

Penulis :

1. Wulan Sari RG Sembiring¹
2. Dodo Tandi Suarnella²

Korespondensi:

1. Balai Litbang P2B2 Tanah Bumbu, Jalan Dharma Praja Desa Gunung Tinggi, Kec. Batulicin Kab. Tanah Bumbu Kalsel. 72211. Email. Sembiring_wulan@yahoo.com
2. Program Studi Kesehatan Masyarakat UNLAM

Kata Kunci :

Efektifitas
Larvasida
minyak atsiri
kunyit putih
Aedes aegypti

Diterima :

10 April 2012

Disetujui :

29 Oktober 2012

Effectiveness of white turmeric *Curcuma zedoaria* rhizome essential oil as larvicide on *Aedes aegypti*

Abstract

White turmeric contains essential oil which has been considered as a potential larvicide. This study aimed to know the activity of white turmeric volatile oil on *Aedes aegypti* larvae mortality IV instar. Volatile oil concentration used are 15,2 ppm, 30,3 ppm, 60,5 ppm, 121 ppm, 242 ppm as well as the positive control (abate) and negative control (CMC Na 1%) using four replications in each treatment. White turmeric volatile oil was obtained by steam distillation method. Anova test on the result from 24 hour observation showed significant difference in the number of dead larvae between two groups ($p = 0,000$). Least Significant Difference (LSD) analysis showed that there were differences in total mortality between all treatments at various levels of concentration of essential oil on both control groups ($p < 0,05$). Probit analysis test indicate that turmeric volatile oil on the concentration of 54,5 ppm was the effective concentration of essential oil (LC_{50}) in killing the larvae of *A. aegypti*.

Efektivitas minyak atsiri rimpang kunyit putih *Curcuma zedoaria* sebagai larvasida terhadap nyamuk *Aedes aegypti*

Abstrak

Rimpang kunyit putih mempunyai zat aktif berupa minyak atsiri yang selama ini diduga berpotensi sebagai larvasida. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang bertujuan untuk mengetahui aktivitas minyak atsiri rimpang kunyit putih terhadap kematian larva nyamuk *Aedes aegypti* instar IV awal. Tingkat konsentrasi yang dipilih adalah 15,2 ppm, 30,3 ppm, 60,5 ppm, 121 ppm, 242 ppm serta kontrol positif (abate) dan kontrol negatif (CMC Na 1%) dengan 4 kali replikasi untuk tiap perlakuan. Minyak atsiri rimpang kunyit putih didapatkan melalui metode destilasi uap. Uji Anova dari hasil pengamatan selama 24 jam menunjukkan bahwa ada perbedaan jumlah kematian larva antara kedua kelompok perlakuan ($p = 0,000$). diperoleh nilai $p = 0,000$ yang artinya ada perbedaan jumlah kematian larva yang bermakna pada dua kelompok. Hasil analisis Beda Nyata Terkecil (BNT) menunjukkan bahwa terdapat perbedaan jumlah kematian larva antara perlakuan pada berbagai tingkat konsentrasi minyak atsiri rimpang kunyit putih baik pada kelompok kontrol (+) maupun (-) ($p < 0,05$). Hasil uji analisis probit menunjukkan bahwa minyak atsiri rimpang kunyit putih pada konsentrasi 54,5 ppm merupakan konsentrasi yang efektif (LC_{50}) dalam membunuh larva *Ae. aegypti*.

Pendahuluan

Demam berdarah dengue (DBD) dan demam dengue (DD) merupakan penyakit yang disebabkan oleh virus dengue dan ditularkan oleh nyamuk *Aedes aegypti* dan *Aedes albopictus*.¹ Program pencegahan dan pengendalian DBD maupun DD telah berlangsung lebih kurang 43 tahun dan berhasil menurunkan angka kematian dari 41,3% pada tahun 1968 menjadi 0,87% pada tahun 2010 tetapi belum berhasil menurunkan angka kesakitan. Jumlah penderita cenderung meningkat, penyebarannya semakin luas, menyerang tidak hanya anak-anak tetapi juga golongan umur yang lebih tua.²

Sampai dengan bulan Agustus tahun 2011 tercatat 24.362 kasus dengan 196 kematian, *case fatality rate* (CFR) 0,80%.³ Kasus DBD di tahun 2010, terdapat 1.797 kasus, dengan 7 penderita meninggal, sementara pada tahun 2011 di Kalimantan Timur terjadi 384 kasus DBD di Balikpapan dan satu penderita meninggal. Pada tahun 2012 hingga bulan awal maret sedikitnya tercatat ada 124 kasus penyakit demam berdarah dengue di Kota Balikpapan.⁴ Di Provinsi Kalimantan Selatan pada tahun 2010 tercatat 1.079 kasus dengan penderita meninggal 33 orang. Pada tahun 2011 terjadi penurunan kasus yaitu 363 kasus dengan jumlah kematian sebanyak 8 orang, sedangkan tahun 2012 sejak bulan Januari tercatat ada 386 kasus demam berdarah dan dari jumlah tersebut 5 orang meninggal dunia.⁵

Belum ada vaksin untuk pencegahan dan obat-obatan khusus untuk penyembuhan penyakit DBD maupun DD, sehingga pengendaliannya tergantung pada pengendalian terhadap vektornya. Pengendalian *Ae. aegypti* dapat dilakukan dengan mengendalikan nyamuk dewasa dan larvanya. Salah satu cara pengendalian larva *Ae. aegypti* yaitu dengan menggunakan metode larvasida. Saat ini larvasida yang paling luas digunakan untuk mengendalikan larva *Ae. aegypti* adalah temephos 1% (abate 1SG).^{1,2}

Sejak tahun 1980, temephos telah dipakai secara massal untuk program pemberantasan larva

Ae. aegypti di Indonesia. Meskipun demikian, penggunaan insektisida sintetis yang berulang dapat berefek buruk terhadap manusia dan lingkungan sekitar. Menurut WHO, kurang lebih 20.000 orang mati per tahun akibat keracunan insektisida, selain itu juga menimbulkan dampak fatal seperti kanker, cacat tubuh, dan kemandulan. Penggunaan insektisida sintetis juga dapat mengganggu kualitas dan keseimbangan lingkungan hidup akibat adanya residu serta timbulnya resistensi pada hewan sasaran. Sehingga diperlukan alternatif lain pembunuh larva *Ae. aegypti* yang bersifat alami untuk mengurangi penggunaan insektisida sintetis, yakni insektisida yang berasal dari tumbuhan yang mengandung bahan kimia (bioaktif) yang toksik terhadap serangga namun mudah terurai di alam sehingga tidak mencemari lingkungan dan relatif aman bagi manusia.^{1,6,7}

Penelitian tentang larvasida dari bahan alam sudah banyak dilakukan sebelumnya. Berdasarkan penelitian Marlinae dkk (2006), ekstrak rimpang kunyit (*Curcuma domestica* Val) efektif membunuh 50% populasi larva *Ae. aegypti* pada konsentrasi 7,49%. Sedangkan pada penelitian Noegroho dkk (1997), kandungan minyak atsiri daun jukut (*Hyptis suaveolens* L. Poit) pada konsentrasi 393,69 ppm sudah mampu membunuh 50% dari larva uji. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak rimpang kunyit dan kandungan minyak atsiri daun jukut efektif dalam membunuh larva *Ae. aegypti*.^{6,8}

Kunyit putih (*Curcuma zedoaria*) adalah salah satu herba yang memiliki kesamaan kandungan kimia dengan kunyit dan daun jukut. Senyawa kimia yang terkandung dalam kunyit putih (*C. zedoaria*) diantaranya *monoterpen* (dalam minyak atsiri), *zedoarone*, *epicurminol*, *curcuminol*, serta *curcumin*. Komponen *epicurminol* dan *zedoarone* berkhasiat sebagai anti tumor. Senyawa *monoterpen* berkhasiat sebagai *antineoplastik* dan telah terbukti dapat menonaktifkan pertumbuhan sel kanker payudara. *Curcumin* berkhasiat sebagai anti radang dan antioksidan yang dapat mencegah kerusakan gen dan *curcuminol* berkhasiat sebagai *hepatoprotektor*.⁹ Tulisan ini menyajikan tentang efektivitas minyak atsiri rimpang kunyit putih (*C. zedoaria*) sebagai larvasida dalam membunuh

Metode

Penelitian yang telah dilakukan adalah penelitian eksperimental dengan desain penelitian *Pre and Post Test Control Group Design* dimana minyak atsiri diberikan secara acak dalam 5 perlakuan dengan konsentrasi 15,2 ppm, 30,3 ppm, 60,5 ppm, 121 ppm, 242 ppm, dan menggunakan kontrol (positif dengan temephos dan negatif dengan CMC_Na 1%). Masing-masing perlakuan dan kontrol (positif dan negatif) tersebut dilakukan 4 kali replikasi dan diukur kematian larvanya.

Bahan dan Alat

Bahan penelitian yang digunakan adalah simplisia rimpang kunyit putih, aquades, NaCl, larutan *Carboxyl Methyl Cellusa-Natrium* (CMC-Na), dan larva nyamuk *Ae. aegypti* instar IV awal.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah pipet ukur, gelas ukur 10 ml, gelas ukur 100 ml, gelas ukur 250 ml, gelas ukur 500 ml, gelas beker 500 ml, gelas arloji/gelas plastik, timbangan digital Gibertini, aluminium foil, batang pengaduk, dandang, dan saringan.

Prosedur penelitian

Sebanyak ±10 kg rimpang kunyit putih yang sudah dipotong-potong dimasukkan ke dalam dandang yang telah diisi 10 liter air. Alat destilasi uap kemudian dirangkai dengan merangkaikan pendingin (kondensor). Dandang kemudian dipanaskan dan dijaga agar tidak menggunakan temperatur yang tinggi. Air dialirkan ke kondensor dan dijaga agar air terus mengalir. Temperatur kondensor dijaga tetap dingin dengan menambahkan es sehingga minyak yang menguap semuanya terembunkan dan tidak lepas ke udara.

Destilat yang diperoleh merupakan campuran

minyak dengan air yang selanjutnya dipisahkan dalam corong pisah. Untuk pemisahan sempurna, destilat ditambahkan natrium klorida (NaCl) agar minyak yang teremulsi terpisah. Fase air ditampung dalam erlenmeyer untuk dipisahkan lagi karena kemungkinan masih mengandung sedikit minyak yang teremulsi. Fase air ini ditambahkan lagi natrium klorida dan didekantasi, kemudian dipisahkan dalam corong pisah.

Suspensi CMC-Na 1% dibuat dengan melarutkan 6 g CMC-Na pada 300 ml air kemudian diaduk sampai mengental. Selanjutnya ditambahkan lagi dengan 300 ml air sedikit demi sedikit sampai menjadi suspensi.

Pembuatan emulsi minyak atsiri diawali dengan menimbang minyak atsiri sebanyak 145,2 mg dan ditambahkan suspensi CMC-Na 1% ke dalam minyak atsiri tersebut sampai volume menjadi 600 ml dan terbentuk emulsi minyak atsiri 242 ppm. Komposisi campuran untuk masing-masing konsentrasi disajikan dalam tabel 1 dan dihitung dengan menggunakan rumus berikut:¹⁰

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

Pengujian daya larvasida minyak atsiri rimpang kunyit putih dimulai dengan menyediakan gelas plastik sebanyak 7 buah untuk media pengujian larvasida dengan 5 variasi konsentrasi dan 2 perlakuan kontrol yang telah dihitung. Kemudian dimasukkan larva yang sudah disiapkan sebanyak 25 pada masing-masing gelas. Larva yang sudah dimasukkan ke dalam emulsi minyak atsiri dibiarkan selama 24 jam, dan kemudian dihitung jumlah larva yang mati pada tiap gelas plastik.¹¹

Tabel 1. Komposisi campuran untuk masing-masing konsentrasi

Konsentrasi (ppm)	Emulsi Minyak Atsiri 242 ppm	Air (ml)
15,2	18,9	281,1
30,3	37,6	262,4
60,5	75	225
121	150	150
Kontrol (+) 1% Abate 2,5 gr		250
Kontrol (-) 1 % CMC-Na 2,5 gr		250

Analisa Data

Analisis deskriptif dilakukan dengan menghitung jumlah kematian larva *Ae. aegypti* dari kelima kelompok perlakuan dan control. Dari hasil pengamatan dilakukan analisis pengaruh tiap konsentrasi terhadap tingkat kematian larva nyamuk *Ae. aegypti* dengan uji *Anova*. Untuk mengetahui LC_{50} dari minyak atsiri rimpang kunyit putih dengan menggunakan analisis probit melalui program komputer.¹¹ Apabila rata-rata kematian larva pada kelompok kontrol antara 5-20%, maka kematian sesungguhnya dikoreksi menggunakan rumus *Abbot*.

$$A1 = \frac{A-B}{100-B} \times 100\%$$

- A1 : persentase kematian setelah dikoreksi
- A : persentase kematian nyamuk uji
- B : persentase kematian nyamuk kontrol

Hasil

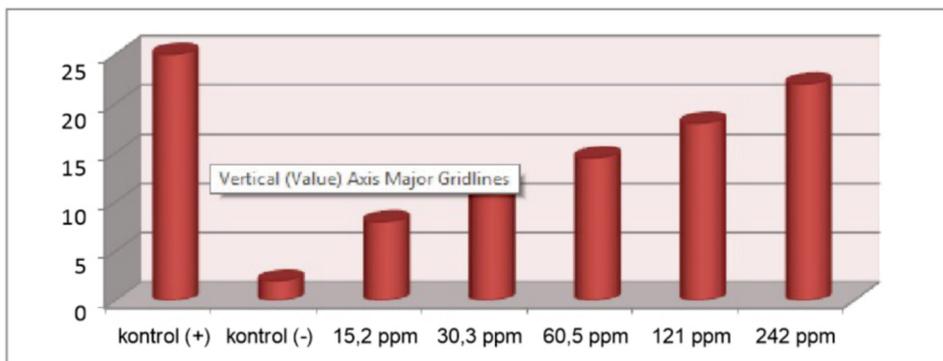
Pengujian dilakukan terhadap larva instar IV awal karena pada instar ini larva masih mengkonsumsi

makanan dan dalam kondisi terlemah sebelum menjadi pupa (instar IV akhir berhenti mengkonsumsi makanan). Suhu ruangan dikondisikan sesuai dengan pertumbuhan larva yaitu pada suhu 28°C karena pada suhu ini larva dapat hidup secara normal.¹⁰ Jumlah kematian larva pada berbagai tingkat konsentrasi minyak atsiri rimpang kunyit putih disajikan pada tabel 2.

Tabel 2 menyajikan kematian larva *Ae. aegypti* setelah perlakuan dengan minyak atsiri dan kontrol. Pada kontrol (+) yaitu persentase kematian mencapai seratus persen dan pada kelompok perlakuan dengan konsentrasi maksimal yaitu 242 ppm persentase kematian mencapai 88%. Hal ini dapat menyatakan bahwa secara umum aktivitas minyak atsiri cukup efektif sebagai larvasida *Ae. aegypti*. Rata-rata kematian larva pada berbagai tingkatan konsentrasi minyak atsiri rimpang kunyit putih disajikan dalam grafik pada gambar 1. Gambar 1 menjelaskan bahwa efek larvasida minyak atsiri rimpang kunyit putih terjadi mulai dari konsentrasi paling rendah (15,2 ppm).

Tabel 2. Kematian larva *Ae. aegypti* setelah perlakuan dengan minyak atsiri dan kontrol

Konsentrasi	Ulangan 1		Ulangan 2		Ulangan 3		Ulangan 4		Rata-rata	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Kontrol (+)	25	100	25	100	25	100	25	100	25	100
Kontrol (-)	2	8	3	12	1	4	2	8	2	8
Perlakuan:										
15,2 ppm	7	28	8	32	8	32	9	36	8	32
30,3 ppm	11	44	10	40	10	40	12	48	10,8	43,2
60,5 ppm	15	60	13	52	15	60	15	60	14,5	58
121 ppm	19	76	18	72	18	72	17	68	18	72
242 ppm	22	88	24	96	22	88	20	80	22	88



Gambar 1. Rata-rata kematian larva pada berbagai tingkat konsentrasi

Kematian larva *Ae. aegypti* semakin meningkat dengan semakin tingginya konsentrasi minyak atsiri rimpang kunyit putih. Rata-rata kematian larva pada kelompok kontrol (-) adalah 8%, sehingga kematian perlu dikoreksi menggunakan rumus Abbot. Hasil uji minyak atsiri rimpang kunyit putih terhadap larva *Ae. aegypti* instar IV setelah dikoreksi rumus Abbot disajikan pada tabel 3.

Tabel 3 menjelaskan bahwa persentase rata-rata kematian larva setelah dikoreksi rumus Abbot lebih rendah dari persentase rata-rata kematian larva awal, yang berarti penelitian ini dapat dilanjutkan pada pengujian efektivitas minyak atsiri rimpang kunyit putih.

Uji efektifitas minyak atsiri rimpang kunyit putih terhadap kematian larva *Ae. aegypti* harus memenuhi beberapa syarat, yaitu distribusi data harus normal dan varian data harus sama.¹¹ Uji normalitas *Shapiro-Wilk* menunjukkan data terdistribusi normal ($p = 0,123$) dan *Levene's test* menyatakan tidak ada perbedaan varian antara kelompok data yang ditandingkan ($p = 0,451$; $\alpha = 0,005$).

Karena varian data sama, maka uji Anova pada tabel berikutnya adalah valid. Uji Anova menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna antara jumlah kematian larva pada tiga kelompok

($p=0,000$).

Untuk mengetahui pada kelompok manakah terdapat perbedaan yang bermakna itu, harus dilakukan analisis *Post-Hoc Least Significant Difference* (LSD) (BNT; Beda Nyata Terkecil) dengan $\alpha=0,005$. Hasil analisis *Post-Hoc* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan jumlah kematian larva antara perlakuan pada kelompok kontrol (+) dengan semua perlakuan pada berbagai tingkat konsentrasi minyak atsiri rimpang kunyit putih ($p<0,05$). Jumlah kematian larva antar tingkat konsentrasi juga memiliki perbedaan yang bermakna ($p<0,05$). Demikian juga perlakuan pada kelompok kontrol (-), terdapat perbedaan yang bermakna dengan semua perlakuan pada berbagai tingkat konsentrasi minyak atsiri rimpang kunyit putih ($p < 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas minyak atsiri rimpang kunyit putih mempunyai pengaruh terhadap kematian larva nyamuk *Ae. aegypti* instar IV awal dalam berbagai konsentrasi. Secara lebih jelas perbedaan kematian tersebut disajikan pada tabel 4.

Selanjutnya dilakukan analisis probit untuk mengetahui LC_{50} (*Lethal Concentration*) minyak atsiri rimpang kunyit putih, yaitu besarnya konsentrasi minyak atsiri yang mampu membunuh

Tabel 3. Persentase Atsiri Rimpang Kunyit Putih Setelah Dikoreksi Rumus Abbot

Konsentrasi (ppm)	Persentase rata-rata kematian larva awal (%)	Persentase rata-rata kematian larva setelah dikoreksi (%)
15,2	32	26,1
30,3	43,2	38,3
60,5	58	54,3
121	72	69,6
242	88	86,9

Tabel 4. Perbedaan Jumlah Kematian Hasil Analisis Post-hoc (LSD)

Perlakuan	K (+)	K (-)	15,2	30,3	60,5	121	242
K (+)		B	B	B	B	B	B
K (-)	B		B	B	B	B	B
15,2	B	B		B	B	B	B
30,3	B	B	B		B	B	B
60,5	B	B	B	B		B	B
121	B	B	B	B	B		B
242	B	B	B	B	B	B	

Keterangan : B = berbeda

50% dari populasi larva uji. Hasil uji analisis probit menunjukkan bahwa minyak atsiri rimpang kunyit putih pada konsentrasi 54,5 ppm sudah mampu mematikan 50% populasi larva uji, sehingga pada penelitian ini didapat LC_{50} minyak atsiri rimpang kunyit putih yaitu 54,5 ppm.

Pembahasan

Komponen minyak atsiri rimpang kunyit putih (*C. zedoaria*) terdiri dari *monoterpen* dan *sesquiterpen*. *Monoterpen C. zedoaria* terdiri dari *monoterpen hidrokarbon (alfa pinen, D-kamfen)*, *monoterpen alkohol (D-borneol)*, *monoterpen keton (D-kamfer)*, *monoterpen oksida (sineol)*. *Sesquiterpen* dalam *C. zedoaria* terdiri dari berbagai golongan *bisabolen*, *elema*, *germakran*, *eudesman*, *guaian* dan golongan *spironolakton*.¹² Aktivitas minyak atsiri berkaitan dengan adanya senyawa *monoterpen* tersebut telah diuji bioaktivitasnya dan menunjukkan penolakan yang kuat terhadap nyamuk *Ae. aegypti*. Minyak atsiri dapat berpotensi sebagai insektisida karena diketahui bersifat toksik pada rentang pH yang lebar, stabil terhadap cahaya dan panas, dan tidak membentuk lapisan yang permanen pada permukaan air untuk waktu yang lama.¹²⁻¹⁴

Berdasarkan penelitian Noegroho dkk (1997), kandungan minyak atsiri daun jukut (*H. suaveolens* L. Poit) pada konsentrasi 393,69 ppm mampu membunuh 50% dari larva uji. Dibandingkan dengan penelitian tersebut, minyak atsiri rimpang kunyit putih lebih efektif sebagai larvasida karena pada konsentrasi 54,5 ppm sudah mampu membunuh 50% populasi larva uji.¹⁰

Suatu senyawa dikatakan aktif pada uji larvasida dengan konsentrasi maksimal 1000 ppm, jika memiliki harga $LC_{50} \leq 500$ ppm dan dikatakan tidak aktif jika memiliki harga $LC_{50} > 500$ ppm, sedangkan senyawa murni dikatakan aktif dan mempunyai sifat bioaktivitas jika memiliki harga $LC_{50} \leq 50$ ppm dan tidak aktif jika $LC_{50} > 200$ ppm. Dengan demikian minyak atsiri bersifat aktif terhadap uji larvasida.^{12,15} Dengan demikian minyak atsiri rimpang kunyit putih dapat digunakan sebagai alternatif dari penggunaan insektisida sintetik (temephos) yang sekarang telah digunakan secara massal untuk program pengendalian larva *Ae. aegypti* di Indonesia.^{10,16}

Kesimpulan

Berdasarkan pada hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa minyak atsiri rimpang kunyit putih (*C. zedoaria*) efektif sebagai larvasida dalam membunuh larva nyamuk *Ae. aegypti* instar IV awal. Besar konsentrasi minyak atsiri rimpang kunyit putih (*C. zedoaria*) yang efektif membunuh 50% populasi larva uji (LC_{50}) adalah 54,5 ppm.

Daftar pustaka

1. Gafur Al, Mahrina, Hardiansyah. Kerentanan larva *Ae. aegypti* dari Banjarmasin Utara terhadap temefos. *Bioscientiae*. 2006; 3(2):73-82.
2. Muhlisin A, Arum P. Penanggulangan Demam Berdarah Dengue (DBD) di Kelurahan Singopuran Kartasura Sukoharjo. *Warta* 2006; 9(2):123-129.
3. Subdirektorat Pengendalian *Arbovirolosis* Dit PPBB - Ditjen PP dan PL Kementerian Kesehatan RI. Informasi Umum Demam Berdarah Dengue. Jakarta, 2011.
4. Dinas Kesehatan Propinsi Kalimantan Timur. Laporan Berkala DBD. Kalimantan Timur, 2012.
5. Dinas Kesehatan Propinsi Kalimantan Selatan. Laporan Berkala DBD. Kalimantan Selatan, 2012. Sukamto. Data kasus Demam Berdarah Dengue (DBD) per Kabupaten/Kota Provinsi Kalimantan Selatan 2009. Banjarmasin: Dinas Kesehatan Provinsi Kalimantan Selatan, 2009.
6. Moehammadi N. Potensi biolarvasida ekstrak herba *Ageratum conyzoides* Linn. dan daun *Saccopetalum horsfieldii* Benn. terhadap larva nyamuk *Ae. aegypti* L. *Berkas Penelitian Hayati*. 2005; 10:1-4.
7. Marlinae L, Lisda H, Joharman, Vera M. Effectiveness of extract rhizome turmeric (*Curcuma domestica* Val.) in killing *Ae. aegypti* larva cause of Dengue Hemorrhagic Fever (DHF). *Jurnal Kesehatan Lingkungan* 2006; 3(2):22-28.
8. Novalina. Penggunaan tanaman obat sebagai upaya alternatif dalam terapi kanker. Makalah Pribadi. Bogor: Institut Pertanian Bogor; 2003.

9. Siregar FA. Epidemiologi dan pemberantasan Demam Berdarah Dengue (DBD) di Indonesia. Paper. Medan: Universitas Sumatera Utara, 2004.
10. Nugroho SP, Srimulyani, Mulyaningsih. Aktivitas larvasida minyak atsiri daun jukut (*Hyptis suaveolens* L.) Poit, terhadap larva nyamuk *Ae. aegypti* instar IV dan analisis kromatografi Gas-Spektroskopi Massa. *Majalah Farmasi Indonesia* 1997; 8(4):160-170.
11. Dahlan S. Statistik untuk kedokteran dan kesehatan. Jakarta: Salemba Medika 2008.
12. Niluh PFA, R.Y.Perry B, Yulfi Z. Minyak atsiri dari kulit buah *Citrus grandis*, *Citrus aurantium* dan *Citrus aurantifolia* (*Rutaceae*) sebagai senyawa antibakteri dan insektisida. *Prosiding KIMIAFMIPA ITS, 2009/2010*.
13. Nor AMA, Zaridah MZ, Rohani A. Mosquitocidal Activities Of Malaysia Plants. *Journal of Tropical Forest Science* 2006; 18:74-80.
14. Dakhil MA, Morsy TA. The Larvicidal Activities of the Peel Oils of Three Citrus Fruits against *Culex pipiens*. *J Egypt.Soc. Parasitol* 1999; 29: 347.
15. Meyer, Laughlin, Ferrigni. Brine Shrimp: Convenient General Bioassay for Active Constituents. *Plant Medica*. 1982; 45: 31-34.
16. Suwasono H, Mardjan S. Uji coba beberapa insektisida golongan pyrethroid sintetik terhadap vektor demam berdarah dengue *Ae. aegypti* di wilayah Jakarta Utara. *Jurnal Ekologi Kesehatan*. 2004; 3(1):43-46.