

UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK ETANOL DAN FRAKSI AIR BUAH LEUNCA (*Solanum nigrum* L.) SEBAGAI BIOLARVASIDA TERHADAP LARVA NYAMUK PENYEBAB FILARIASIS (*Culex* sp)

Ariel Dhafa Rais*, Esti Rachmawati Sadiyah, Kiki Mulkiya Yulawati

Prodi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung, Indonesia.

*ariel.dhafa@gmail.com, esti.sadiyah@gmail.com, qqmulkiya@gmail.com

Abstract. Filariasis infects more than 1.3 billion people in 72 countries. The number of clinical cases of filariasis in Indonesia based on cumulative data until 2013 was found to be 12,714 cases. The disease is transmitted by *Culex* sp mosquitoes as the main vector. One of the plants that can be utilised as a larvicide is black nightsade (*Solanum nigrum* L.) which contains glycoalkaloids in young fruit that are toxic. The purpose of this study was to determine the larvicidal effectiveness of extracts and water fractions of leunca fruit against *Culex* sp. Extraction was carried out using a cold method, namely maceration with solvents used 96% ethanol and liquid-liquid extraction (LLE) using a separating funnel. the concentration of extracts of 0,05%, 0,1%, 0,2%, 0,5%, 1%, and 2% of leunca fruit were used in larvicidal test and larva death was observed at larvae at 1 hour, 4 hours, 8 hours, 12 hours and 24 hours observation, respectively. The LC₅₀ (Lethal Concentration) results of ethanol extract obtained were 0.0035% and water fraction 0.0983%. It can be concluded that the ethanol extract of leunca fruit showed active toxicity against test animals and the water fraction was not effective.

Keywords: *Solanum nigrum*, Larvicide, *Culex* sp, Lethal Concentration (LC₅₀)

Abstrak. Penyakit filariasis menginfeksi lebih dari 1,3 miliar penduduk di 72 negara. Jumlah kasus klinis filariasis di Indonesia berdasarkan data kumulatif sampai tahun 2013 ditemukan sejumlah 12.714 kasus. Penyakit ini ditularkan nyamuk *Culex* sp sebagai vektor utamanya. Salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai larvasida adalah tanaman leunca (*Solanum nigrum* L.) yang mengandung glikoalkaloid pada buah muda yang bersifat racun. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efektivitas larvasida ekstrak etanol dan fraksi air buah terhadap *Culex* sp, dilakukan ekstraksi menggunakan cara dingin yaitu maserasi dengan pelarut yang digunakan etanol 96% dan fraksi ekstraksi cair cair (ECC) menggunakan corong pisah. Konsentrasi ekstrak berturut turut 0,05%, 0,1%, 0,2%, 0,5%, 1%, dan 2% buah leunca yang paling efektif untuk membunuh larva *Culex* sp pada pengamatan 1 jam, 4 jam, 8 jam, 12 jam dan 24 jam. Hasil LC₅₀ (Lethal Concentration) ekstrak etanol dan fraksi air berturut-turut sebesar 0,0035% dan fraksi air 0,0983%. Dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol buah leunca memiliki toksisitas kriteria aktif terhadap hewan uji sedangkan fraksi air tidak efektif.

Kata Kunci: *Solanum nigrum*, Larvasida, *Culex* sp, Lethal Concentration (LC₅₀)

A. Pendahuluan

Nyamuk *Culex* sp merupakan nyamuk yang banyak terdapat di lingkungan sekitar kita. Nyamuk *Culex* sp banyak di temukan di daerah tropis, khususnya di negara Indonesia. Indonesia nyamuk *Culex* sp tersebar di seluruh daerah mulai Sumatera, Jawa, Sulawesi, Kalimantan, Nusa Tenggara Timur (NTT), dan Papua. Nyamuk *Culex* sp ditemukan di daerah persawahan dan di daerah kumuh di perkotaan. Nyamuk *Culex* sp yang ditemukan diketahui sebagai vektor penyakit yang berbahaya seperti filariasis (kaki gajah). [1]

Penyakit filariasis menginfeksi lebih dari 1,3 miliar penduduk di 72 negara. Tersebar di berbagai wilayah yaitu 65% di Asia Tenggara, 30% di Afrika dan 5% di daerah tropis lain. Indonesia tergolong daerah rawan kasus filariasis. Jumlah kasus klinis filariasis di Indonesia berdasarkan data kumulatif sampai tahun 2013 ditemukan sejumlah 12.714 kasus. Jumlah kasus filariasis mengalami peningkatan sejak tahun 2012, yaitu 11.902 kasus. Penyakit ini tidak menyebabkan kematian, tetapi dapat menimbulkan kecacatan seumur hidup, stigma sosial dan dampak beban ekonomi [2]

Salah satu upaya pencegahan rantai penyebaran nyamuk *Culex* sp adalah dengan cara pengendalian vektor dengan menggunakan larvasida. Saat ini telah banyak larvasida yang digunakan oleh masyarakat, tetapi larvasida tersebut membawa dampak negative pada lingkungan karena mengandung senyawa-senyawa kimia yang berbahaya antara lain dapat menimbulkan pencemaran lingkungan, keracunan, kematian organisme, dan menghasilkan residu. Pemakaian temephos (abate) selama tiga bulan dapat menyebabkan air menjadi kotor dan bau. Maka dari itu perlu pengembangan larvasida baru yang tidak berbahaya bagi masyarakat dan ramah lingkungan, melalui penggunaan larvasida hayati, bahan dasarnya berasal dari tumbuhan. Larvasida dari tanaman lebih selektif dan aman, karena mudah terdegradasi di alam [3]

Salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai larvasida adalah tanaman buah leunca (*Solanum nigrum* L.) yang mengandung glikoalkaloid pada buah muda yang bersifat toksik. Dua racun utama pada glikoalkaloid, yaitu *solanin* dan *chaconin*. Kadar glikoalkaloid yang tinggi dapat menimbulkan rasa pahit dan keracunan pada hewan [4]

Berdasarkan latar belakang di atas, maka dapat dirumuskan permasalahan yaitu bagaimanakah efektivitas dan nilai LC50 ekstrak dan fraksi air buah leunca (*Solanum nigrum* L.) sebagai larvasida terhadap *Culex* sp?

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efektivitas larvasida ekstrak dan fraksi air buah leunca (*Solanum nigrum* L.) terhadap *Culex* sp, dan konsentrasi ekstrak buah leunca (*Solanum nigrum* L.) yang paling efektif untuk membunuh larva *Culex* sp.

Penelitian ini diharapkan berguna dalam penyediaan informasi dalam teknologi larvasida terutama dalam produk insektisida berbahan dasar alami. Penelitian ini juga diharapkan dapat dilanjutkan hingga pembuatan produk larvasida yang inovatif dan sebagai referensi untuk para peneliti, dan manfaat bagi masyarakat.

B. Metodologi Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan meliputi beberapa tahapan. Tahap awal yang dilakukan yaitu menyiapkan alat dan bahan, tumbuhan leunca (*Salomon nigrum*.L) yang diperoleh di determinasi di Herbarium Bandungense, SITH-ITB. Pembuatan simplisia yang dilakukan terdiri dari, sortasi basah untuk memisahkan bahan dari tumbuhan lain atau bagian yang kotor yang tidak digunakan, pencucian bahan lalu dirajang dan kemudian buah leunca dikeringkan dengan cara di oven dan dilakukan cara sortasi kering dan penggilingan. Setelah itu dilakukan standarisasi simplisia meliputi, penetapan kadar air, penetapan susut pengeringan, penetapan kadar abu total, penetapan kadar abu tidak larut asam, penetapan kadar sari air, dan penapisan fitokimia meliputi senyawa monoterpen dan seskuterpen, triterpenoid, steroid, tanin, alkaloid, polifenol, saponin, dan flavonoid. setelah itu dilakukan ekstraksi menggunakan cara dingin yaitu maserasi dengan pelarut yang digunakan yaitu etanol 96%.

Larva nyamuk dibagi kedalam tiga kelompok, yaitu kelompok uji, pembanding, dan kontrol. Pada kelompok perlakuan, larva nyamuk *Culex* sp. ini menjadi 6 kelompok yang diberi ekstrak etanol buah leunca (*Solanum nigrum*) yang dilarutkan dengan aquadest dengan varian

konsentrasi 0,05%; 0,1%; 0,2%; 0,5%; 1% dan 2%, sedangkan pada pembanding diberikan temephos (abate) 1 % dan aquadest sebagai kontrol negatif. Pengujian ini dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan berdasarkan *guidelines larvacides* [5]

Pada setiap konsentrasi sampel uji, kontrol negatif maupun kontrol positif digunakan 10 larva nyamuk yang selanjutnya diinkubasi selama 2 x 24 jam sekaligus dilakukan pengamatan terhadap kematian larva. Nilai konsentrasi kematian 50% (LC50) diperoleh dengan terlebih dahulu menghitung persentase mortalitas larva, kemudian diolah dengan analisis probit menggunakan software *microsoft excel*.

Persamaan garis yang diperoleh ($y = ax + b$) menunjukkan nilai probit (sumbu y) pada masing-masing nilai logaritmik konsentrasi uji (sumbu x) LC50 dihitung dengan mortalitas sebesar 50% yakni pada $y = 5$

C. Hasil Penelitian dan Pembahasan

Pada penelitian yang telah dilakukan, Buah leunca yang digunakan diperoleh dari Kabupaten Sumedang dan dideterminasi di Herbarium Bandungse Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung. Bagian tumbuhan yang digunakan adalah bagian buah. Determinasi tumbuhan dilakukan untuk mengidentifikasi kebenaran bahan yang digunakan dalam penelitian, dan diperoleh hasil bahwa sampel yang diperiksa memiliki nama latin *Solanum nigrum* L

Buah leunca yang digunakan, dibuat menjadi sebuah simplisia melalui beberapa tahap, diawali dengan proses sortasi basah dengan memilih buah leunca yang berwarna hijau memiliki kualitas baik dan segar tanpa hama dan jamur yang melekat pada permukaan buah. Pada tahap kedua sampel dicuci menggunakan air mengalir, dibersihkan dari kotoran yang melekat untuk menghindari adanya kontaminasi pada bahan. Selanjutnya tahap ketiga dilakukan perajangan yang dilanjutkan dengan pengeringan yang bertujuan untuk mengurangi kadar air untuk mencegah tumbuhnya mikroba pada simplisia sehingga dapat disimpan dalam jangka waktu lebih lama dan tidak mudah mengalami kerusakan. [6]

Setelah dilakukan proses pengeringan, kemudian simplisia dilakukan proses penggerusan dengan blender untuk memperkecil ukuran serbuk dan mempermudah proses penetrasi pelarut ke dalam simplisia ketika dilakukannya proses ekstraksi. Serbuk simplisia yang terlalu besar dapat mengakibatkan luas kontak antara pelarut dengan komponen yang akan dipisahkan menjadi lebih kecil. Sedangkan jika ukuran serbuk simplisia lebih kecil maka pelarut lebih mudah berdifusi ke dalam jaringan bahan sehingga proses penarikan senyawa dari bahan lebih efektif [7]

Hasil penapisan fitokimia pada buah leunca menunjukkan bahwa terdapat adanya perbedaan kandungan senyawa antara simplisia dan ekstrak. Hal ini dapat disebabkan adanya reaksi negatif palsu seperti pada penapisan saponin, hasil pengujian menyatakan tidak ada (negatif) tetapi sebenarnya ada (positif), hal ini disebabkan karena kadar didalam bahan uji terlalu sedikit atau bahan ujinya ekstrak simplisia tidak memenuhi syarat, ekstrak etanol dapat menarik senyawa alkaloid, fenolat, flavonoid, saponin, antrakuinon, tanin, tritepenoid, steroid, dan monoterpenoid dan seskuiterpenoid

Tabel 1. Hasil penetapan penapisan fitokimia simplisia dan ekstrak

Golongan Senyawa	Simplisia	Ekstrak
Alkaloid	+	+
Fenolat	+	+
Flavonoid	+	+
Saponin	-	+
Antrakuinon	+	+
Tanin	+	+

Triterpenoid	+	+
Steroid	+	-
Monoterpenoid dan Seskuiterpenoid	+	+

Keterangan:

(+) = Terdeteksi (-) = Tidak Terdeteksi

Hasil penetapan penapisan fitokimia simplisia saponin tidak terdeteksi dan steroid ekstrak tidak terdeteksi. Hal ini dapat terjadi karena diduga memang saponin yang terkandung pada simplisia buah leunca yang jumlahnya terbilang sedikit, maka jika telah dilakukan perlakuan lain yaitu ekstraksi saponin, saat diidentifikasi saponin memberikah hasil yang positif karena sifat etanol yang lebih polar dibandingkan dengan air. Sedangkan steroid ekstrak tidak terdeteksi karena senyawa steroid cenderung bersifat non polar sehingga dapat terekstrak oleh pelarut non-polar [8]

Penetapan parameter standar simplisia dan ekstrak bertujuan untuk mengetahui kualitas atau mutu bahan yang digunakan dalam penelitian. Penetapan parameter standar spesifik yang dilakukan di antaranya kadar sari larut air, kadar sari larut etanol, dan organoleptik. Sedangkan penetapan parameter non spesifik terhadap simplisia di antaranya susut pengeringan, kadar air, kadar abu total, dan kadar abu total tidak larut asam.

Tabel 2. Hasil penetapan parameter standar simplisia buah leunca

Penetapan Parameter	Hasil (%)
Kadar Sari Larut Air	42,034 ± 3,401
Hasil penetapan parameter non spesifik	
Penetapan Parameter	Hasil (%)
Susut Pengeringan	9,33 ± 0,494
Kadar Air	8,75 ± 0,530
Kadar Abu Total	10,126 ± 1,847
Kadar Abu Tidak Larut Asam	4,512 ± 2,885

Pada penentuan kadar sari larut air dilakukan terhadap simplisia buah leunca menggunakan pelarut aquadest. Penetapan kadar sari larut air dilakukan dengan tujuan menentukan berapa banyak zat yang dapat terlarut dalam pelarut yang bersifat lebih polar. Dalam proses ini didapatkan kadar sari larut air dengan nilai 42,034% sehingga dapat dikatakan bahwa senyawa senyawa yang terkandung didalam buah leunca.

Selanjutnya dilakukan penetapan susut pengeringan yang bertujuan untuk memberikan batasan maksimal mengenai besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan. Penetapan susut pengeringan dilakukan dengan bantuan oven pada suhu 105°C hingga didapatkan bobot konstan dan diperoleh hasil rata-rata susut pengeringan dari simplisia buah leunca sebesar 9,33%.

Kemudian dilakukan penetapan kadar air yang bertujuan untuk memberikan batasan minimal atau rentang minimal tentang besarnya kandungan air di dalam simplisia (BPOM., 2000). Dari hasil penetapan parameter kadar air yang dilakukan, diperoleh hasil rata-rata sebesar

8,75%. Hal ini menunjukkan bahwa kadar air yang dimiliki oleh simplisia buah leunca telah memenuhi standar yaitu di bawah 10%.

Penetapan kadar abu bertujuan untuk memberikan gambaran mengenai kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses awal sampai terbentuknya simplisia [9]. Penetapan kadar abu total ini dilakukan untuk mengukur setelah melewati proses pemanasan, dari pengujian yang dilakukan terhadap simplisia buah leunca sebanyak 2 gram, diperoleh nilai rata-rata kadar abu total simplisia sebesar 8,754%. Kemudian penetapan kadar abu tidak larut asam bertujuan untuk mengetahui jumlah kadar abu yang diperoleh dari faktor luar berasal dari pengotor yaitu dari pasir atau tanah. sebanyak 2 gram diperoleh nilai rata-rata kadar abu tidak larut asam simplisia sebesar 4,5124%.

Simplisia serbuk halus 500 gram yang telah kering selanjutnya dilakukan ekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Metode maserasi merupakan salah satu metode ekstraksi cara dingin, pemilihan metode ini didasarkan pada penggunaan senyawa yang dimanfaatkan dalam pengujian biolarvasida senyawa yang tidak tahan pemanasan maka dari itu digunakan maseri dengan cara dingin. Proses ekstraksi ini dilakukan selama 3 hari dengan pergantian pelarut setiap 24 jam, pergantian pelarut bertujuan untuk memaksimalkan proses pengambilan kandungan senyawa dalam simplisia, karena jika pelarut tidak diganti maka akan terjadi adalah pelarut mencapai titik jenuh sehingga tidak mampu lagi untuk menarik kandungan senyawa yang terdapat dalam simplisia.

Kemudian ekstrak yang didapatkan dipekatkan menggunakan *rotary vacuum evaporator*, yang bertujuan untuk mendapatkan ekstrak dengan kandungan senyawa dalam konsentrasi yang tinggi. Proses pemekatan merupakan peningkatan jumlah senyawa terlarut secara penguapan pelarut sampai ekstrak menjadi kental atau pekat. Selanjutnya ekstrak dipekatkan di atas *waterbath*, untuk menguapkan kembali sisa pelarut yang masih tersisa didalam ekstrak hingga didapatkan berat yang konstan.

Fraksinasi merupakan proses pemisahan senyawa berdasarkan kepolaran. Pada proses fraksinasi digunakan dua pelarut yang tidak saling bercampur dan memiliki tingkat kepolaran yang berbeda-beda. Ekstrak kental buah leunca yang diperoleh ditimbang 15 gram menggunakan pelarut aquadest kemudian difraksinasi dengan campuran n-heksan dipisahkan lapisan aquadest dengan cara menuangkan dari corong pisah ke erlenmeyer. Ekstrak buah leunca yang sudah disaring dengan n-heksan dilanjutkan dengan dimasukan pelarut etil asetat, dengan cara menuangkan dari corong pisah ke erlenmeyer, selanjutnya fraksi dengan aquadest setelah terbentuk lapisan pisah fraksi aquadest dan kemudian dituangkan kedalam erlenmeyer. Ekstrak hasil fraksinasi dipekatkan dengan bantuan *waterbath* sehingga diperoleh bentuk fraksi kental

Larutan ekstrak dan fraksi air buah leunca dibuat dengan konsentrasi masing-masing 0,05%, 0,1%, 0,2%, 0,5%, 1%, 2% dan digunakan aquadest sebagai kontrol negatif dimana larutan kontrol negatif ini bertujuan untuk meyakinkan bahwa tidak adanya aktivitas terhadap larva dan temephos sebagai kontrol positif, dimana kontrol positif digunakan sebagai pembanding. Penelitian ini dilakukan dengan pengulangan sebanyak 3 kali (Triplo) untuk mendapatkan data yang lebih baik dan akurat, masing masing konsentrasi dan kontrol diisi dengan 10 ekor larva instar III.

Hasil pengujian biolarvasida dilihat dari jumlah larva nyamuk yang mengalami kematian. Kematian larva tersebut terjadi karena adanya senyawa-senyawa yang terkandung di dalam ekstrak memiliki efek toksik pada hewan uji (*Culex* sp). Jumlah kematian larva berbeda-beda dan terlihat dari perbedaan konsentrasi yang digunakan. pada kontrol negatif tidak terlihat kematian larva nyamuk. Sedangkan pada kontrol positif temephos yang digunakan memiliki aktivitas yang kuat untuk menyebabkan kematian. Temephos memiliki mekanisme kerja yaitu dengan menghambat kerja enzim asetilkolinesterase pada serabut saraf sehingga terjadinya hambatan transmisi sinyal saraf dan kerusakan pada sistem saraf simpatis- parasimpatis, saraf perifer dan saraf pusat. [10]

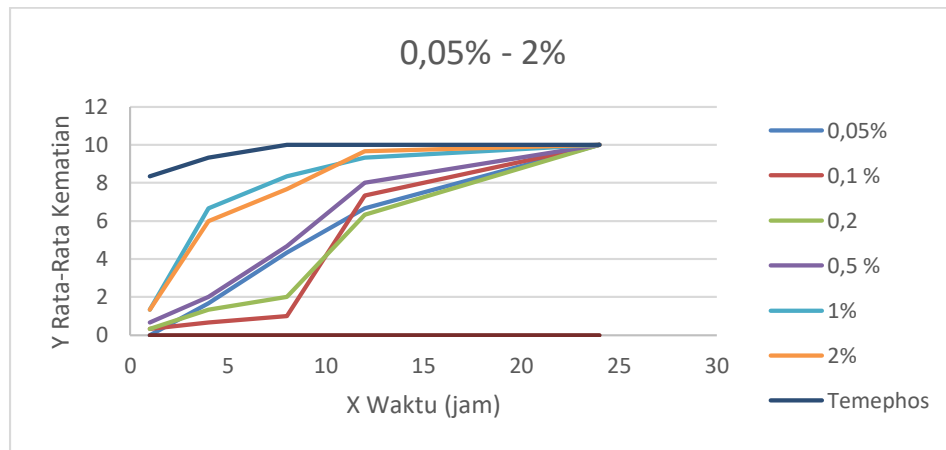
Tabel 3. Jumlah rata rata dari uji aktivitas biolarvasida ekstrak buah leunca

Sampel Uji	Rata-Rata Larva Mati				
	1	4	8	12	24
Aquadest	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
0,05%	0±0	1,67±1,24	4,54±2,86	6,67±1,88	10±0
0,10%	0,33±0,47	0,67±0,94	1±0,81	7,33±0,94	10±0
0,20%	0,33±0,47	1,33±0,94	2±1,41	6,33±2,49	10±0
0,50%	0,67±0,47	2±0,81	4,67±0,47	8±0,81	10±0
1,00%	1,33±0,47	6,67±0,94	8,33±0,94	9,33±0,94	10±0
2,00%	1,33±0,47	6±2,16	7,66±1,69	9,67±0,47	10±0
Temephos	8,33±0,47	9,33±0,47	10±0	10±0	10±0

Tabel 4. Jumlah rata rata dari uji aktivitas biolarvasida fraksi air buah leunca

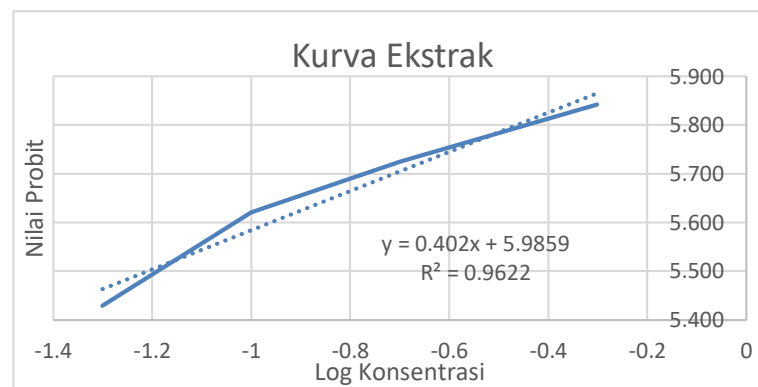
Sampel Uji	Rata Rata Larva Mati				
	1	4	8	12	24
Aquadest	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
0,05%	1±0,81	1,67±1,24	2±1,41	4,33±2,85	10±0
0,10%	0,67±0,47	1,67±1,24	2±1,41	4,67±2,86	10±0
0,20%	1±0,81	1,67±1,24	3±1,41	6±2,16	10±0
0,50%	1±0,81	3,67±1,41	5±2,16	7,33±1,69	10±0
1%	1±0,81	2,33±1,41	5±2,16	7±1,68	10±0
2%	1,33±0,47	3±1,41	5,33±2,16	8,67±0,94	10±0
Temephos	8,33±0,47	9,33±0,47	10±0	10±0	10±0

Berdasarkan tabel diatas, selajutnya dibuat grafik antara log konsentrasi sebagai sumbu (X) dan nilai probit sebagai sumbu (Y). Grafik hubungan antara log konsentrasi dan nilai probit kematian larva *Culex sp* dari ekstrak dan fraksi buah leunca dapat dilihat pada

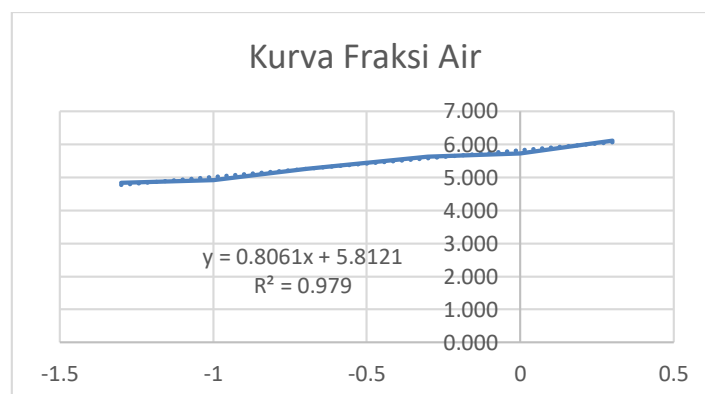


Gambar 1. Grafik pengamatan larva mati

Berdasarkan persamaan garis lurus dari grafik diatas $y=a+bx$, selanjutnya dilakukan penentuan nilai LC50 dari ekstrak buah leunca terhadap larva nyamuk dengan nilai y-5 diperoleh dari tabel probit 50% yang tertera dapat memberikan nilai 5



Gambar 2. Aktivitas ekstrak buah leunca sebagai larvasida



Gambar 3. Aktivitas fraksi air buah leunca sebagai larvasida

Nilai LC50 adalah konsentrasi senyawa zat yang dapat menyebabkan kematian pada 50% hewan uji. Penggunaan larvasida dikatakan efektif apabila dapat mematikan >70% larva uji. Berdasarkan tabel diatas dapat dikatakan bahwa ekstrak buah leunca aktif sebagai larvasida. Hal ini ditandai pada konsentrasi 0,5% sudah dapat memberikan efek kematian sebesar 80% kepada

hewan uji. Sedangkan untuk fraksi air tidak efektif sebagai larvasida. Hal ini ditandai melebihi persyaratan yaitu >0,075%

Hasil LC50 (*Lethal Concentration*) yang diperoleh adalah ekstrak buah leunca 0,0035% dan untuk fraksi air 0,983%. Semakin besar nilai LC50 menunjukkan bahwa senyawa tersebut semakin tidak memberikan efek toksik. Dari hasil LC50 yang diperoleh, dapat dikatakan bahwa ekstrak buah leunca memiliki toksisitas kriteria “Aktif” terhadap hewan uji. Hal ini sesuai dengan nilai toksisitas dalam klasifikasi aktivitas biolarvasida bahwa toksisitas akut yang dikatakan aktif berada pada rentang <0,005%, cukup aktif 0,005=0,1% efektif 0,1- 0,75%, tidak aktif >0,075%. [11]

D. Kesimpulan

Efektivitas dari ekstrak buah leunca (*Solanum nigrum*.L) terhadap larva *Culex* sp aktif ditandai dengan memperoleh nilai LC50 0,0035%, pada konsentrasi 0,5 %, sedangkan fraksi air buah leunca efektivitas terhadap larva *Culex* sp tidak efektif karena mendapatkan LC50 0,983%.

Acknowledge

Terima kasih kepada dosen pembimbing, laboran, dan teman-teman sebangkungan dan sepenelitian yang telah membantu penelitian ini, serta kepada dosen wali dan dosen pengajar Prodi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Bandung.

Daftar Pustaka

- [1] Just Eman, G. B. (2016). SURVEI NYAMUK CULEX SPP DI DAERAH PERUMAHAN SEKITAR PELABUHAN BITUNG. *Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi Manado*, B., Kunci, K., & spp, C., (Vol. 1, Issue 1).
- [2] Kemenkes. (2016). Pusat Data dan informasi kementerian kesehatan RI.
- [3] Lestari, M. &. (2014). Uji Aktivitas Ekstrak Metanol dan n-Heksan Daun Buas-Buas (*Premna serratifolia* Linn.) pada Larva Nyamuk Demam Berdarah (*Aedes aegypti* Linn.). (Vol. 3, Issue 2)
- [4] Kandita, d. (2015). UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK BUAH LEUNCA (*SOLANUM NIGRUM* L.) SEBAGAI INSEKTISIDA TERHADAP NYAMUK AEDES AEGYPTI DAN ANOPHELES ACONITUS. Vol 7, no 2.
- [5] WHO. (2005). Guidelines For Laboratory and Field Testing Of Mosquito Larvicides. *Geneva*.
- [6] Yamin, M. (2017). Lama Pengeringan Terhadap Aktivitas Antioksidan dan Mutu Teh Herbal Daun Ketepeng Cina (*Cassia alata*.L). *Jom Faperta*, VOL 4.No.2 Hal 9-12.
- [7] Ardyanti, L. S. (2020). Pengaruh Ukuran Partikel dan Lama Maserasi terhadap Karakteristik Ekstrak Virgin Coconut Oil Wortel (*Daucus carota* L.) sebagai Pewarna Alami. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, Vol. 8, No. 3, 423-434.
- [8] Ergina, S. N. (2014). Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder Pada Daun Palado (*agave angustifolia*) YANG DIESKTRAKSI DENGAN PELARUT AIR DAN ETANOL. *J. Akad. Kim.* , 165-172.
- [9] BPOM. (2000). Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Jakarta. *Depkes RI.*, Hal 14-17,31.
- [10] Tabbabi, A. D. (2019). Evaluation of resistance to temephos insecticide in *Culex pipiens pipiens* larvae collected from three districts of Tunisia. . *African Health Sciences*, 19 (1) 1361-1367.
- [11] Ariani, N. F. (2020). Uji Aktivitas Ekstrak Etanolik Daun Kemangi (*Ocimum tenuiflorum* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* secara In Vitro. *Jurnal Pharmascience.*, 7(1), 107-115.