

## EFIKASI EKSTRAK DAUN ZODIA (*Evodia suaveolens*) PELARUT HEKSANA DALAM MEMATIKAN LARVA INSTAR III *Aedes aegypti*

**Didi Setiyadi<sup>1)</sup>, Martini<sup>2)</sup>, Mochamad Hadi<sup>3)</sup>**

<sup>1)</sup>Magister Epidemiologi, Universitas Diponegoro, Semarang, Indonesia

<sup>2)</sup>Fakultas Kesehatan Masyarakat, Universitas Diponegoro, Semarang, Indonesia

<sup>3)</sup>Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro, Semarang, Indonesia

E-mail: [didisetiyadi@outlook.co.id](mailto:didisetiyadi@outlook.co.id); [didisetiyadi1@live.com](mailto:didisetiyadi1@live.com)

### **ABSTRACT**

DHF is a disease caused by a virus which is transmitted through the bite of the *Aedes aegypti* mosquito and is one of the health problems in Indonesia. Efforts to decide the transmission of DHF by controlling the population of *Aedes aegypti* at the larval stage using larvaside temepos. Long-term use of temepos causes *Aedes aegypti* resistance and environmental damage. One of the plants that has the potential as botanical larvaside is the leaves of zodia (*Evodia suaveolens*). The purpose of this study was to prove the efficacy of zodia leaves of hexane solvent for killing *A. aegypti* larvae. This type of research is a pure experiment with the post test only control group design. The research sample is *A. aegypti* stage III susceptible strain. There are 7 groups consisting of 1 negative control (aquades), positive control (1 ppm temepos) and 5 treatment groups (zodia leaf extract). Data on larval mortality were counted 24 hours after treatment. The results of the one way ANOVA test showed that there were differences in mortality between test groups with a p value: 0.001 a (0.05). Zodia leaf extract probit test results showed  $LC_{50}$ -24 hour and  $LC_{90}$ -24 hour values of 0,443 ppm and 0,788 ppm. Zodia leaf extract with hexane solvent has efficacy as *Aedes aegypti* larvicide.

**Keywords:** *Aedes aegypti*; *Evodia suaveolens*; larvicide; zodia extract; zodia leaves.

### **ABSTRAK**

DBD merupakan penyakit yang disebabkan virus yang penularannya melalui gigitan nyamuk *Aedes aegypti* dan menjadi salah satu masalah kesehatan di Indonesia. Upaya memutuskan penularan DBD dengan mengendalikan populasi *Aedes aegypti* pada tahap larva menggunakan larvasida temepos. Penggunaan temepos jangka panjang menyebabkan resistensi *Aedes aegypti* dan kerusakan lingkungan. Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai larvasida botani adalah

daun zodia (*Evodia suaveolens*). Tujuan penelitian adalah membuktikan efikasi daun zodia pelarut heksana untuk mematikan larva *A. aegypti*. Jenis penelitian ini adalah eksperimen murni dengan desain *post test only control group design*. Sampel penelitian merupakan *A. aegypti* instar III *susceptible strain*. Terdapat 7 kelompok yang terdiri dari 1 kontrol negatif (aquades), kontrol positif (temepos 1 ppm) dan 5 kelompok perlakuan (ekstrak daun zodia). Data kematian larva dihitung selama 24 jam setelah perlakuan. Hasil uji *one way ANOVA* menunjukkan terdapat perbedaan kematian antarkelompok uji dengan nilai  $p: 0,001 \leq \alpha (0,05)$ . Hasil uji probit ekstrak daun zodia menunjukkan nilai  $LC_{50}$ -24 jam dan  $LC_{90}$ -24 jam yaitu 0,443 ppm dan 0,788 ppm. Ekstrak daun zodia dengan pelarut heksana memiliki efikasi sebagai larvasida *Aedes aegypti*.

**Kata Kunci :** *Aedes aegypti*; daun zodia; ekstrak zodia; *Evodia suaveolens*; larvasida.

## PENDAHULUAN

Demam Berdarah *Dengue* (DBD) adalah penyakit yang disebabkan virus dari golongan flaviviridae yang ditularkan oleh *Aedes aegypti* dan *Aedes albopictus* (WHO, 2020). Sebuah studi permodelan menunjukkan risiko infeksi DBD terjadi di 129 negara dan terdapat  $\pm 390$  juta infeksi pada manusia setiap tahunnya (Bhatt *et al*, 2013). DBD di Indonesia tahun 2016, *Insiden Rate* (IR) 78,85 per 100.000 penduduk; *Case Fatality Rate* (CFR) 0,78%. Tahun 2017, IR 26,10 per 100.000 penduduk; CFR 0,72%. Tahun 2018, IR 24,75 per 100.000 penduduk; CFR 0,71%. Meskipun terjadi penurunan IR dan CFR dari tahun 2016 - 2018 di Indonesia, namun DBD merupakan penyebab kematian utama pada kelompok usia sekolah dan masih menjadi prioritas pengendalian penyakit menular Kementerian Kesehatan Republik Indonesia (Kemenkes RI, 2013, 2018).

Upaya pemutusan penularan penyakit DBD dilakukan dengan cara mengendalikan populasi *A. aegypti*. Pengendalian *A. aegypti* yang paling mudah, praktis dan umum dilakukan masyarakat adalah saat berada stadium larva dengan menggunakan larvasida temepos (WHO, 2011). Sejak tahun 1980 sampai saat ini temepos 1% (Abate) merupakan jenis larvasida pilihan utama untuk mengendalikan larva *A. aegypti* di Indonesia (FuadzyH. dkk, 2015). Penggunaan temepos secara berulang-ulang dan dalam jangka panjang menimbulkan masalah lain seperti resistensi, kebangkitan spesies hama, pencemaran lingkungan, bahaya racun bagi manusia dan organisme non target (Ridha dkk, 2011). Penelitian di Kota Banjarbaru, Kota Surabaya dan Kota Semarang menunjukkan terdapat indikasi resisten terhadap temepos pada larva *A. aegypti* (Handayani dkk, 2016; Mulyatno *et al*, 2012; Ridha & Nisa, 2011). Banyaknya

dampak negatif penggunaan larvasida sintetis mendorong untuk penelitian mengenai larvasida botani. (Nurhaifah, D. & Sukei, T.W. 2015)

Salah satunya tanaman yang berpotensi sebagai larvasida botani adalah tanaman zodia (*Evodia suaveolens*). Berdasarkan hasil skrining fitokimia menunjukkan daun zodia memiliki efek sebagai insektisida dan larvasida yaitu alkaloid, tanin, saponin dan flavanoid (Lestari dkk, 2015). Penelitian lain membuktikan ekstrak daun zodiadengan pelarut etanol 70% memiliki kemampuan sebagai larvasida *A. aegypti* strain rentan dan strain Kecamatan Tembalang (Basundari, S.A. dkk, 2018; Handayani, S.W. dkk, 2017).

Dari beberapa penelitian di atas, menunjukkan ekstrak daun zodia sebagai larvasida menggunakan pelarut etanol 70% yang bersifat polar. Pelarut bersifat polar memiliki kemampuan untuk melarutkan senyawa-senyawa polar, namun tidak dapat melarutkan senyawa non polar. Uji ekstrak jeruk purut sebagai larvasida menunjukkan ekstrak dengan pelarut heksana (pelarut non polar) memiliki daya bunuh lebih baik terhadap larva *A. aegypti* dibandingkan ekstrak dengan pelarut metanol (pelarut polar) (Nur dkk, 2015). Berdasarkan uraian

tersebut penelitian dilakukan untuk membuktikan efikasi daun zodiadengan heksana (pelarut non polar) untuk mematikan larva *A. aegypti*.

## METODE PENELITIAN

Jenis penelitian ini adalah eksperimen murni dengan *post test only control group design*. Uji larvasida dilaksanakan pada bulan Agustus sampai November 2019 di Laboratorium Pestisida Botani B2P2VRP Salatiga. Bahan yang digunakan saat pengujian adalah aquades, ekstrak daun zodiadan *A. aegypti* instar III strain rentan. Alat yang digunakan saat pengujian adalah gelas, neraca analitik, kolok, termometer, hygrometer, pH meter, arloji, gelas ukur, pipet volume, cawan petri, ciduk jentik dan tisu.

Daun zodia berasal dari Taman B2P2VRP Salatiga. Daun dicuci sampai bersih dengan menggunakan air, kemudian dikeringkan dengan cara dijemur pada tempat yang tidak terpapar matahari secara langsung selama 120 jam. Setelah kering dilanjutkan memotong menjadi kecil dengan menggunakan blender; menimbang simplisia dan pelarut heksana dengan perbandingan 1:3 dan dilakukan perendaman selama 72 jam. Campuran simplisia dan heksana disaring dengan menggunakan kertas saring.

Penguapan ekstrak pada rotary evaporator pada suhu 60 °C (Harbone, 1987). Pembuatan ekstrak dilakukan di Laboratorium Teknologi Pangan UNIKA Semarang.

Mengacu pada ketentuan WHO, sampel yang digunakan adalah *A. aegypti* instar III *strain* rentan sebanyak 25 ekor pada setiap kelompok (WHO, 2005). Terdapat 7 kelompok yang terbagi menjadi 1 kelompok kontrol negatif (aquades), 1 kelompok positif (temepos konsentrasi 1 ppm) dan 5 kelompok perlakuan (ekstrak zodia pelarut heksana konsentrasi 0,2 ppm, 0,4 ppm, 0,6 ppm, 0,8 ppm dan 1 ppm). Pengulangan dilakukan sebanyak 4 kali yang ditentukan melalui perhitungan rumus Federer. Jumlah sampel yang digunakan saat pengujian sebesar 700 *A. aegypti* instar III *strain* rentan. Kriteria inklusi yang ditetapkan adalah *A. aegypti* instar III *strain* rentan yang bergerak

aktif dan kriteria eksklusi yang ditetapkan adalah larva *A. aegypti* cacat atau mati sebelum perlakuan. Data kematian *A. aegypti* instar III *strain* rentan dicatat pada 6 jam, 12 jam, 18 jam dan 24 jam setelah perlakuan.

Persentase kematian kontrol positif dan kelompok perlakuan dikoreksi menggunakan rumus Abbot jika persentase kematian larva pada kelompok kontrol negatif berada antara  $\geq 5\%$  sampai  $< 20\%$  (WHO, 2005). Data kematian larva *A. aegypti* dianalisis menggunakan uji *One Way ANOVA* untuk membuktikan bahwa terdapat perbedaan rerata kematian antarkelompok uji. Analisis Probit dilakukan untuk mengetahui nilai  $LC_{50}$ -24 jam dan  $LC_{90}$ -24 jam. Perangkat lunak yang digunakan untuk analisis adalah IBM SPSS *for windows* versi 22.

## HASIL

Tabel 1. Hasil pengukuran variabel lingkungan pada uji ekstrak daun zodia dalam membunuh larva *A. aegypti*

Parameter	Min.		Max.	
	Awal	Akhir	Awal	Akhir
Suhu air	26,6°C	26,2°C	26,9°C	26,8°C
Suhu ruangan	27,2°C	27,3°C	27,2°C	27,3°C
pH air	3,54	3,59	4,64	5,08
Kelembapan	80%	77%	80%	77%

Tabel 1. memberikan informasi bahwa suhu air dan suhu ruangan secara berurutan antara 26<sup>0</sup>C sampai 27<sup>0</sup>C yang diukur saat awal dan akhir pengujian. Pengukuran pH air berada antara 3,54 sampai 5,08 yang menunjukkan bahwa aquades saat pengujian berlangsung bersifat asam. Pengukuran terhadap kelembapan udara saat pengujian berlangsung antara 77% sampai 80%.

Tabel 2. memberikan informasi bahwa mortalitas larva *A. aegypti* pada kelompok kontrol negatif sebesar 7% pada pengamatan

ke 24 jam. Mengikuti ketentuan WHO dalam pengujian larvasida, maka persentase kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan dikoreksi menggunakan rumus Abbot. Pada kelompok kontrol positif (temepos konsentrasi 1 ppm) dan ekstrak zodia konsentrasi 1 ppm mampu menyebabkan kematian sebesar 100% larva *A. aegypti* pada pengamatan ke 24 jam. Hasil uji *One Way ANOVA* menunjukkan terdapat perbedaan rerata kematian larva *A. aegypti* antar kelompok yang bermakna secara statistik dengan nilai p: 0,001.

Tabel 2. Pengaruh ekstrak daun zodia terhadap jumlah kematian larva *A. aegypti* mati pada pengamatan 24 jam

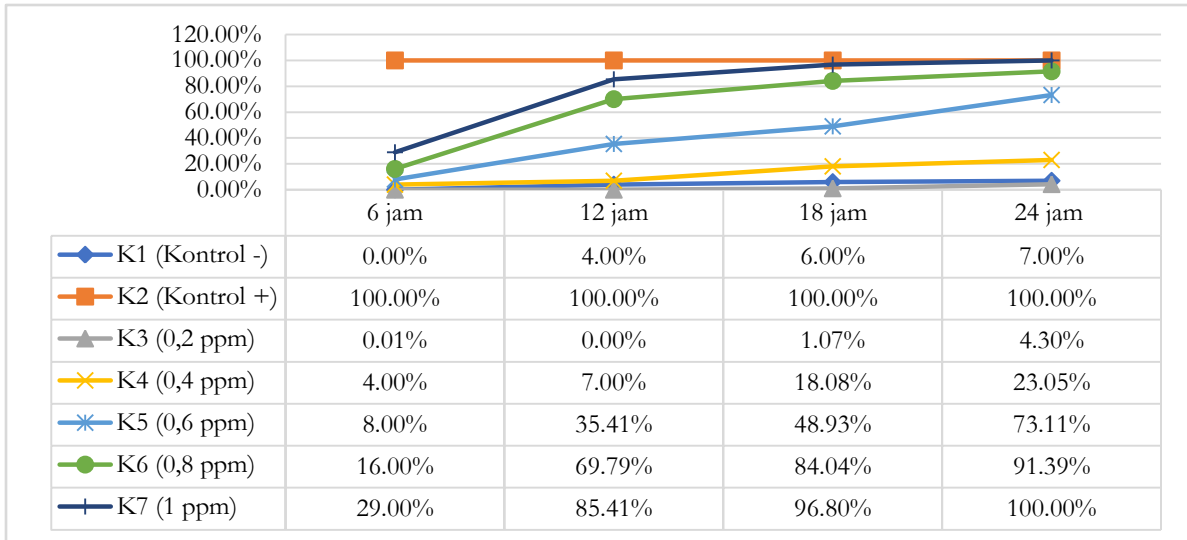
Kelompok	n	Jumlah larva <i>A. aegypti</i> mati					$\Sigma$	$\bar{X}$	%*	P
		R I	R II	R III	R IV					
Kontrol –	25	0	3	4	0	7	1,25	7,00	0,001**	
Kontrol +	25	25	25	25	25	100	25,00	100,0		
0,2 ppm	25	3	1	5	2	11	2.75	4,300		
0,4 ppm	25	7	5	11	6	29	7.25	23,05		
0,6 ppm	25	19	20	19	17	75	18.75	73,11		
0,8 ppm	25	20	24	23	25	92	23,00	91,39		
1 ppm	25	25	25	25	25	100	25,00	100,0		

**Keterangan:**

R = Replikasi

%\* = Persentase kematian larva *A. aegypti* setelah dikoreksi menggunakan rumus Abbot

\*\* = Signifikan berdasarkan uji *One Way ANOVA*  $p \leq \alpha$  (0,05)



Gambar 1. Pengaruh ekstrak daun zodiaterhadap kematianlarva *A. aegypti* berdasarkan waktu

Gambar 1. memberikan informasi bahwa pada kontrol positif (temepos konsentrasi 1 ppm) mampu menyebabkan mortalitas 100% larva *A. aegypti* pada pengamatan ke 6 jam dibandingkan dengan kelompok ekstrak zodia konsentrasi 1 ppm mampu menyebabkan kematian 100% pada waktu pengamatan ke 24 jam. Secara umum juga memberikan informasi semakin lama waktu

paparan ekstrak daun zodia meningkatkan persentase kematian larva *A. aegypti*.

Berdasarkan Tabel 3. memberikan informasi bahwa konsentrasi ekstrak daun zodia menyebabkan kematian 50% dan 90% larva *A. aegypti* waktu pengamatan 24 jamyaitu sebesar 0,443 ppm dan 0,788 ppm.

Tabel 3. Nilai LC<sub>50</sub>-24 jam dan LC<sub>95</sub>-24 jam ekstrak daun zodiaterhadap kematianlarva *A. aegypti*

Analisis probit	Konsentrasi	Konsentrasi batas atas dan batas bawah
	(ppm)	(ppm)
LC <sub>50</sub> - 24 jam	0,433	0,370 - 0,494
LC <sub>90</sub> - 24 jam	0,788	0,672 -1,003

## PEMBAHASAN

Kematian larva *A. aegypti* pada kelompok kontrol negatif (aquades) pada pengamatan ke 24 jam sebesar 7% (Tabel 2). Hal ini membuktikan bahwa terdapat faktor lingkungan yang berpengaruh yaitu pH aquades antara 3,54 sampai 4,87 yang artinya aquades bersifat asam (Tabel 1). Penelitian Hijjarahwati dkk membuktikan bahwa pH air antara 3 sampai 5 menyebabkan kematian pada larva *A. aegypti* (Hijjarahwati dkk, 2018). Berbeda dengan Ridha menunjukkan bahwa larva *A. aegypti* mampu hidup di alam pada pH air antara 3 sampai dengan 12 (M. Ridha dkk, 2013). pH air yang bersifat asam menyebabkan gangguan pernapasan larva melalui penurunan kemampuan enzim sitokrom oksidase dan menyebabkan kematian pada plakton, yang merupakan sumber makanan bagi larva *A. aegypti* (Hijjarahwati dkk, 2018). Persentase kematian larva pada kelompok kontrol positif (temepos konsentrasi 1 ppm) dan kelompok perlakuan (ekstrak zodia) dikoreksi menggunakan rumus Abbot, koreksi tersebut dilakukan untuk mendapatkan gambaran kemampuan ekstrak zodia untuk mematikan larva *A. aegypti* yang lebih proporsional dan presisi; yang pada pengujian ini terdapat pengaruh pH asam

(aquades) yang mempengaruhi kematian larva *A. aegypti* (Finney, 1952).

Hasil pengujian membuktikan peningkatan konsentrasi dan lama waktu paparan ekstrak zodia pelarut heksanan (non polar) diikuti peningkatan persentase kematian larva *A. aegypti* (Tabel 2 dan Gambar 1). Hasil uji *one way ANOVA* membuktikan bahwa terdapat perbedaan rerata kematian larva antarkelompok bermakna secara statistik (Tabel 2). Hal ini menunjukkan bahwa kematian larva *A. aegypti* disebabkan pemberian ekstrak daun zodia. Sesuai dengan penelitian Handayani dkk menunjukkan ekstrak zodia pelarut etanol 70% (polar) mampu menyebabkan kematian pada larva *A. aegypti* (Handayani, S.W. dkk, 2015). Hasil penelitian Basundari dkk juga membuktikan ekstrak daun zodia pelarut etanol 70% (polar) mampu menyebabkan kematian pada larva *A. aegypti* strain Kecamatan Tembalang (Basundari S.A. dkk, 2018). Penyebab kematian larva *A. aegypti* pada kelompok perlakuan dapat dikaitkan kandungan metabolit sekunder yang mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan larva. Kandungan metabolit sekunder daun zodia yang memiliki efek sebagai larvasida oleh antara lain alkaloid, tanin, saponin dan flavanoid (Basundari,

S.W.dkk, 2018; Lestari M.S. dkk, 2015). Alkaloid berfungsi sebagai racun perut dengan cara mengganggu kerja enzim *asetil kolinesterase* yang memiliki tugas meneruskan perintah ke saluran pencernaan larva sehingga gerakan tidak dapat terkendali. Ciri-ciri larva yang mati yang disebabkan oleh alkaloid adalah gerakan naik pada permukaan air, warna lebih transparan, gerakan tubuh larva lambat dan selalu membengkokkan badan (Ahdiyah, I, & Purwani, K.I., 2015). Tanin yang masuk melalui saluran pencernaan menyebabkan gangguan penyerapan protein melalui aktivitas enzim pencernaan dan penyerapan makanan. Saponin menyebabkan kerusakan membran kutikula, merusak membran sel, menurunkan nafsu makan dan mengiritasi saluran pencernaan sehingga mengganggu pertumbuhan dan perkembangan larva. (Arts H.P.T & College, R.Y.K.S. 2014; Pilla *et al*, 2012) Kandungan senyawa flavonoid masuk melalui ke tubuh larva melalui *siphon* dan menyebabkan kerusakan pernafasan. Perubahan perilaku larva berupa gerakan dan respon larva lambat, tubuh larva sejajar dengan permukaan air; posisi tersebut memudahkan larva untuk mengambil oksigen.

Konsentrasi yang dibutuhkan ekstrak daun zodia pelarut heksana (non polar) untuk menyebabkan kematian 50% dan 90% larva uji dalam waktu 24 jam adalah 0,433 ppm dan 0,788 ppm (Tabel 3). Berdasarkan nilai  $LC_{50}$  dengan menggunakan yang klasifikasi sitotoksik dibuat Mayer dikategorikan ekstrak yang bersifat toksik. (Meyer *et al*, 1982). Penelitian Handayani dkk menunjukkan konsentrasi ekstrak daun zodia pelarut etanol 70% (polar) mampu menyebabkan kematian sebesar 50% dan 90% dalam waktu 24 jam adalah 1,94 ppm dan 6,28 ppm (Handayani, S.W. dkk, 2017). Penelitian Basundari dkk mengenai ekstrak daun zodia pelarut etanol 70% (polar) sebagai larvasida *A. aegypti strain* Kecamatan Tembalang memiliki nilai  $LC_{50}$ -72 jam (Basundari S.A.dkk, 2018). Hal ini memberikan informasi bahwa ekstrak daun zodia menggunakan pelarut non polar membutuhkan ekstrak lebih sedikit dibandingkan ekstrak dengan pelarut polar untuk menyebabkan kematian larva uji. Sesuai dengan penelitian Nur *et al* menunjukkan ekstrak jeruk purut (*Citrus hystrix*) pelarut heksana (non polar) memiliki nilai  $LC_{90}$  memiliki nilai lebih kecil dibandingkan dengan ekstrak jeruk purut pelarut metanol (polar) (Nur, A.*et al*, 2015). Berbeda dengan penelitian Yuliasih, daya



bunuh biji kayu besi pantai (*Pongamia pinnata*) dengan pelarut metanol (polar) dan kloroform (non polar) terhadap larva *A. aegypti* menunjukkan nilai  $LC_{50}$  lebih kecil pada pelarut polar dibandingkan pelarut non polar. (Yuliasih & Widawati, 2018). Berdasarkan beberapa penelitian di atas, perbedaan kemampuan daya bunuh ekstrak pada larva *A. aegypti* disebabkan oleh spesies tanaman, *strain* larva nyamuk dan pelarut. Selain tersebut, ada faktor lain yang dapat mempengaruhi efikasi ekstrak sebagai larvasida adalah mutu ekstrak. Menurut Kemenkes RI terdapat faktor-faktor mempengaruhi mutu antara lain identitas jenis, lokasi tumbuh asal (musim, sinar matahari, ketinggian, curah hujan), periode pemanenan hasil tumbuhan, penyimpanan bahan tumbuhan, umur, bagian tumbuhan, komposisi kualitatif, kuantitatif senyawa, metode ekstraksi, ukuran bahan, kekerasan bahan dan kekeringan bahan (Depkes RI, 2000).

## KESIMPULAN

Ekstrak daun zodiapelarut heksana memiliki efikasi larvasida *A. aegypti*. Nilai  $LC_{50}$ -24 jam dan  $LC_{90}$ -24 jam ekstrak daun zodia pelarut heksana sebagai larvasida sebesar 0,443 ppm dan 0,788 ppm. Perlu dilakukan pengaruh sifat pH terhadap efikasi ekstrak zodia

heksana sebagai larvasida dan uji fitokimia (TLC, UV-VIS dan Mass spektrometri) untuk mengetahui kandungan senyawa kimia ekstrak zodiapelarut heksana.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Disampaikan terima kasih kepada B2P2VRP Salatiga, Laboratorium Teknologi Pangan UNIKA Semarang atas izin dan dukungan dalam menjalankan penelitian ini serta semua pihak yang berkontribusi dalam penelitian ini.

## REFERENSI

- Ahdiyah, I.& Purwani, K.I. (2015). Pengaruh Ekstrak Daun Mangkokan (*Nothopanax scutellarium*) sebagai Larvasida Nyamuk *Culex sp.* *Jurnal Sains Dan Seni ITS*, 4:2
- Arts, H.P.T. & College, R.Y.K.S. (2014). Larvicidal Activity of Some Saponin Containing Plants Against the *Dengue* Vector *Aedes Aegypti*. *Journal Trends in Biotechnology Research*, 3:1
- Basundari, S.A. dkk (2018). Pengaruh Kandungan Ekstrak Daun Zodia (*Evodia suaveolens*) terhadap Mortalitas Larva Nyamuk *Aedes aegypti*. *Berkala Ilmiah Biologi*, 20:1
- Bhatt, S. et al (2013). The Global Distribution and Burden of Dengue. *HHS Public Access*, 496:7446, 504–507.
- Depkes RI. (2000) *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. 1<sup>st</sup> ed. Jakarta. 12-13.
- Finney, D.J. (1925) *Probit analysis: Adjustments for Natural Mortality*. 2<sup>nd</sup> ed. London Cambridge University Press, 88-91.
- Fuadzy, H. dkk (2015). Kerentanan Larva

- Aedes aegypti* Terhadap Temefos di Tiga Kelurahan Endemis Demam Berdarah Dengue Kota Sukabumi. *Buletin Penelitian Kesehatan*, 43:1 41–46.
- Handayani, N.(2016). Status Resistensi Larva *Aedes Aegypti* terhadap Temephos di Wilayah Perimeter dan Buffer Pelabuhan Tanjung Emas Kota Semarang. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*, 4:3
- Handayani, S.W.(2017). Potensi Umbi Gadung (*Dioscorea hispida*) dan Daun Zodia (*Euodia suaveolens*) sebagai Insektisida Nabati. *Media Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan*, 27:1 49–56.
- Harbone, J. B. (1987). *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung: ITB.
- Hijjarahwati dkk (2018). Pengaruh Variasi Derajat Keasaman (pH) Air Terhadap Pertumbuhan Larva *Aedes* sp. *Universitas Muhammadiyah Semarang*. Retrieved from : <http://repository.unimus.ac.id/id/eprint/2899>
- KemkesRI. (2013). *Rencana Strategis Kementerian Kesehatan Tahun 2015-2019*. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI.
- Kemkes RI. (2018). *Profil Kesehatan Indonesia Tahun 2018*. Jakarta. Kementerian Kesehatan RI.
- Lestari, M.S.(2015). Toxicity and phytochemistry test of methanol extract of several plants from papua using Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 7:4, 866–872
- Meyer, B.N.*et al* (1982). Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Medica*, 45:1, 31–34.
- Mulyatno, K.C. dkk (2012). Resistance of *Aedes aegypti* (L.) Larvae to Temephos in Surabaya, Indonesia. *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 43:1, 29–33.
- Nur, A.*et al*. Biolarvicidal Effectivities of Polar and Non-polar Extract Fraction from Kaffir Lime (*Citrus hystrix*) Leaf against 3rd Instar Larvae of *Aedes aegypti*. *Journal of Biological Engineering Research and Review*11: 13–17.
- Nurhaifah, D.& Sukei, T.W. (2015). Efektivitas Air Perasan Kulit Jeruk Manis sebagai Larvasida Nyamuk *Aedes aegypti*. *Kesmas: National Public Health Journal*, 9:3, 207.
- Pilla D’Incao, M. (2012). Effect of Saponin Extracted from *Passiflora alata* Dryander (Passifloraceae) on development of the *Spodopterafrugiperda*(J.E. Smith) (Lepidoptera, Noctuidae). *International Journal of Plant Research*, 2:5, 151–159.
- Ridha, M.R. & Nisa, K. (2011). Larva *Aedes aegypti* Sudah Toleran Terhadap Temepos di Kota Banjarbaru, Kalimantan Selatan. *Jurnal Vektor Dan Reservoir Penyakit*, 92–109.
- Ridha, M. dkk (2013). Hubungan Kondisi Lingkungan dan Kontainer dengan Keberadaan Jentik Nyamuk *Aedes aegypti* di Daerah Endemis Demam Berdarah *Dengue* di Kota Banjarbaru. *Jurnal Buski*, 4:3, 133–137.
- World Health Organization. *Guidelines for Laboratory and Field Testing of Mosquito Larvicides*; 2005. p 1–41. Availablefrom:<http://whqlibdoc.who.int/>
- WHO. (2011) *Comprehensive Guidelines for Prevention and Control of Dengue and Dengue Haemorrhagic Fever*. SEARO. 2011. 159–168.
- WHO. (2020). Dengue and severe dengue. Availablefrom:<https://www.who.int/news-room/factsheets/detail/dengue-and-severe-dengue>
- Yuliasih, Y. & Widawati, M. (2018). Aktivitas Larvasida Berbagai Pelarutpada Ekstrak Biji Kayu Besi Pantai (*Pongamia pinnata*) terhadap

Mortalitas Larva *Aedes* spp. Balaba:  
*Jurnal Litbang Pengendalian Penyakit*

*Bersumber Binatang Banjarnegara*, 125–  
132.