisanya dipengaruhi oleh senyawa lain yang tidak diamati serta faktor-faktor lain yang tidak diamati dalam penelitian ini seperti faktor makanan, periode pemaparan, kualitas air, suhu air dan perilaku makan larva.

PENUTUP

Simpulan

1. Fraksi n-heksan ekstrak daun ceremai efektif terhadap mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* dengan konsentrasi yang paling efektif adalah 100 ppm namun dari segi efisiensi konsentrasi 25 ppm sudah cukup efektif untuk membunuh larva nyamuk *Aedes aegypti*.
2. Nilai LC₅₀ fraksi n-heksan ekstrak daun ceremai terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* sebesar 9,2 ppm sedangkan nilai LT₅₀ fraksi n-heksan ekstrak daun ceremai yaitu pada konsentrasi 100 ppm dibutuhkan waktu 15,965 jam

Saran

1. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan perlu dilakukan pengujian senyawa bioaktif pada bagian lain dari tanaman ceremai.
2. Diperlukan penelitian lebih lanjut dengan melakukan kombinasi senyawa bioaktif daun ceremai dengan senyawa bioaktif tumbuhan lainnya sebagai larvasida.
3. Dilakukan penelitian lanjutan mengenai efektifitas senyawa flavonoid ekstrak daun ceremai terhadap tingkatan siklus nyamuk lainnya (pupa-dewasa).
4. Perlu dilakukan uji toksisitas senyawa flavonoid ekstrak daun ceremai untuk melihat keamanan penggunaannya.
5. Perlu dilakukan uji pendahuluan untuk menentukan konsentrasi yang akan digunakan dalam penelitian sebenarnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdillah, Dede, Raden Soedradjad, and Tri Agus Siswoyo. 2015. "Pengaruh Cekaman Kekeringan Terhadap Kandungan Fenolik Dan Antioksidan Tanaman Sorgum (*Sorghum Bicolor* L . Moench) Pada Fase Awal Vegetatif." Berkala Ilmiah Pertanian 1 (1): 1–4.
- Abdullah, Mohammad; Muhamad, Babar; Kee, Won Yu; Eun, Joo Hahn; Kee, Yoeup Paek. 2006. "Effect of Temperature on Secondary Metabolites Production and Antioxidant Enzyme Activities in *Eleutherococcus Senticosus* Somatic Embryos." Plant Cell, Tissue and Organ Culture 85: 219–28.
- Dewatisari, W. F., Leni, R., Ismi, R. (2018). Rendemen dan Skrining Fitokimia pada Ekstrak Daun *Sansevieria* sp. Jurnal Penelitian Pertanian Terapan Vol. 17 (3).
- Ekawati, E.R., Setyo, D.S., Yeni, R.P. (2017). Pemanfaatan Kulit Buah Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) Sebagai Larvasida *Aedes aegypti* Instar III. Fakultas Ilmu Kesehatan, Univ. Maarif Hasyim Latif Sidoarjo. Jurnal Biota Vol. 3 No. 1 Edisi Januari 2017.
- Goh Khairudin K., Sukiran., Normah., Baharum. 2016. "Metabolite Profiling Reveals Temperature Effects On The Vocs And Flavonoids Of Different Plant Populations." Plant Biol (Stuttg) 1: 130–39.

- Kusuma, P. (2012). Penetapan Kadar Flavonoid Total Dan Daya Antioksidan Dari Ekstrak Etanol Buah Pare (*Momordica charantia* L). Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
- Nichola, Austen, J. Walker Heather, Ann Lake Janice, K. Phoenix Gareth, and Drummond Cameron Duncan. 2019. "No Title." *Plant Sci.*
- Prasetya, I Wayan, G.P. Putra dan L. P. Wrasati. (2019). Pengaruh jenis pelarut dan waktu maserasi terhadap ekstrak kulit biji kakao sebagai sumber antioksidan. *Jurnal rekayasa dan manajemen agroindustri*. 8(1): 150-159.
- Pratiwi, Y., Haryono, T., Rahayu, S. (2013). Efektivitas Ekstrak Daun Ceremai (*Phyllanthus acidus*) terhadap Mortalitas Larva *Aedes aegypti*. *Lentera Bio Berkala Ilmiah Biologi*, 2(3), 197–201.
- Shamloo, Maryam, Elizabeth A. Babawale, Robert J. Agnelo Furtodo, Peter K. Eck Henry, and Peter J. H. Jones. 2017. "Effect of Genotype and Temperature on Accumulation of Plant Secondary Metabolites in Canadian and Australian Wheat Grown Under Controlled Enviroments. University of Manitoba." *Scientific Report* 7 (9133): 1–13.
- Suirta, I.W., N.M. Puspawati., N.K. Guimati. 2007. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Aktif Larvasida Dari Biji Mimba (*Azadirachta indica* A.Juss) Terhadap Larva Nyamuk Demam Berdarah (*Aedes aegypti*). Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana, Bukit Jimbaran.
- Supriyanto. 2010. Pengembangan Sorgum Di Lahan Kering Untuk Memenuhi Kebutuhan Pangan, Pakan, Energi Dan Industri. Simposium Nasional 2010: Menuju Purworejo Dinamis dan Kreatif Fakultas Kehutanan, Institut Pertanian Bogor, SEAMEO – BIOTROP, Bogor .
- Susana, D., A. Rahman., Pawenang, E. T. (2003). Potensi Daun Pandan Wangi Untuk Membunuh Larva Nyamuk *Aedes aegypti*. *Jurnal Ekologi Kesehatan* 2(2), 228-231.
- Yasi, R. M., Harsanti, R. S. (2018). The Larvacidal Activity of *Moringa aloifera* Extract Leaf to The Larva's *Aedes aegypti* Mortality. *Journal of Agromedicine and Medical Sciences*, 4(3), 159.