

**UJI TOKSISITAS EKSTRAK DAUN TEMBAKAU (*Nicotiana tabacum* L.)
DENGAN METODE MASERASI TERHADAP MORTALITAS LARVA
Culex quinquefasciatus Say. DI LABORATORIUM**

Merry Putri Wijayanti*), Sri Yuliawati**), Retno Hestningsih**)

*)Mahasiswa Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Diponegoro, **)Dosen
Koresponden : merryputri19@gmail.com

ABSTRACT

Culex quinquefasciatus Say. is the main vectors in the transmission of filariasis disease in Indonesia. The use of plant-based insecticide is an alternative to reduce the negative impact of chemical insecticides. One of them is by using tobacco leaf extract. The purpose of this study was to determine the deadly power of tobacco leaf extract (*Nicotiana tabacum* L.) on mortality of larvae *Culex quinquefasciatus* Say. The type of this research is an experimental research with Posttest Only Control Group Design. The parameters observed are mortality of LC_{50} and LC_{90} larvae *Culex quinquefasciatus* Say. by using probit regression analysis. The population were all larvae *Culex quinquefasciatus* Say. instar III. The data analysis technique is by using One-Way Anova testing followed by the Games-Howell test. The results of this study indicate that LC_{50} and LC_{90} concentrations of tobacco leaf extracts are 0.058% and 0.095%. Based on One-Way Anova test is known that p value = 0.001 ($p < 0.05$). Games-Howell test results shows that the concentrations of 0.031%, 0.066%, and 0.095% have significant differences in the average mortality of larvae due to having a different letter notation. From this research results, it can be concluded that the tobacco leaves extract (*Nicotiana tabacum* L.) has a deadly power to larvae *Culex quinquefasciatus* Say. as larvicides. However, the need for further research regarding the killing power of tobacco leaf extract in the ratio of the amount of time the extract.

Keywords: toxicity, tobacco, *Culex quinquefasciatus* Say.

PENDAHULUAN

Nyamuk merupakan salah satu vektor yang bertanggung jawab dalam menularkan berbagai jenis penyakit yang disebabkan oleh parasit atau virus, terutama di daerah tropis dan daerah subtropics.¹ Genus nyamuk yang paling banyak ditemukan yaitu *Aedes*, *Anopheles*, dan *Culex*.² Nyamuk genus *Culex* termasuk serangga yang beberapa spesiesnya sudah dibuktikan sebagai vektor penyakit. Vektor penyakit filariasis diantaranya *Culex quinquefasciatus* dan *Culex bitaeniorrhynchus*. Sedangkan di Kansas, California, dan Amerika Tengah bahwa nyamuk

Culex quinquefasciatus merupakan vektor penyakit *West Nile Virus*.³ Hampir seluruh wilayah Indonesia adalah daerah endemis filariasis, terutama wilayah Indonesia Timur yang memiliki prevalensi lebih tinggi. Sejak tahun 2000 hingga 2009 di laporkan kasus kronis fiariasis dilaporkan sebanyak 11.914 kasus yang tersebar di 401 kabupaten dan kota.⁴ Meskipun filariasis tidak menyebabkan kematian secara langsung, tetapi menyebabkan penderitaan dan kerugian yang tidak sedikit. Hal ini dikarenakan berkurangnya kemampuan kerja

seseorang dan cacat anggota tubuh.⁵

Pengendalian larva nyamuk yang sering dilakukan yaitu dengan menggunakan bahan kimia. Hal ini tentunya memberikan efek yang cepat terhadap kematian larva nyamuk, namun dampak negatif yang ditimbulkan yaitu terjadinya resistensi untuk generasi berikutnya, kematian predator, serta pencemaran lingkungan.⁶ Dampak negatif penggunaan insektisida kimia dapat dihindari dengan menggunakan insektisida nabati sebagai alternatif. Pemanfaatan tumbuhan yang mengandung zat pestisidik sebagai pengendalian vektor, salah satunya dengan tumbuhan tembakau.⁷

Nikotin adalah senyawa bioaktif kimia utama dari tanaman tembakau. Nikotin adalah racun kontak dan racun perut yang bekerja pada syaraf serangga dengan memblok reseptor (penerima) kholinergik asetilkolin.⁸

Ekstraksi daun tembakau dengan metode maserasi memiliki kelebihan yaitu peralatan yang digunakan sederhana dan bahan aktif dalam simplisia akan lebih banyak terlarut.⁹

Pemanfaatan tembakau sebagai insektisida telah digunakan pada berbagai jenis hama maupun vektor penular penyakit. Penelitian oleh Sutjipto Achmad Hadikusumo pada tahun 2007 terbukti bahwa ekstrak tembakau ampuh mematikan rayap kayu kering (*Cryptotermes cynocephalus* L.) pada bambu apus.¹⁰ Penelitian di India yang dilakukan oleh Abdul Rahuman pada tahun 2008 membuktikan bahwa ekstrak *Nicotiana tabacum* L. dengan metanol, aseton, klorofom, dan air panas ampuh membunuh 100% larva *Culex quinquefasciatus* Say. pada dosis 1000 ppm.¹¹

Penggunaan ekstrak daun tembakau sebagai larvasida, juga telah digunakan terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* yang dilakukan oleh Eka Kustiamah pada tahun 2010 bahwa konsentrasi 0,05% dan 0,025% mampu mematikan larva sebanyak 6,66%.¹²

Sejauh ini pengaruh daun tembakau (*Nicotiana tabacum* L.) yang diekstrak dengan pelarut etanol untuk larva nyamuk *Culex quinquefasciatus* Say. belum dilakukan. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai toksisitas daun tembakau yang diekstrak dengan etanol terhadap larva *Culex quinquefasciatus* Say. pada skala laboratorium.

MATERI DAN METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental skala laboratorium dengan menggunakan desain rancangan *Posttest Only Control Group Design* dengan 1 kontrol. Variable bebas dari penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak daun tembakau (*Nicotiana tabacum* L.) sebanyak 6 tingkatan (0,005%; 0,011%; 0,018%; 0,031%; 0,066%; 0,095%). Variable terikat dari penelitian ini adalah jumlah kematian larva *Culex quinquefasciatus* Say. variable pengganggu dalam penelitian ini adalah tempat hidup, kepadatan larva, volume air, umur larva, pH, dan suhu. Uji pendahuluan dilakukan dengan 9 perlakuan dan 1 kontrol dalam 3 replikasi. Adapun untuk uji anjutan dengan 6 perlakuan dan 1 kontrol dalam 4 replikasi. Adapun untuk setiap perlakuan dan replikasi membutuhkan 25 ekor larva, sehingga jumlah total sampel larva yang dibutuhkan adalah 1450 ekor

sampel larva. penelitian dilakukan dengan mengamati kematian larva

Culex quinquefasciatus Say. selama 48 jam.

HASIL

Pada penelitian ini pH dan suhu air serta suhu ruangan dan kelembaban tetap diukur untuk

mengetahui kondisi lingkungan saat pengamatan berlangsung.

Tabel 1 Kondisi lingkungan pH dan suhu air pada setiap konsentrasi ekstrak daun tembakau

Konsentrasi	Suhu Air		pH Air	
	Awal	Akhir	Awal	Akhir
0,005%	24.0	25.5	7.9	7.9
0,011%	24.0	25.5	7.9	7.9
0,018%	24.0	25.5	7.9	7.9
0,031%	24.0	25.5	7.9	7.9
0,066%	24.0	25.5	7.9	7.9
0,095%	24.0	25.5	7.9	7.9

Berdasarkan tabel 1 nilai pH air pada awal dan akhir pengamatan menunjukkan angka yang sama yaitu sebesar 7,9, sedangkan suhu air pada pengamatan awal dan akhir berada pada range 24-25,5.

Pengukuran suhu ruangan di awal dan akhir penelitian yaitu 26°C dan 29°C. Kelembapan udara di awal dan akhir penelitian menunjukkan angka 50% dan 60%

selama pengujian berlangsung. Hal ini memperlihatkan kondisi lingkungan yang diukur dan dicatat selama penelitian berlangsung masih dalam batas optimal untuk pertumbuhan larva, sehingga kematian larva *Culex quinquefasciatus* Say. hanya dipengaruhi oleh paparan ekstrak daun tembakau.

Tabel 2 Jumlah Rata-Rata Mortalitas Larva *Culex quinquefasciatus* Say. setelah terpapar Ekstrak Daun Tembakau

Konsentrasi	Replikasi	Kematian Larva Setelah Diberi Ekstrak Daun Tembakau							Rata-Rata Mortalitas	Persentase Mortalitas
		1 jam	2 jam	4 jam	6 jam	8 jam	24 jam	48 jam		
0,005%	R1	0	0	0	0	0	0	0	0	0%
	R2	0	0	0	0	0	0	0		
	R3	0	0	0	0	0	0	0		
	R4	0	0	0	0	0	0	0		
0,011%	R1	0	0	0	0	0	0	0	0	0%
	R2	0	0	0	0	0	0	0		
	R3	0	0	0	0	0	0	0		
	R4	0	0	0	0	0	0	0		
0,018%	R1	0	0	0	0	0	0	0	0	0%
	R2	0	0	0	0	0	0	0		
	R3	0	0	0	0	0	0	0		
	R4	0	0	0	0	0	0	0		
0,031%	R1	0	0	0	0	0	0	2	1,25	5%
	R2	0	0	0	0	0	0	0		
	R3	0	0	0	0	0	1	2		
	R4	0	0	0	0	0	1	1		
0,066%	R1	0	0	0	0	0	7	14	15,75	63%
	R2	0	0	0	0	0	8	16		
	R3	0	0	0	0	0	7	18		
	R4	0	0	0	0	0	7	15		
0,095%	R1	0	1	0	2	3	19	24	22,5	90%
	R2	0	0	0	0	1	15	23		
	R3	0	0	0	0	0	14	23		
	R4	0	1	0	1	2	9	20		
Kontrol	R1	0	0	0	0	0	0	0	0	0%
	R2	0	0	0	0	0	0	0		
	R3	0	0	0	0	0	0	0		
	R4	0	0	0	0	0	0	0		

Berdasarkan tabel 4.5 menunjukkan bahwa konsentrasi terendah yaitu 0,031% dengan rata-rata kematian 1,25 dan persentase kematian yaitu 5% serta konsentrasi tertinggi yaitu 0,095% dengan rata-rata kematian 22,5 dan persentase kematian sebesar 90%. Pengaruh

tingkatan konsentrasi ekstrak daun tembakau terhadap mortalitas larva pada uji lanjutan dimasukkan uji *One-Way Anova* dalam *General Linear Model* dengan *sum of squares type III*. Berdasarkan analisis *One-Way Anova* didapat bahwa nilai signifikan 0,0001 yang

berarti $p < 0,05$ konsentrasi ekstrak daun tembakau berpengaruh terhadap kematian larva. Hal ini menjelaskan bahwa H_0 ditolak, sehingga terdapat perbedaan

kematian larva *Culex quinquefasciatus* Say. pada berbagai tingkatan konsentrasi ekstrak daun tembakau.

Tabel 3 Hasil Uji Games-Howell Pengaruh Ekstrak Daun Tembakau terhadap Kematian Larva *Culex quinquefasciatus* Say.

Konsentrasi	Rata-Rata Kematian	Persentase Kematian
0.005	.000	0%
0.011	.000	0%
0.018	.000	0%
0.031	1.250 ^a	5%
0.066	15.750 ^b	63%
0.095	22.500 ^c	90%

Keterangan: huruf kecil yang mengikuti rata-rata kematian dengan uji Games-Howell menjelaskan significant pada $\alpha = 0,05$.

Hasil uji Games-Howell berdasarkan tabel 3 menunjukkan bahwa masing-masing konsentrasi ekstrak daun tembakau memiliki kemampuan yang berbeda dalam menyebabkan mortalitas terhadap larva *Culex quinquefasciatus* Say. dilihat dari

huruf kecil yang menyertai rata-rata (*mean*) dari setiap konsentrasi yang diujikan. Selanjutnya, hasil analisis regresi probit pengaruh konsentrasi ekstrak daun tembakau disajikan pada tabel 4.

Tabel 4 Uji Probit pengaruh konsentrasi ekstrak daun tembakau terhadap kematian larva *Culex quinquefasciatus* Say.

<i>Lethal Concentration</i>	Konsentrasi	95%CI C	
		Lower Bound	Upper Bound
LC ₅₀	0.058%	0.054	0.062
LC ₉₀	0.095%	0.087	0.106

Hasil analisis regresi probit pengaruh konsentrasi ekstrak daun tembakau terhadap kematian larva *Culex quinquefasciatus* Say. pada tabel 4 menunjukkan bahwa LC₅₀ dan LC₉₀ sebesar 0,058% dan 0,095%.

PEMBAHASAN

A. Kondisi Lingkungan

Hasil pengukuran suhu air selama penelitian ini mengalami kenaikan suhu pada akhir penelitian menjadi 25,5°C, dimana pada awal penelitian suhu air sebesar 24°C. Suhu air yang menunjukkan kisaran di bawah suhu optimal untuk kehidupan larva, namun kondisi

ini tidak berpengaruh terhadap kematian larva. Hal tersebut dibuktikan dengan hasil pengamatan pada kontrol yaitu larva bergerak aktif dan tidak mengalami kematian. Larva *Culex quinquefasciatus* Say. mampu hidup meskipun suhu air berada dibawah batas normal karena larva memiliki kemampuan bertahan hidup pada batas suhu 8⁰-37⁰C.¹³

Suhu ruangan pada penelitian ini juga mengalami peningkatan yaitu pada akhir penelitian sebesar 29⁰C, dimana pada awal penelitian sebesar 26⁰C. Terjadinya kenaikan suhu ruangan tidak mempengaruhi kematian larva, karena suhu ruangan masih dalam batas toleransi untuk kehidupan larva. Seperti yang diungkapkan oleh Rueda pada tahun 1990 dalam penelitiannya tentang pengaruh suhu dan tingkat kelangsungan hidup nyamuk *Culex quinquefasciatus* Say. dan *Aedes aegypti* bahwa larva *Culex quinquefasciatus* Say. tumbuh dengan baik pada kisaran suhu ruangan 20⁰-30⁰C.¹⁴

Hasil pengukuran pH air selama penelitian ini bahwa di awal dan akhir penelitian menunjukkan kesamaan nilai yaitu 7,9 yang berarti air bersifat basa. Sifat basa pada air dikarenakan adanya penambahan ekstrak tembakau ke dalam air. Namun hasil pengukuran pH air tidak berpengaruh pada kematian larva dikarenakan masih berada pada kisaran toleransi untuk kehidupan larva yaitu sebesar 5,8-8,5.¹⁵

Kelembapan udara pada penelitian ini yaitu terjadi peningkatan kelembapan udara menjadi 60%, dimana pada awal

penelitian sebesar 50%. Kelembapan udara yang meningkat tidak mempengaruhi kematian larva karena masih dalam batas optimal untuk kehidupan larva. Sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Kadarohman et al bahwa larva *Culex quinquefasciatus* Say. mampu tumbuh pada kelembapan ruangan 59-69%.¹³

Umur larva disamakan pada instar III karena organ tubuh larva telah terbentuk dengan baik. Apabila menggunakan larva instar II akan mempermudah kematian karena organ belum terbentuk sempurna dan keadaan fisik larva masih sangat lemah. Sedangkan penggunaan larva instar IV dikhawatirkan larva tidak mengalami kematian karena akan menjadi pupa.¹⁵

B. Pengaruh Ekstrak Daun Tembakau (*Nicotiana tobacum* L.) terhadap Mortalitas Larva *Culex quinquefasciatus* Say.

Hasil dari penelitian ini dianalisis dengan analisis *one-way ANOVA* untuk mengetahui adanya perbedaan pengaruh konsentrasi ekstrak daun tembakau. Analisis *one-way ANOVA* dilakukan dengan menggunakan *General Linear Model* dengan *sum of squares type III*. Hasil analisis *One-Way Anova* pada penelitian ini yaitu terdapat perbedaan rata-rata kematian larva pada setiap konsentrasi ekstrak daun tembakau serta meningkatnya kematian larva seiring bertambahnya konsentrasi ekstrak daun tembakau. Konsentrasi 0,095% ekstrak daun tembakau merupakan konsentrasi paling kuat, karena mampu membunuh larva hingga 90%.

Penelitian lain yang sejalan dengan penelitian ini juga diungkapkan oleh Wardoyo pada tahun 2008 tentang efektivitas ekstrak tembakau (*Nicotina Tabacum* L.) terhadap kematian larva *Anopheles Sundaicus* bahwa nilai LC_{50} dari hasil pengamatan kematian larva *Anopheles sundaicus* yaitu 0,06% dan LC_{90} yaitu 0,15%.¹⁶

Kematian larva pada penelitian ini hanya disebabkan oleh senyawa nikotin yang terdapat pada ekstrak daun tembakau sebagai racun utama. Larvasida berbahan aktif nikotin akan bekerja pada system syaraf yang menghambat enzim asetilkolinesterase, sehingga terjadi penumpukan asetilkolin dan terjadi kekacauan dalam penghantaran impuls.¹⁷

C. Toksisitas Ekstrak Daun Tembakau (*Nicotiana tabacum* L.)

Ekstrak daun tembakau (*Nicotiana tabacum* L.) dalam penelitian ini diperoleh dengan metode maserasi. Pelarut yang digunakan dalam mengekstrak daun tembakau ini adalah *etanol*. Pemilihan *etanol* pada penelitian ini sebagai pelarut karena *etanol* menghasilkan ekstraksi lebih banyak dibandingkan pelarut lainnya. Hal ini sesuai dengan penelitian Ryan Moulana (2012) bahwa kadar pigmen warna antosianin yang terendah diperoleh pada perlakuan pelarut *metanol* (20,83%), yang berbeda nyata pada perlakuan dengan pelarut *etanol* (21,89%).¹⁸

Kandungan *etanol* dalam ekstrak daun tembakau sangatlah kecil sehingga *etanol* tidak berpengaruh dalam mortalitas larva *Culex quinquefasciatus* Say.

Hal yang sama juga tercantum dalam penelitian yang dilakukan oleh Ikawati pada tahun 2008 tentang efek larvasida ekstrak *etanol* kulit jeruk lemon (*Citrus limon*) terhadap *Aedes sp.* Anita mengungkapkan bahwa *etanol* mempunyai sifat toksik lebih kecil dibandingkan dengan pelarut lain seperti *metanol* ataupun *eter*, sehingga tidak mempengaruhi mortalitas larva *Aedes sp* yang diujikan.¹⁹

Penambahan Tween 80 dalam hal ini berfungsi untuk meningkatkan kelarutan dari ekstrak daun tembakau yang sukar larut dalam air. Pada penelitian ini bahwa Tween 80 tidak mempengaruhi kematian larva, karena hanya digunakan pada dosis yang sangat sedikit yaitu satu tetes pipet pada setiap konsentrasi. Pengaruh Tween 80 terhadap kematian larva telah dibuktikan dalam penelitian Nurma Dwijayanti pada tahun 2013 bahwa tidak terjadi kematian larva *Aedes aegypti* L. pada kelompok kontrol (Tween 80 + air PDAM).²⁰ Hal yang sama juga terdapat pada penelitian mengenai efek minyak atsiri daun cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) terhadap larva *Anopheles aconitus* yang dilakukan oleh Hastutiningrum pada tahun 2009. Hasil penelitian Hastutiningrum yaitu tidak terjadi kematian larva *Anopheles aconitus* pada kontrol yang merupakan campuran air dengan emulgator Tween 80.²¹

SIMPULAN

1. Konsentrasi terendah pada uji pendahuluan yaitu 0,025% mampu mematikan larva sebanyak 49, konsentrasi tertinggi yaitu 0,1% mampu mematikan larva sebanyak 74,

- sedangkan konsentrasi terkuat yaitu 0,25% mampu mematikan 100% larva *Culex quinquefasciatus* Say.
2. Konsentrasi terendah pada uji selanjutnya yaitu 0,031% mampu mematikan larva sebanyak 5, sedangkan konsentrasi tertinggi yaitu 0,095% mampu mematikan larva *Culex quinquefasciatus* Say. sebanyak 90.
 3. *Lethal Concentration* 50 dan 90 pada uji pendahuluan terdapat pada konsentrasi 0,018% dan 0,066%. Hasil *Lethal Concentration* 50 dan 90 yang dihitung secara statistik setelah melakukan uji selanjutnya yaitu terdapat pada konsentrasi 0,058% dan 0,095%.
 4. Perbedaan rata-rata mortalitas larva *Culex quinquefasciatus* Say. secara statistic berbeda signifikan pada konsentrasi 0,031% dengan 0,066% dan 0,095% karena notasi huruf yang menyertai pada masing-masing konsentrasi tersebut tidak sama, sedangkan pada konsentrasi 0,005%; 0,011%; 0,018%; dan 0,031% tidak berbeda signifikan secara statistik karena memiliki notasi huruf yang sama.
- KEPUSTAKAAN**
1. Aryani N., Apsari, I.A.P., dan Utama, I. H., (2008) *Proporsi dan Dinamika Larva Aedes, Anopheles, dan Culex yang Ditemukan di Denpasar*, Jurnal Veteriner, 9 (1): 41 – 44
 2. Suwito, A., (2008) *Nyamuk (Diptera : Culicidae) Taman Nasional Boganinani Wartabone, Sulawesi Utara : Keragaman, Status dan Habitatnya*, Jurnal Fauna Tropika, 17 (1): 27-34
 3. Marbawati, D. dan Sholichah, Z., (2009) *Ancaman dari Nyamuk Culex sp yang Terabaikan*, Balaba, 5 (1): 21 – 23
 4. Wahyono, T.Y.M., Purwastyastuti, dan Supali, T., (2010) *Filariasis di Indonesia*. Buletin Jendela Epidemiologi, 1(1): 1-8
 5. Mulyatno, K.C., *Institute of Tropical Disease Universitas Airlangga*, (Online), 2010, (<http://www.itd.unair.ac.id/files/pdf/protocol1/Culex.pdf>), diakses 15 Maret 2014
 6. Yasmin, Y., dan Fitri, L., (2013) *Perubahan Morfologi Larva Nyamuk Akibat Pemberian Larvasida Bakteri Kitinolitik*. Jurnal Entomologi Indonesia, 10 (1): 18-23
 7. Sudarmo, S. *Pestisida Nabati*, Yogyakarta: Kanisius; 2005
 8. Djojsumarto, P., *Insektisida dan Akarisida Alami I*, Gerbang Pertanian (online), 17 Oktober 2011, (<http://www.gerbangpertanian.com>), diakses 18 April 2014
 9. Armando, R., *Memproduksi 15 Minyak Atsiri Berkualitas*, Penebar Swadaya, Indonesia, 2008, p. 90-91
 10. Hadikusumo, S.A., (2007) *Pengaruh Ekstrak Tembakau Terhadap Serangan Rayap Kayu Kering Cryptotermes cynocephalus Light. Pada Bambu Apus (Gigantochloa apus Kurz)*, Jurnal Ilmu Kehutanan, 1 (2): 47-54
 11. Rahuman. A.A., Bagavan, A., Kamaraj, C., Vadivelu, M., Zahir, A.A., Elango, G., dan Pandiyan, G., (2008) *Evaluation of Indigenous Plants Extracts Against Larvae of Culex quinquefasciatus Say. (Diptera: Culicidae)*, Journal of Parasitology Research, 104 (3): 637-643

12. Kustiamah, E., *Uji Efikasi Konsentrasi Larutan Ekstrak Tembakau (Nicotiana tabacum L.) Terhadap Larva Nyamuk Aedes aegypti Instar III dan IV*, Skripsi, Ciamis: Tidak Diterbitkan, 2010
13. Ghozali, I., *Desain penelitian eksperimental (teori, konsep, dan analisis data dengan spss 16.0)*, Badan Penerbit Universitas Diponegoro, Semarang, 2008, ISBN 978.979.704.606.4., p. 245-246
14. Kadarohman, A., Lailatul, L., dan Eko, R., (2010) *Efektivitas Niolarvasida Ekstrak Etanol Limbah Penyulingan Minyak Akar Wangi (Vetiveria zizanoides) Terhadap Larva Nyamuk Aedes aegypti, Culex sp., dan Anopheles sundaicus*, Jurnal Sains dan Teknologi Kimia, 1 (1): 59-65
15. Low, V.L., Chen, C.D., Lee, H.L., Lim, P.E., Leong, C. S., Azirun, M.S., (2012) *Nationwide Distribution of Culex Mosquitoes and Associated Habitat Characteristics at Residential Areas in Malaysia*, Journal of The American Mosquito Control Association, 28 (3): 160-169
16. Wardoyo, W., *Efektivitas Ekstrak Tembakau (Nicotina tabacum) terhadap Kematian larva Anopheles sundaicus di Laboratorium*, Semarang, 2008
17. Sutikno, A., Salbiah, D., dan Purba, T., (2013) *Keefektifan Ekstrak Tembakau Puntung Rokok Linting dan Berbagai Jenis Perekat pada Beberapa Hari untuk Mengendalikan Aphis Craccivora Koch pada Tanaman kacang Panjang (Vigna sinensis L.)*, 1 (2)
18. Moulana, R., Juanda, Rohaya, S. dan Rosika, R., (2012) *Efektifitas Penggunaan Jenis Pelarut dan Asam dalam Proses Ekstraksi Pigmen Antosianin Kelopak Bunga Rosella (Hibiscus sabdariffa L.)*, Jurnal Teknologi dan Industri Pertanian Indonesia, 4 (3): 20-25
19. Ikawati, Soebaktiningsih, dan Roekistiningsih, *Efek Larvasida Ekstrak Ethanol Kulit Jeruk Lemon (Citrus Limon) Terhadap Larva Aedes Sp.*, Journal of Medical Faculty, Universitas Brawijaya, 5 Maret 2008
20. Dwijayanti, N., (2013) *Aktivitas Larvasida Ekstrak Etanol Daun Kemuning (Murraya paniculata L. Jack) terhadap Larva Aedes aegypti L.*, Calyptra: Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya, 2 (2): 1-14
21. Hastutiningrum, N.O., *Efek Minyak Atsiri Daun Cengkeh (Syzygium aromaticum) terhadap Mortalitas Larva Anopheles aconitus*, Skripsi, Surakarta: Tidak Diterbitkan, 20