

Efek Mortalitas Nanopartikel Ekstrak Daun Jeruk Bali (*Citrus maxima*) Terhadap Larva Nyamuk *Culex quinquefasciatus* Penyebab Filariasis

Naela Nazid Khusna, Wirasti, St. Rahmatullah
Fakultas Ilmu Kesehatan
Universitas Muhammadiyah Pekajangan Pekalongan
Jln. Raya Ambokembang No. 08 Kedungwuni Pekalongan Jawa Tengah Indonesia
Email : naelanazid22@gmail.com

Abstrak : Daun jeruk bali (*Citrus maxima*) mengandung metabolit sekunder yang dapat berpotensi sebagai larvasida alami. Ekstrak dibuat dalam bentuk nanopartikel digunakan untuk meningkatkan proses kelarutan, absorpsi dan distribusi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi efek mortalitas ekstrak daun jeruk bali dan nanopartikel ekstrak daun jeruk bali (*Citrus maxima*) terhadap larva *Culex quinquefasciatus*. Metode yang digunakan adalah eksperimental *Post test-only control group design* dengan pemilihan sampel secara RAL (Rancangan Acak Lengkap). Sampel yang digunakan pada penelitian ini sebanyak 680 larva *Culex quinquefasciatus* instar III dilakukan 4 kali replikasi dengan konsentrasi 240; 360; 480 dan 600 µg/mL dan kontrol positif yaitu abate (temephos). Data diperoleh dari menghitung jumlah mortalitas larva selama 24 jam setelah perlakuan. Data yang dihasilkan dianalisis menggunakan perhitungan probit untuk mengetahui nilai LC_{50} . Nilai LC_{50} pada ekstrak daun jeruk bali (*Citrus maxima*) sebesar 503 µg/mL sedangkan LC_{50} pada ekstrak daun jeruk bali (*Citrus maxima*) sebesar 208 µg/mL hal ini menunjukkan berarti bahwa nanopartikel ekstrak daun jeruk bali lebih berpotensi sebagai larvasida alami. Hasil uji statistic diperoleh nilai sebesar $\alpha=0,000$ menunjukkan bahwa terdapat perbedaan efek mortalitas antara nanopartikel ekstrak daun jeruk bali (*Citrus maxima*) dan ekstrak daun jeruk bali (*Citrus maxima*).

Kata kunci : Daun Jeruk Bali (*Citrus maxima*), nanopartikel, Larva Nyamuk *Culex quinquefasciatus*, Analisis Probit.

1. PENDAHULUAN

Indonesia termasuk negara tropis yang paling besar di dunia yang menyebabkan berbagai penyakit tropis salah satunya kasus filariasis. Faktor utama penyebab penyakit filariasis yaitu adanya penyebaran dan perkembangbiakan nyamuk *Culex quinquefasciatus* sebagai vektor penyakit.

Pengendalian vektor nyamuk yang paling efektif dilakukan yaitu dengan membasmi larva nyamuk. Larvasida kimia yang digunakan adalah abate. Larvasida kimia menimbulkan dampak negatif antara lain menimbulkan resistensi untuk generasi berikutnya, kematian predator, pencemaran lingkungan dan dapat menyebabkan kanker

(Panghiyangani,2012). Perlu dilakukan upaya untuk mengurangi dampak negatif dari penggunaan insektisida kimia yaitu menggunakan insektisida alami. insektisida alami dapat digunakan sebagai alternatif pengendalian vektor terutama larva nyamuk (Ardianto, 2018).

Daun jeruk mengandung senyawa kimia yang merupakan metabolit sekunder seperti alkaloid, minyak atsiri, flavonoid, saponin, dan triterpenoid (Prakash, 2013). Senyawa metabolit sekunder bekerja sebagai racun kontak maupun racun perut pada larva nyamuk. Larvasida alami dibuat dalam bentuk ukuran nano dapat memperbaiki kelarutan senyawa kimia sehingga lebih mudah menyebar dalam darah dan menyebabkan efek kematian pada larva nyamuk.

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui spesies Citrus tertentu memiliki senyawa efektif yang berpotensi sebagai larvasida alami. Tujuan dari penelitian ini untuk melihat sampel spesies jeruk yang paling efektif sebagai larvasida alami *Culex quinquefasciatus* dengan menentukan nilai letal konsentrasi 50% (LC₅₀). Diharapkan nanopartikel ekstrak daun jeruk bali (*Citrus maxima*) menjadi salah satu alternatif larvasida alami yang lebih aman.

2. METODOLOGI PENELITIAN

2.1 Determinasi

Determinasi tanaman daun jeruk bali (*Citrus maxima*) dilakukan untuk mengetahui keaslian identitas tanaman dan untuk mengurangi kesalahan dalam pengambilan sampel yang akan digunakan.

2.2 Penyiapan bahan uji

Sampel daun jeruk bali (*Citrus maxima*) diperoleh dari Desa Bligo Rejo Kecamatan Doro Kabupaten Pekalongan. Daun dipetik dan dilakukan pencucian. Setelah itu dikeringkan dan dihaluskan hingga menjadi serbuk. Ayak serbuk menggunakan ayakan 40 mesh.

2.3 Pembuatan ekstrak

Serbuk daun jeruk bali sebanyak 500 g (*Citrus maxima*) diekstraksi dengan metode maserasi. Pelarut yang digunakan adalah etanol 96%. Ambil filtrat dengan cara penyaringan menggunakan kain flanel. Filtrat yang diperoleh diuapkan menggunakan *vacuum rotary evaporator*. Setelah itu, masukkan kedalam oven sampai diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental disimpan didalam lemari pendingin dan terhindar dari cahaya matahari langsung.

2.4 Skrining fitokimia

Skrining fitokimia meliputi identifikasi kandungan senyawa kimia pada ekstrak diantaranya flavonoid, steroid, alkaloid, minyak atsiri (limonen).

2.5 Pembuatan larutan induk

Larutan induk dibuat dengan konsentrasi konsentrasi 100 mg/mL kemudian ditetapkan masing-masing konsentrasi dan perulangannya.

2.6 Pembuatan larutan uji nanopartikel

Sebanyak 480, 720, 960 dan 1200 mg ekstrak daun jeruk bali (*Citrus maxima*) masing-masing dilarutkan dalam 10 mL etanol p.a. larutan disaring menggunakan membran filter. Ambil 5 mL tiap konsentrasi dimasukkan kedalam beaker glass yang berisi 100 mL larutan kitosan 0,08% . tambahkan 1 mL tween 80 aduk menggunakan *homogenizer* dengan kecepatan 3000 rpm. Tambahkan 20 mL larutan NaTPP 0,1% aduk menggunakan homogenizer dengan kecepatan 4000 rpm(Kumowal, 2019).

2.7 Karakteristik nanopartikel ekstrak daun jeruk bali

Dilakukan karakteristik nanopartikel berupa Particle Size Analyze (PSA). Pengukuran PSA bertujuan untuk mengetahui ukuran dan distribusi partikel. Parameter dari *Particle Size Analyzer* (PSA) adalah indeks polidispersitas yang menyatakan bahwa rentang nilai distribusi ukuran partikel dari sistem nanopartikel berkisar 0-1 (Asfari, 2015).

2.8 Penyiapan larva nyamuk *Culex quinquefasciatus*

Larva nyamuk *culexquinquefasciatus* yang digunakan diperoleh dari alam yaitu dari selokan di Kelurahan Banyurip Kecamatan Pekalongan Selatan Kota Pekalongan. Sampel uji diletakkan pada nampan plastik, kemudian diambil larva berdasarkan kriteria instar III yaitu memiliki ukuran 4 – 5 mm dan ciri morfologi pada bagian dada terdapat duri, corong pernafasan berwarna coklat kehitaman (Kaihena, 2011). Masukkan 20 larva nyamuk kedalam gelas plastik yang telah berisi larutan uji dengan volume akhir 100 mL.

2.9 Pengujian larva nyamuk *Culex quinquefasciatus*

Pada pengujian ini, larutan uji ekstrak dan larutan uji nanopartikel daun jeruk bali dengan konsentrasi 0, 240µg/mL, 360µg/mL, 480µg/mL, 600µg/mL dimasukkan kedalam tiap wadah dengan volume akhir 100 mL. Digunakan dua perlakuan kontrol yaitu kontrol negatif berisi aquades dan kontrol positif berupa abate. Pada masing-masing wadah plastik yang telah berisi larutan uji dimasukkan 20 ekor larva nyamuk *Culex quinquefasciatus* instar III (WHO, 2005). Hitung jumlah larva yang mati setelah 24 jam diberi perlakuan. Dilakukan 4 kali perulangan dengan interval waktu

15', 30', 45', 60', 120' dan 24 jam. Pengamatan kematian larva nyamuk dilakukan secara fisiologis dan biologis.

2.10 Analisis data

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan analisis probit untuk mengetahui nilai LC_{50} kemudian diuji statistik *one-way ANOVA*.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Determinasi

Hasil determinasi menunjukkan bahwa sampel yang diuji termasuk spesies *Citrus maxima*. Determinasi tanaman dilakukan untuk memastikan bahwa sampel yang digunakan adalah daun jeruk bali.

3.2 Pembuatan simplisia

diperoleh serbuk simplisia sebanyak 1,5 kg dari 5 kg daun basah. Dihasilkan randemen simplisia sebanyak 30%.

3.3 Ekstraksi simplisia

Simplisia daun jeruk bali (*Citrus maxima*) diekstraksi menggunakan maserasi karena prosesnya sederhana dan tidak melalui proses pemanasan (Ramdhini, 2010). Digunakan pelarut etanol 96% karena etanol bersifat polar sehingga diharapkan mampu menarik senyawa metabolit sekunder yang terkandung didalam ekstrak daun jeruk bali (*Citrus maxima*) (Sitepu, 2010). Ekstrak kental yang dihasilkan dari 500 gr serbuk simplisia daun jeruk bali (*Citrus maxima*) sebanyak 48,65 gr dan dihasilkan presentase rendemen ekstrak daun jeruk bali (*Citrus maxima*) sebanyak 9,7%. Randemen ekstrak dilakukan karena untuk mengetahui berapa kandungan senyawa aktif yang terkandung didalam ekstrak daun jeruk bali (*Citrus maxima*).

3.4 Skrining fitokimia

Tabel 3.1 Skrining Fitokimia

Metabolit sekunder	Hasil
Alkaloid	
- Pereaksi dragendorff	+
- Pereaksi mayer	+
Flavonoid	+
Steroid	+
Minyak atsiri	+
Saponin	-

Hasil uji kualitatif menunjukkan bahwa ekstrak daun jeruk bali (*Citrus maxima*) memiliki senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid, flavonoid, steroid, dan minyak atsiri (limonen).

3.5 Pembuatan nanopartikel ekstrak daun jeruk bali

Pembuatan nanopartikel ekstrak daun jeruk bali (*Citrus maxima*) dilakukan berdasarkan metode gelasi ionik karena tidak menggunakan pelarut organik, mudah diamati dan pembuatan yang sederhana. Mekanisme kerja pada pembentukan partikel terjadi karena adanya interaksi ionik antara gugus amino yang bermuatan positif pada kitosan dengan polianion yang bermuatan negatif pada NaTPP membentuk struktur jaringan dan intramolekul tiga dimensi.

Proses pembuatan nanopartikel ekstrak daun jeruk bali (*Citrus maxima*) dilakukandengan cara mencampurkan campuran kitosan dengan NaTPP. Menurut Rowe, dkk, (2009) kitosan mudah larut dalam larutan asam oleh karena itu, kitosan dilarutkan menggunakan asam asetat dan diaduk menggunakan *magnetic stirrer*. Penggunaan asam asetat dimaksudkan untuk mengubah muatan positif pada gugus amina ($-NH_2$) menjadi terionisasi positif ($-NH_3^+$). Kitosan yang bermuatan positif dapat berinteraksi ionik dengan senyawa yang bermuatan negatif. Kitosan yang terbentuk secara keseluruhan akan menyisakan gugus amonium yang bebas sehingga menyebabkan saling tolak menolak dan tidak stabil (Azzahra, 2018).

Untuk menstabilkan muatan positif yang tersisa, maka perlu adanya suatu senyawa yang digunakan sebagai pengikat silang dengan kitosan (*crosslinker*). Pengikat silang yang digunakan berupa poli-anion yaitu anion Natrium tripolifosfat (NaTPP) (Azzahra, 2018). Natrium tripolifosfat digunakan sebagai pengikat silang dengan kitosan karena sifatnya anion multivalen yang dapat membentuk ikatan sambung silang sehingga diperoleh larutan yang stabil dan mempunyai kekuatan penembusan membran. Menurut penelitian Yu Shin, (dalam Azzahra, 2018) NaTPP berperan sebagai anion multivalen yang dapat membentuk ikatan sambung silang (*crosslink*) dengan kitosan yang bermuatan positif.

Digunakan perbandingan konsentrasi antara kitosan 0,08% dengan natrium tripolifosfat 0,1% menghasilkan ukuran partikel 208,3 nm. Menurut penelitian Napsah, (2014) bahwa hasil penggunaan konsentrasi natrium tripolifosfat yang lebih kecil akan menghasilkan ukuran partikel yang semakin kecil. Sedangkan semakin besar konsentrasi kitosan akan menyebabkan partikel berukuran mikro yang dapat

ditandai dengan larutan keruh membentuk endapan bergerombol dan membentuk agregat (Azzahra, 2018).

Penambahan tween 80 berfungsi sebagai penstabil dalam larutan sehingga mencegah terjadinya penggumpalan (Umawiranda, 2014). Campuran larutan diaduk menggunakan *homogenizer* dengan kecepatan yang semakin tinggi. Pada proses pencampuran, semakin besar kecepatan yang digunakan maka ukuran partikel yang dihasilkan semakin kecil (Kumowal, 2019).

3.6 Hasil karakteristik nanopartikel ekstrak daun jeruk bali

Hasil pengukuran distribusi ukuran partikel menggunakan PSA (Particel Size Analyze) dapat dilihat pada tabel 3.2

Tabel 3.2 Hasil PSA

karakteristik	Hasil
Ukuran partikel	208,3 nm
Polidispersity Index	0,267

Dokumen Pribadi, 2020

Berdasarkan tabel 3.2, ukuran partikel yang dihasilkan sebesar 208,3 nm dan nilai polidispersity index sebesar 0,267. Hal ini menunjukkan bahwa ukuran partikel dan indeks polidispersitas memenuhi spesifikasi. Menurut Mohanraj dan Chen, (2006) bahwa rentang ukuran nanopartikel antara 10-1000 nm.

Rentang indeks polidispersitas yaitu antara 0 sampai dengan 1. Apabila diperoleh nilai indeks polidispersitas mendekati 0 menunjukkan bahwa distribusi partikel yang homogen. Hasil indeks polidispersitas yang diperoleh sebesar 0,267 sehingga dapat dikatakan bahwa nanopartikel ekstrak daun jeruk bali (*Citrus maxima*) menunjukkan distribusi partikel homogen (Taurina, *dkk.*, 2017).

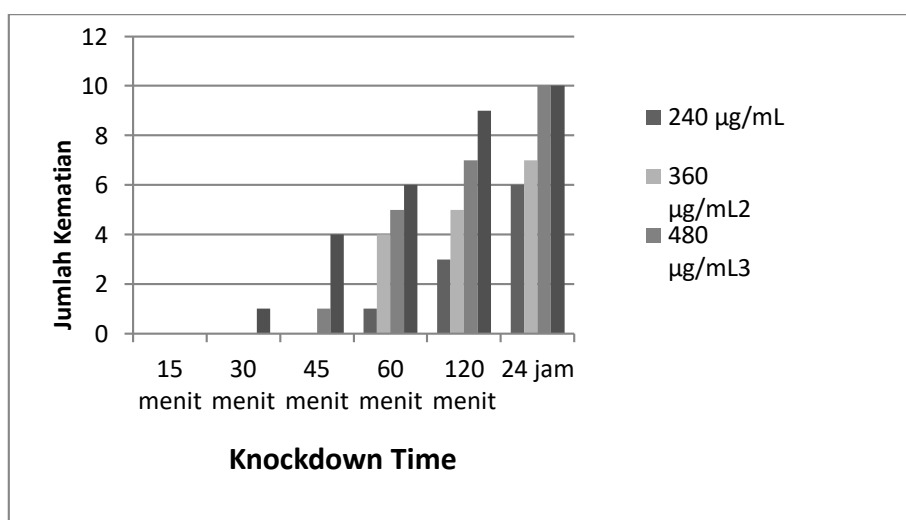
3.7 Pengujian larva nyamuk *Culex quinquefasciatus*

Larva nyamuk yang digunakan berasal dari observasi larva dilapangan yaitu pada genangan air kotor di daerah endemis filariasis Kelurahan Banyurip Kecamatan Pekalongan Selatan Kota Pekalongan (Shidqon, 2016). Digunakan larva yang diasumsikan instar III yaitu larva yang memiliki ciri morfologi pada bagian dada terdapat duri, corong pernafasan berwarna coklat kehitaman dan memiliki ukuran 4 – 5 mm (Kaihena, 2011). Digunakan larva nyamuk instar III karena pada instar III memiliki sistem pertahanan yang lebih kuat dari instar I dan II (Ahdiyah, 2015). Berdasarkan standart WHO larva instar III memiliki ukuran yang lebih panjang dari

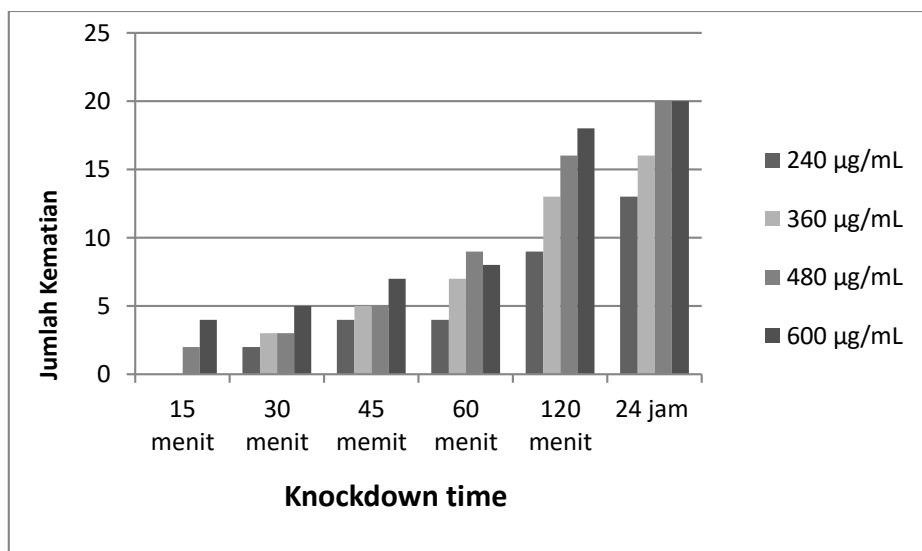
instar I dan II sehingga memiliki ketahanan terhadap guncangan ataupun pemindahan tempat serta membutuhkan waktu yang lama untuk menjadi nyamuk dewasa. Apabila digunakan larva instar IV dikhawatirkan larva tidak mengalami kematian karena fase larva akan berubah menjadi pupa. Pada fase pupa tidak membutuhkan makanan ataupun nutrisi (Wijayanti, 2015).

Keadaan larva yang diambil langsung dari alam lebih kuat karena larva yang berada di alam resisten terhadap larvasida sehingga mempengaruhi kerentanan hidup. kerentanan hidup terjadi karena keragaman faktor resiko penyebab resistensi. Hal ini dibuktikan pada saat melakukan uji, terlihat pada tiap konsentrasi terjadi keragaman waktu kematian larva.

Pada penelitian Ardianto, (2018) konsentrasi 500 ppm dapat membunuh 90% larva nyamuk *Culex quinquefasciatus* instar III. Hal ini sejalan dengan penelitian Yuliasih, (2017) pada konsentrasi 200 ppm dihasilkan kematian sebesar 85% . Konsentrasi yang digunakan pada penelitian ini yaitu 240, 360, 480, dan 600 $\mu\text{g/mL}$. Uji larvasida dilakukan dengan menguji larutan ekstrak dan larutan nanopartikel ekstrak daun jeruk bali menggunakan larva nyamuk *Culex quinquefasciatus* instar III. Larutan ekstrak yang telah dibuat dimasukkan 100 ml ke dalam gelas plastik transparan dan diisi 20 ekor larva nyamuk (WHO, 2005). Selama pengujian berlangsung suhu ruangan diukur untuk mengetahui kondisi lingkungan masih dalam batas normal atau tidak. Tercatat suhu ruangan pada saat pengujian yaitu 27°C.



Gambar 3.1 Grafik Kematian Larva *Culex quinquefasciatus* Pada Perlakuan Ekstrak Daun Jeruk Bali(*Citrus maxima*)



Gambar 3.2 Jumlah Larva Knockdown (Pingsan) Dan Kematian Larva *Culex quinquefasciatus* Pada Perlakuan Nanopartikel Ekstrak Daun Jeruk Bali (*Citrus maxima*)

Semakin tinggi konsentrasi dan semakin lama waktu yang digunakan maka semakin tinggi juga angka kematian larva (Chania, 2013). Insektisida dapat membunuh larva sangat bergantung pada bentuk, cara masuk ke dalam tubuh, konsentrasi dan jumlah dosis yang digunakan.

Tabel 3.3 perbandingan LC_{50} Larva *Culex quinquefasciatus*

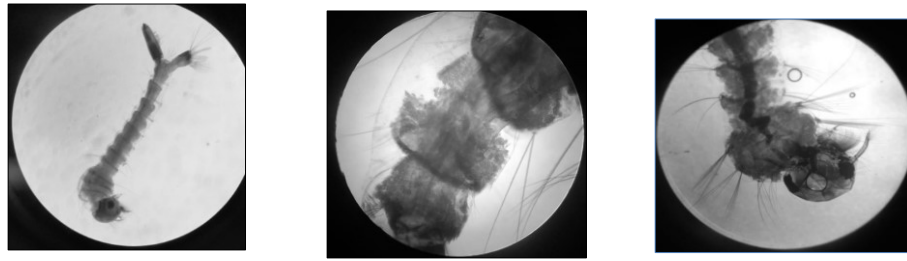
Sampel	LC_{50} ($\mu\text{g/ml}$) $\pm$ SD
Ekstak	$503 \pm 2,645751$
Nanopartikel ekstrak	208 ± 5

Dokumen Pribadi, 2020

Berdasarkan tabel 3.5, hasil nilai rata-rata LC_{50} nanopartikel ekstrak = 503 lebih besar dari LC_{50} ekstrak = 208. Dapat diketahui bahwa larutan uji nanopartikel lebih efektif dibandingkan dengan larutan uji ekstrak dikarenakan pada larutan nanopartikel ekstrak daun jeruk bali (*Citrus maxima*) memiliki ukuran dalam bentuk nanometer. Hal ini sesuai dengan penelitian Handayani, (2020) tentang nanolarvasida ekstrak daun tembakau, pada konsentrasi 1,153 ppm dapat membunuh 50% larva nyamuk *Aedes aegypti*. Kematian 90% terdapat pada konsentrasi 1,719 ppm.

Kematian larva nyamuk *Culex quinquefasciatus* disebabkan karena kandungan senyawa aktif metabolit sekunder. Hal ini sejalan dengan penelitian Ardianto, (2014)

bahwadaun jeruk bali (*Citrus maxima*) mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, steroid, minyak atsiri limonoid yang berpotensi toksik terhadap serangga.



Gambar 3.3 Kematian larva dibawah mikroskop perbesaran 5x

Senyawa steroid menyebabkan kematian larva dengan mempengaruhi proses pergantian kulit. Senyawa alkaloid mempengaruhi perkembangan sel maupun jaringan. Senyawa alkaloid juga menjadi racun perut pada larva nyamuk dengan merusak saluran pencernaan merusak sel pada pencernaan sehingga larva mengalami kematian. Mekanisme kerja flavonoid dengan cara masuk kedalam tubuh larva melalui sistem pernafasan dan menyebabkan kelayuan pada syaraf serta merusak sistem pernafasan sehingga menyebabkan kematian. Minyak atsiri golongan limonoid dalam jeruk dapat menyebabkan hilangnya koordinasi organ larva *Culex quinquefasciatus* (Ardianto, 2016). Cara kerja limonoid masuk kedalam tubuh larva melalui rendaman konsentrasi ekstrak sehingga masuk kedalam pencernaan. Dinding usus menyerap larutan ekstrak yang akan beredar bersama dengan darah sehingga mempengaruhi metabolisme tubuh larva sehingga terjadi reaksi kejang dan mati (Ardianto, 2016).

Keadaan larva *Culex quinquefasciatus* setelah pemberian ekstrak yaitu terjadi reaksi kejang-kejang, tubuh larva menjadi lebih transparan, garis letal hitam pada abdomen hilang, gerakan larva melambat jika diberi rangsangan sentuhan dan selalu membelokkan tubuhnya, kepala larva hampir terlepas semakin lama menyebabkan kematian. Perbedaan kematian pada masing-masing konsentrasi dianalisis menggunakan statistik uji *one-way ANOVA*. Syarat untuk melakukan uji *one-way ANOVA* yaitu harus diperoleh data yang berdistribusi normal serta data yang homogen. Pada penelitian ini, hasil data yang diperoleh terdistribusi normal dan homogen karena nilai signifikan $>0,05$. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak dan nanopartikel daun jeruk bali memiliki perbedaan yang bermakna.

4. KESIMPULAN

Dapat disimpulkan bahwa nilai LC_{50} nanopartikel ekstrak daun jeruk bali (*Citrus maxima*) sebesar 208 $\mu\text{g/mL}$ sedangkan LC_{50} ekstrak daun jeruk bali (*Citrus maxima*) sebesar 503 nm. Terdapat perbedaan ekstrak daun jeruk bali (*Citrus maxima*) dan nanopartikel ekstrak daun jeruk bali (*Citrus maxima*) secara uji statistic *one-way ANOVA* diperoleh perbedaan efek mortalitas ekstrak dan nanopartikel ekstrak daun jeruk bali (*Citrus maxima*) yaitu dengan nilai sebesar $\alpha = 0,000$.

5. SARAN

Nanopartikel ekstrak daun jeruk bali (*Citrus maxima*) dibuat sediaan serbuk untuk membunuh larva nyamuk.

DAFTAR PUSTAKA

- Adrianto H, Arif Nur Muhammad Ansori , dan Hamidah. 2018. Potensi Larvasida dari Ekstrak Daun Jeruk Bali (*Citrus maxima*) terhadap dan *Aedes aegypti* *Culex quinquefasciatus*. *Jurnal Vektor Penyakit*. **Vol. 12 No. 1** : 1 – 24.
- Adrianto H, Subagyo Yotopranoto, Hamidah. 2014. Efektivitas Ekstrak Daun Jeruk Purut (*Citrus Hystrix*), Jeruk Limau (*Citrus Amblycarpa*), Dan Jeruk Bali (*Citrus Maxima*) Terhadap Larva *Aedes Aegypti*. *Aspirator*. **Vol. 6. No. 1**:1-6.
- Ahdiyah, Ifa. 2015. Pengaruh Ekstrak Daun Mangkogan (*Nothopanax Scutellarium*) Sebagai Larvasida Nyamuk *Culex* Sp. Skripsi. Jurusan Biologi Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Teknologi Sepuluh Nopember.
- Asfari, Subhan. 2015. *Preparasi dan Karakteristik Nanopartikel Zink Pektinat Mengandung Diltiazem Hidroksida Dengan Metode Gelasi Ionik*. Skripsi. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Program Studi Farmasi. UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Azzahra, Atika., 2018. *Pembuatan dan Karakteristik Nanopartikel Ekstrak Etanol Daun Bangun-Bangun (*Plectranthus ambonicus* (Lour.) Spreng)*. Skripsi. Fakultas Farmasi Universitas Sumatra Utara. Medan.
- Cania, E. dan Endah Setyaningrum. 2013. Uji Efektivitas Larvasida Ekstrak Daun Legundi (*Vitex trifolia*) terhadap Larva *Aedes aegypti*. *Medical Journal of Lampung University*. **Vol. 2, No. 4**: 52-60.
- Kaihena, Martha., Vika Laliatu., Maria Nindatu. 2011. Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Sirih (*Piper Betle* L.) Terhadap Mortalitas Larva Nyamuk *Anopheles* Sp Dan *Culex*, *Molucca Medica*. *Universitas Pattimura Ambon* .**Volume 4 No. 1** : 88-105

- Kumowal, Selphiana, Fatimawati, Imam Jayanto. 2019. Uji Aktivitas Antibakteri Nanopartikel Ekstrak Lengkuas Putih (*Alpinia galanga* (L.) Willd) Terhadap Bakteri *Klebsiella pneumoniae*. *Pharmakon Jurnal Ilmiah Farmasi-UNSRAT* **Vol.8 No. 4**:256-266
- Napsah, R., dan Wahyuningsih, I., 2013. Preparasi Nanopartikel Kitosan-TPP Ekstrak Etanol Daging Buah Mahkota Dewa (*Phaleriamarcocarpa*(Scheff) Boerl) dengan Metode Gelasi Ionik. *Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas*. **Vol. 11 No. 1** : 7-12
- Panghiyangani R, Marlinae L, Yuliana, Fauzi, Noor D, Anggriyani. 2012. Larvaside Effect of Tumeric Rhizome Extract (*Curcuma domestica*) on Dengue Fever and Dengue Hemorrhagic Fever *Aedes aegypti* in Banjarbaru. *Jurnal Epidemiologi dan Penyakit Bersumber Binatang*. **Vol. 4 No. 1** : 1-6.
- Prakash, U., Bhuvameswari, S., Balamurgan, A., Deepa, S., Aishwarya, H., Manasveni, Sahana , S., 2013. Studies on Bio Activity and Phytochemistry of Leaves of Common Trees. *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences*. **Vol. 4 No. 3**: 476-481.
- Ramdhini, Rizki Nisfi. 2010. *Uji Toksisitas Terhadap Artemia salina Leach dan Toksisitas Akut Komponen Bioaktif Pandanus conoideus var. Conoideus Lam. Sebagai Kandidat Antikanker*. Skripsi. Surakarta: Jurusan Biologi Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret.
- Sitepu, Joice Sola Gratia. 2010. *Pengaruh Variasi Metode Ekstraksi Secara Maserasi dan dengan Alat Soxhlet terhadap Kandungan Kurkuminoid dan Minyak Atsiri Dalam Ekstrak Etanolik Kunyit (Curcuma domestica Val.)*. skripsi. Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma Yogyakarta
- Umawiranda, P.F dan Sari Edi Cahyaningrum. 2014. Enkapsulasi Pirazinamid Menggunakan Alginat Dan Kitosan , *UNESA Journal of Chemistry*, **Vol 3 No. 3**: 146-153.
- Wijayanti, Merry Putri., Sri Yuliawati, Retno Hestningsih. 2015. Uji Toksisitas Ekstrak Daun Tembakau (*Nicotiana Tobacum L.*) Dengan Metode Maserasi Terhadap Mortalitas Larva *Culex quinquefasciatus* Say. Di Laboratorium. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*. **Vol. 3 No. 1**. Universitas Diponegoro.
- World Health Organization. 2005. *Guidelines For Laboratory And Field Testing Of Mosquito Larvicides*. Geneva.
- Yuliasih, Y., Mutiara Widawati. 2017. Aktivitas LarvasidaBerbagai Pelarut pada Ekstrak Biji Kayu Besi Pantai (*Pongamia pinnata*) terhadap Mortalitas Larva *Aedes spp.* *J.Balaba*. **Vol. 13 No. 2** : 125-132