

**NASKAH PUBLIKASI**

**EFEKTIVITAS LARVASIDA INFUSA DAUN SIRIH  
(*Piper betle* Linn.) TERHADAP MORTALITAS  
LARVA NYAMUK *Aedes aegypti***

**ARDIYANSYAH**

**NIM I11108077**



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS TANJUNGPURA  
PONTIANAK  
2015**

**LEMBAR PENGESAHAN  
NASKAH PUBLIKASI**

EFEKTIVITAS LARVASIDA INFUSA DAUN SIRIH (*Piper betle*  
Linn.) TERHADAP MORTALITAS LARVA  
NYAMUK *Aedes aegypti*

TANGGUNG JAWAB YURIDIS MATERIAL PADA

ARDIYANSYAH  
NIM: I11108077

DISETUJUI OLEH

PEMBIMBING UTAMA

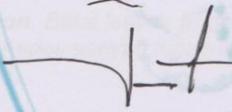
PEMBIMBING KEDUA

  
Hj. Sri Wahdaningsih, M.Sc. Apt  
NIP. 198111012008012011

  
dr. Ita Armyanti  
NIP. 198110042008012011

PENGUJI PERTAMA

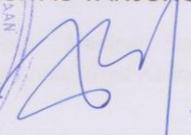
PENGUJI KEDUA

  
dr. Agung Nugroho, M.Sc. Sp.PD  
NIP. 197004052001121002

  
dr. Diana Natalia, M.Biomed  
NIP. 197912242008122002

MENGETAHUI,

DEKAN FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS TANJUNGPURA

  
dr. Arif Wicaksono, M.Biomed  
NIP. 198310302008121002



## **Larvicidal Effectiveness of Betel Leaves (*Piper betle* Linn.) Infusa Against Mortality *Aedes aegypti* Larvae**

Ardiyansyah<sup>1</sup>; Sri Wahdaningsih<sup>2</sup>; Ita Armyanti<sup>3</sup>

### **Abstract**

**Background.** Indonesia was a country with the most cases of Dengue Hemorrhagic Fever in South East Asia. The appropriate countermeasures such as vector control is a other method to reduce the incidence. Abate (temephos) was reported in any countries have resistance against *Aedes aegypti*. Betel Leaves (*Piper betle* Linn) is contains essential oil, saponin, alkaloid and tannin can be expected as larvacidal effect to *Aedes aegypti*. larvae.

**Objective.** To know larvacidal effect and optimum concentration of Betel leaves infusa is effective for killing mosquito larvae of *Aedes aegypti*.

**Methodology.** This research is experimental research with Post Test Only Control Group Design method. *Aedes aegypti* larvae used larvae which have developed into instar III/IV, divided into 7 groups, positive control groups (abate 10 mg/100 mL), negative control groups (aquadest), betel leaves infusa groups, 4 mL/100 mL, 5 mL/100 mL, 6 mL/100 mL, 7 mL/100 mL and 8 mL/100 mL. The each groups contains 10 larvae and it's repeated 4 times Parameters measured were the number of dead larvae in 24 hours. Data processed with One Way Anova test by 21<sup>th</sup> SPSS and continued with Post Hoc Least Significant Difference (LSD) test.

**Result.** Percentage of larvae mortality in 4 mL/100 mL infusa concentration is 72,5%; 5 mL/100 mL is 80%; 6 mL/100 mL is 82,5%; 7 mL/100 mL is 90 % and 8 mL/100mL is 92,5% with P value is 0,022.

**Conclusion.** Betel leaves (*Piper betle* Linn) infusa have larvacidal effect against larvae of *Aedes aegypti* mosquitos and optimum concentration is at 7 mL/100 – 8 mL/100 mL.

**Keywords:** *Aedes aegypti*, betel leaves, mortality

---

- 1) Medical School, Faculty of Medicine, Universitas Tanjungpura, Pontianak, West Kalimantan.
- 2) Department of Pharmacy, Pharmacy School, Universitas Tanjungpura, Pontianak, West Kalimantan.
- 3) Departement of Pharmacology, Medical School, Faculty of Medicine, Universitas Tanjungpura, Pontianak, West Kalimantan.

## Efektivitas Larvasida Infusa Daun Sirih (*Piper betle*, Linn.) Terhadap Mortalitas Larva Nyamuk *Aedes aegypti*.

Ardiyansyah<sup>1</sup>; Sri Wahdaningsih<sup>2</sup>; Ita Armyanti<sup>3</sup>

### Intisari

**Latar Belakang.** Indonesia menempati peringkat teratas untuk kasus Demam Berdarah Dengue di kawasan Asia Tenggara. Penanggulangan yang tepat seperti pengendalian vektor merupakan salah satu cara untuk mengurangi angka tersebut. Abate (temephos) dilaporkan di beberapa negara telah mengalami resistensi terhadap nyamuk *Aedes aegypti*. Daun Sirih (*Piper betle*, Linn) memiliki kandungan minyak atsiri, saponin, alkaloid dan tannin yang diharapkan memiliki potensi sebagai larvasida nyamuk *Aedes aegypti*.

**Tujuan.** Mengetahui efek larvasida dan konsentrasi optimum infusa daun sirih yang efektif untuk membunuh larva nyamuk *Aedes aegypti*.

**Metodologi.** Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan metode *Post Test Only Control Group Design*. Larva *Aedes aegypti* yang digunakan adalah larva yang telah mencapai instar III/IV, dibagi menjadi 7 kelompok uji yaitu kelompok kontrol positif (abate 10 mg/ 100 mL), kontrol negatif (aquades), kelompok perlakuan infusa daun sirih, 4 mL/100 mL, 5 mL/100 mL, 6 mL/100 mL, 7 mL/100 mL dan 8 mL/100 mL. Setiap kelompok berisi 10 larva dan perlakuan diulang sebanyak 4 kali. Parameter yang diamati adalah jumlah larva yang mati dalam 24 jam. Data diolah menggunakan uji *One Way Anova* melalui SPSS 21 dan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Least Significant Difference (LSD)*.

**Hasil.** Persentase kematian larva pada konsentrasi 4 mL/100 mL sebesar 72,5%; 5 mL/100 mL sebesar 80%; 6 mL/100 mL sebesar 82,5%; 7 mL/100 mL sebesar 90% dan 8 mL/100 mL sebesar 92,5% dengan nilai  $p = 0,022$ .

**Kesimpulan.** Infusa daun sirih (*Piper betle* Linn) memiliki efek larvasida terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*. dengan konsentrasi optimum pada 7 mL/100 mL hingga 8 mL/100 mL.

**Kata Kunci:** *Aedes aegypti*, daun sirih, mortalitas.

---

- 1) Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura Pontianak, Kalimantan Barat.
- 2) Departemen Biologi Farmasi, Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura Pontianak, Kalimantan Barat.
- 3) Departemen Farmakologi, Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura Pontianak, Kalimantan Barat.

## PENDAHULUAN

Upaya untuk meningkatkan Angka Bebas Jentik yang masih di bawah target yaitu dengan meningkatkan PSN pada berbagai kegiatan tepat guna supaya lebih meningkatkan tindakan pembersihan sarang nyamuk oleh masyarakat<sup>1</sup>.

Larvasida yang paling luas digunakan untuk mengendalikan larva *Aedes aegypti* adalah temefos.<sup>2</sup> Di Indonesia temefos 1% (Abate 1SG) telah digunakan sejak 1976, dan sejak 1980 abate telah dipakai secara massal untuk program pemberantasan *Aedes aegypti* di Indonesia.<sup>3</sup> Resistensi terhadap temefos dan organofosfat yang merupakan bahan aktif dari bubuk abate telah dilaporkan di beberapa negara, seperti Brazil, Thailand, Kuba dan Argentina.<sup>4,5</sup> Dari penelitian Damar dan Widiarti tahun 2005, dilaporkan adanya resistensi sebagian populasi nyamuk *Aedes aegypti* di beberapa daerah di DI Yogyakarta dan provinsi Jawa Tengah.<sup>6</sup> Sedangkan dari penelitian Intan dkk tahun 2007 ditemukan adanya resistensi nyamuk *Aedes aegypti* di daerah Surabaya, Bandung dan Palembang.<sup>7</sup> Resistensi terhadap beberapa jenis insektisida seperti deltamethrin, malathion, permethrin dan pyrethroid juga dilaporkan di Thailand.<sup>2,8</sup>

Melihat kerugian yang ditimbulkan oleh pestisida sintetik tersebut maka perlu suatu usaha untuk mencari atau mendapatkan alternatif yang lebih efektif dalam mengendalikan populasi nyamuk sebagai vektor penyebab penyakit demam berdarah yang aman bagi lingkungan dan tidak menimbulkan terjadinya resistensi. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Fahmi (2006) ekstrak daun sirih dapat membunuh larva nyamuk *Aedes aegypti*.<sup>9</sup> Begitu juga dengan hasil penelitian Parwata (2011) yang mengatakan kandungan minyak atsiri pada daun sirih bersifat toksik pada larva nyamuk *Aedes aegypti* berumur 48 jam.<sup>10</sup>

Penelitian yang akan dilakukan ini menggunakan infusa daun sirih. Pemilihan metode penyarian dengan cara infusa/infudasi, karena pembuatannya lebih sederhana sehingga bisa lebih mudah diaplikasikan oleh masyarakat. Dengan pestisida alternatif ini, diharapkan dapat memutus rantai perkembangbiakan nyamuk *Aedes aegypti* tersebut yang pada akhirnya dapat mengendalikan populasi vektor nyamuk penyebab penyakit DBD.

## **METODE PENELITIAN**

Jenis penelitian ini merupakan penelitian eksperimental sederhana dengan rancangan *post test only group control design*. Penelitian dilakukan di Asrama Kedokteran UNTAN dan Laboratorium Fakultas Pertanian Universitas Tanjungpura pada bulan Agustus – November 2014.

Pada penelitian ini, subjek dibagi menjadi 2 kelompok, kelompok I disebut kelompok perlakuan dengan konsentrasi infusa yang berbeda dan kelompok II disebut kelompok kontrol. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah rancang acak kelompok (RAK), yaitu penelitian dilakukan dengan menggunakan lima macam konsentrasi perlakuan, untuk setiap perlakuan masing-masing dilakukan empat kali pengulangan.

Daun sirih sebanyak 100 gram dibersihkan dan dirajang sampai halus. Selanjutnya daun dimasukkan kedalam panci infus, kemudian ditambahkan akuades sebanyak 100 ml, dipanaskan selama 15 menit. Pada uji ini digunakan beberapa konsentrasi infusa yang berbeda, antara lain 0 mL/100 mL (kontrol negatif), 4 mL/100 mL, 5 mL/100 mL, 6 mL/100 mL, 7 mL/100mL dan 8 mL/100 mL. Juga digunakan abate sebagai kontrol positif.

Larva nyamuk yang telah mencapai instar ke III/IV dipindahkan dari wadah pemeliharaan ke dalam enam buah wadah percobaan sesuai konsentrasi

perlakuan yang akan dilakukan. Setiap wadah diletakkan larva nyamuk masing-masing sebanyak 10 ekor. Lalu setiap wadah percobaan diberikan variasi konsentrasi infusa daun sirih yaitu 4 mL/100 mL, 5 mL/100 mL, 6 mL/100 mL, 7 mL/100mL dan 8 mL/100 mL. Lalu dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali. Observasi dilakukan setelah 24 jam. Kemudian dihitung jumlah larva yang mati. Larva yang mati adalah larva yang mengambang di wadah percobaan dan tidak menunjukkan tanda-tanda kehidupan.

Persentase kematian larva dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Persentase Kematian Larva} = \frac{\text{Jumlah larva yang mati}}{\text{Jumlah larva yang di uji}} \times 100$$

Data diolah menggunakan uji *One Way Anova* melalui program komputer SPSS 21 dan dilanjutkan uji LSD dengan taraf kepercayaan 95%.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Determinasi Tanaman**

Determinasi tanaman merupakan proses dalam menentukan nama/jenis tumbuhan secara spesifik. Determinasi ini bertujuan untuk mendapatkan suatu spesies se-spesifik mungkin agar tepat sasaran dalam pemanfaatannya.

Tanaman sirih dideterminasi di Laboratorium Biologi Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Tanjungpura Pontianak. Hasil dterminasi dapat dilihat pada lampiran.

### **Preparasi Sampel**

Pada penelitian ini, sampel yang digunakan adalah tanaman sirih. bagian tanaman yang digunakan adalah daun. Ini karena pada tumbuhan sirih, bagian daunnya banyak mengandung senyawa-senyawa kimia dan metabolit sekunder pada lapisan-lapisan daunnya.<sup>11</sup>

Daun yang diambil adalah daun yang masih segar dan berwarna hijau tua, tidak rusak dan bebas hama. Daun sirih yang berwarna hijau tua menunjukkan kalau daun tersebut mendapatkan lebih banyak cahaya matahari.<sup>12,13</sup> Cahaya matahari ini berfungsi untuk membantu proses fotosintesis pada tumbuhan. Diharapkan dengan pemilihan daun tersebut dapat menghasilkan metabolit sekunder daun sirih lebih banyak.

Daun kemudian dibersihkan dengan air yang mengalir lalu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Hal ini bertujuan untuk membuang kotoran-kotoran yang menempel pada permukaan daun. Lalu tanaman dirajang hingga halus untuk memperbesar luas permukaan tanaman sehingga zat aktif yang dapat ditarik oleh zat penyari menjadi lebih banyak.<sup>14</sup>

### **Pembuatan Infusa**

Pembuatan infusa menggunakan dua buah panci yang saling bertumpuk, dimana panci yang di atas diisi bahan yang akan diekstraksi, yaitu daun sirih dan zat penyarinya, yaitu air. Panci yang di bawah hanya diisi air, yang berkontak langsung dengan api. Hal ini bertujuan agar ketika panci yang dibawah airnya mendidih hingga 100°C, maka panas yang diterima oleh panci atas hanya bersuhu 90°C saja. Kondisi demikian ini diperlukan agar zat aktif dalam bahan tidak rusak oleh panas berlebihan. Infusa yang telah jadi kemudian didinginkan dan disaring menggunakan kain flanel. Pendinginan dilakukan karena tanaman daun sirih mengandung minyak atsiri yang mudah menguap apabila disaring dalam keadaan panas. Infusa

ini menghasilkan zat aktif yang tidak stabil dan mudah tercemar oleh kuman dan kapang, sehingga tidak boleh disimpan lebih dari 24 jam.

### **Penetasan Telur Nyamuk dan Pemilihan Sampel**

Telur nyamuk *Aedes aegypti* didapatkan dari Dinas Kesehatan Surabaya yang disertai surat keterangan tentang keaslian telur *Aedes aegypti*. Kemudian telur tersebut diletakkan didalam wadah pembiakan selama 2 – 4 hari. Setelah telur menetas dan menjadi larva, ditunggu beberapa hari hingga menjadi larva instar ke III atau IV dengan sesekali diberi makan berupa pellet ikan. Klasifikasi instar larva adalah sebagai berikut <sup>15,16</sup>:

Larva instar I : berukuran 1-2 mm, duri-duri (spinae) pada dada belum jelas dan corong pernapasan pada siphon belum jelas.

Larva instar II : berukuran 2,5–3,5 mm, duri–duri belum jelas, corong kepala mulai menghitam.

Larva instar III : berukuran 4-5 mm, duri-duri dada mulai jelas dan corong pernapasan berwarna coklat kehitaman.

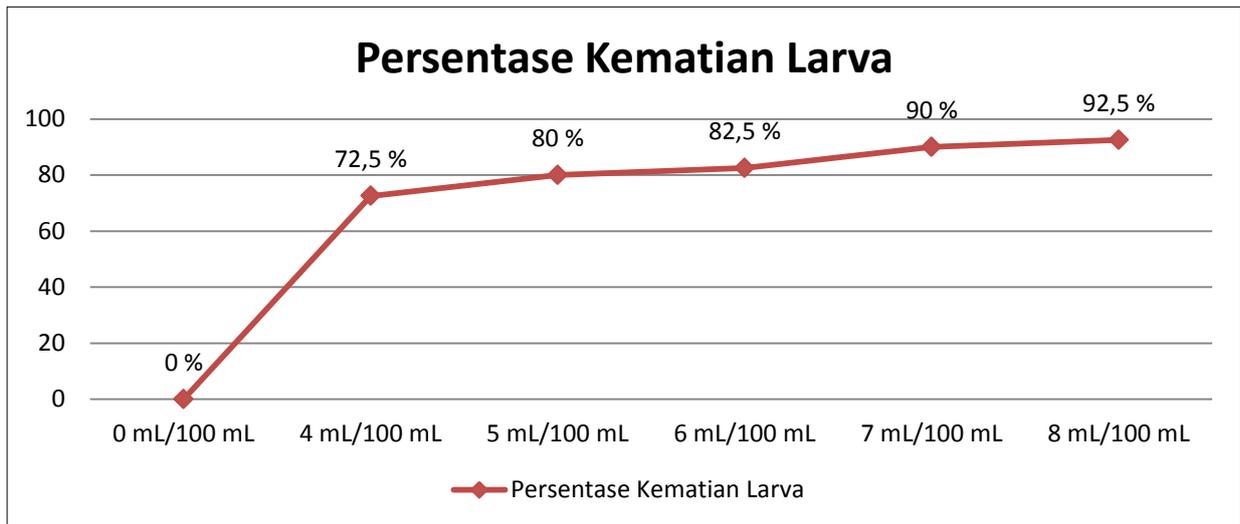
Larva instar IV : berukuran 5-6 mm dengan warna kepala gelap.

Pemilihan larva instar ke III dan ke IV karena ukurannya relatif besar dan organ tubuhnya telah lengkap, larva instar III dan IV memiliki ketahanan terhadap faktor mekanis saat terjadi pemindahan tempat larva dari habitat asli ke tempat uji.<sup>17</sup> Apabila uji ini dapat membunuh larva nyamuk instar ke III dan ke IV, diharapkan juga memiliki efek yang sama pada instar I dan II.

### **Uji Efektivitas Infusa Daun Sirih Terhadap Kematian Larva *Aedes* Spp.**

Jumlah larva yang digunakan pada penelitian ini sebanyak 280 ekor. Jumlah untuk satu kali uji adalah 70 ekor. Setiap perlakuan digunakan 10 ekor larva pada tiap-tiap wadah percobaan. Uji aktivitas larvasida ini dilakukan dengan menguji infusa daun sirih pada variasi konsentrasi 4 mL/100 mL, 5 mL/100 mL, 6 mL/100 mL, 7 mL/100 mL dan 8 mL/100mL. Juga ditambahkan pengujian pada kontrol negatif berupa akuades serta

kontrol positif berupa abate 10 mg/100 mL. Untuk mendapatkan keakuratan data, dilakukan replikasi atau pengulangan sebanyak 4 kali. Pengulangan ini dicari dengan menggunakan rumus dari Federer.



Gambar 1. Diagram garis yang menunjukkan persentase mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti*.  
(Sumber: Data Primer)

Dari data Diagram garis pada gambar 4.2, memperlihatkan perbedaan jumlah mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* disetiap kenaikan konsentrasi infusa. Hal ini menunjukkan apabila konsentrasi infusa meningkat, maka kematian larva nyamuk juga akan meningkat. Dari diagram tersebut juga dapat diketahui bahwa konsentrasi minimum yang dapat membunuh 50% larva nyamuk *Aedes aegypti*. berada konsentrasi 4 mL/100 mL dengan persentase kematian sebesar 72,5%. Menurut Komisi Pestisida (1995) penggunaan larvasida dikatakan efektif apabila dapat mematikan 90-100% larva uji. Sehingga pada penelitian ini, konsentrasi optimum yang efektif untuk membunuh larva nyamuk *Aedes Spp.* berada pada kisaran konsentrasi 7 mL/100 mL hingga 8 mL/100 mL.

Pada uji *One Way Anova* didapatkan nilai  $P = 0,022$  (Lampiran 8). Nilai  $p < 0,05$  yang artinya terdapat perbedaan yang bermakna jumlah larva nyamuk yang mati pada tiap-tiap konsentrasi infusa. Karena terdapat perbedaan yang bermakna pada tiap-tiap kelompok, maka perlu dilakukan uji *Post-Hoc* untuk kelompok mana yang memiliki perbedaan. Dari tabel pada lampiran 9, dapat diketahui kelompok yang memiliki perbedaan bermakna jika dibandingkan dengan kelompok kontrol positif ( $p < 0,05$ ) yaitu pada konsentrasi 4 mL/100 mL, 5 mL/100 mL dan 6 mL/100 mL. Sedangkan pada konsentrasi 7 mL/100 mL dan 8 mL/100 mL nilai  $p > 0,05$  sehingga tidak terdapat perbedaan bermakna. Dari hasil tersebut, diduga konsentrasi 7 mL/100 mL dan 8 mL/100 mL infusa daun sirih secara statistik merupakan konsentrasi optimal dan paling efektif untuk membunuh larva nyamuk *Aedes aegypti*.

Daun sirih mengandung bioaktif molekul seperti *polyphenol*, *alkaloid*, *saponin*, dan *tannin*.<sup>18</sup> Diantara sejumlah kandungan yang terdapat dalam daun sirih tersebut, diduga kandungan alkaloid dan saponin memiliki efektifitas dalam membunuh larva nyamuk *Aedes aegypti*. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Eka (2011) yang menyatakan bahwa kandungan saponin dan alkaloid bertindak sebagai racun perut. Alkaloid berupa garam sehingga dapat mendegradasi membran sel untuk masuk ke dalam dan merusak sel dan juga dapat mengganggu sistem kerja syaraf larva dengan menghambat kerja enzim asetilkolinesterase. Selain itu, menurut Aminah (2001) saponin dapat menurunkan tegangan permukaan selaput mukosa traktus digestivus larva sehingga dinding traktus digestivus larva menjadi korosif.

Saponin merupakan glikosida yang mengandung gula (glukosa, galaktosa, pentosa, atau metilpentosa) dan sterol atau triterpenoid saponin, terdapat pada berbagai tanaman. Saponin adalah agensia pembuih dan hemolitik, mempunyai rasa pahit. Saponin dapat menyebabkan hemolisis sel darah merah, sangat beracun terhadap hewan berdarah dingin,

sedangkan terhadap hewan berdarah panas daya toksitasnya berbeda-beda. Selain dua kandungan kimia diatas, daun sirih juga mengandung minyak atsiri. Sepertiga Minyak atsiri pada daun sirih adalah phenol dan sebagian besar adalah kavikol. Kavikol ini bertanggung jawab atas aroma khas yang tajam pada daun sirih dan memiliki daya bunuh bakteri 5 kali lebih kuat dari phenol biasa.<sup>19</sup> Selain untuk membunuh bakteri minyak atsiri ini juga dapat membunuh larva nyamuk. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Parwata (2011) yang mengatakan bahwa minyak atsiri dinyatakan toksik terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*.

Minyak atsiri mempunyai aktifitas sebagai antibakteri, antijamur, antikanker, antiseptik dan antioksidan. Minyak atsiri turunan fenol berinteraksi dengan sel melalui proses absorpsi yang melibatkan ikatan hidrogen. Pada kadar rendah terbentuk kompleks protein fenol dengan ikatan yang lemah dan segera mengalami peruraian, diikuti penetrasi fenol ke dalam sel dan menyebabkan presipitasi serta denaturasi protein. Pada kadar tinggi fenol menyebabkan koagulasi protein dan sel membran mengalami lisis.<sup>20</sup> Hal ini diduga juga memicu kematian larva *Aedes aegypti*. Selain itu minyak atsiri juga berperan sebagai racun pernapasan sehingga menyebabkan kematian larva.

Walaupun Larvasida alami ini tidak lebih efektif dari abate namun larvasida alternatif ini memiliki beberapa keunggulan, diantaranya tidak menimbulkan resistensi (bahkan membantu pemecahan masalah resistensi); mempunyai tingkat keamanan yang lebih tinggi bila dibandingkan dengan racun-racun senyawa anorganik karena susunan molekul-molekulnya sebagian besar terdiri dari karbon, nitrogen, oksigen, dan hidrogen yang mudah terurai menjadi senyawa yang tidak menimbulkan bahaya bagi lingkungan; memiliki selektivitas yang tinggi; serta relatif tidak beracun bagi organisme bukan sasaran.<sup>21</sup>

## **KESIMPULAN**

1. Infusa daun Sirih (*Piper betle* Linn.) memiliki efek larvasida terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*.
2. Konsentrasi optimum yang efektif sebagai larvasida terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* berada pada konsentrasi 7 mL/100 mL dan 8 mL/100 mL.

## **SARAN**

1. Penelitian lebih lanjut untuk mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa spesifik pada infusa daun sirih dan mekanisme kerjanya sebagai larvasida nyamuk.
2. Penelitian untuk mengetahui efek toksisitas pada manusia dari penggunaan infusa daun sirih secara terus menerus dalam jangka panjang.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Dinas Kesehatan Kota Pontianak. Profil Kota Pontianak 2012. Dinkes Kota Pontianak. Pontianak; 2013.
2. Ponlawat A, Scott JG, Harrington LC. Insecticide susceptibility of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* across Thailand. *Journal of Medical Entomology*. 2005; 42: 821-825.
3. Istiana, Farida H, Isnaini. Status Kerentanan Larva *Aedes aegypti* Terhadap Temefos di Banjarmasin Barat. *Jurnal Buski*. 2012; 4(2): 53-58.
4. Jose BPL, Marcella PDaC, Ronaldo CDaSJ, Allan KRG, Sidinei DaSS, Ima AB, dkk. Resistance of *Aedes aegypti* to organophosphate in Several Municipalities in the State of Rio De Janeiro and Espirito Santo, Brazil. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 2003;68(3):329-33.
5. Emilia S, Alejandro L, Eduardo Z, Susana L, Hector M. *Aedes aegypti* Resistance to Temephos in Argentina. *Journal of the American Mosquito Control Association*. 2008; diakses 13 Januari 2012. Tersedia di <http://dx.doi.org/10.2987/5738.1>
6. Damar TB, Widiarti. Susceptibility of Dengue Haemorrhagic Fever Vector (*Aedes aegypti*) Against Organophosphate Insecticides (Malathion and Temephos) in Some Districts of Yogyakarta and Central Java Provinces. *Vector and Reservoir Control Research Unit Salatiga*; 2005.
7. Intan A, Sita A, Marselina T. Resistance of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in 2006 to Pyrethroid Insecticides in Indonesia and Its Association with Oxidase and Esterase Levels. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 2007;10(20):3688-92.
8. Rapeeporn Y, Rachada K, Theeraphap C, Pornpimol R. Characterization of Deltamethrin Resistance in Fields Populations of *Aedes aegypti* in Thailand. *Journal of Vector Ecology*. 2005;30(1):144-50.

9. Fahmi, M. Perbandingan Efektivitas Abate Dengan Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle*) Dalam Menghambat Pertumbuhan Larva *Aedes aegypti*. [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Semarang.2006
10. Parwata, I.M.O., P. Fanny, S.D. Isolasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Dari Rimpang Lengkuas (*Alpinia galanga* L.). Jurnal Kimia Universitas Udayana.2011; 2(2):100-104
11. Pradhan, D., Suri, K.A., Pradhan, D.K, Biswasroy, P. Golden Heart of Nature: *Piper betle* L. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry.2013; 1(6):148-52.
12. Chaveerach A., Mokkamul P., Sudmoon R.,Tanee T. Ethnobotany of the genus Piper (Piperaceae) in Thailand”, Ethnobotany Research & Applications. 2006; 223-231.
13. Kumar, N. Betalvine (*Piper betle* L.) cultivation: A unique case of plant establishment under anthropogenically regulated microclimatic conditions, Indian journal of History of science.1999; 34(1).19-32.
14. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Sediaan Galenik. DepKes RI. Jakarta.1986
15. Dirjen P2PL. Modul Pengendalian Demam Berdarah Dengue. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. 2011.
16. Manorenjitha, M. The Ecology and Biology of *Aedes aegypti* (L.) and *Aedes albopictus* (Skuse) (Diptera: Culicidae) and The Resistance Status of *Aedes albopictus* (Field Strain) Against Organophosphates In Penang Malaysia [Tesis]. Malaysia. 2006.
17. Wahyuni, D. Granulasi Senyawa Toksik Untuk Memberantas Larva Nyamuk *Aedes aegypti*. Universitas Jember. Jember. 2013
18. Devjani, C., Barkha shah. Antimicrobial, Antioxidative and Antihemolytic Activity of *Piper betel* Leaf Extracts. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 2011; 3(3):192-199

19. Moeljanto, R., Damayanti, Mulyono. Khasiat & Manfaat Daun Sirih: Obat Mujarab dari Masa ke Masa. AgroMedia Pustaka. Jakarta. 2003
20. Parwata, I.M.O., P. Fanny, S.D. Isolasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Dari Rimpang Lengkuas (*Alpinia galanga* L.). Jurnal Kimia Universitas Udayana. 2008; 2(2):100-104
21. Syahputra, E., Prijono, Djoko. Perkembangan dan Hambatan Makan Larva *Crocidolomia pavonana* yang Diberi Sediaan Fraksi Diklormetan Kulit Batang *Calophyllum soulattri*. Jurnal Agroteknos. 2011; 1(3): 135-140