

Potensi kenikir (*Cosmos caudatus*) sebagai larvasida nyamuk *Aedes aegypti* instar IV

November Rianto Aminu^{1*}, Alfon Pali², Sri Hartini³

^{1,2,3}Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Kristen Satya Wacana, Salatiga, Indonesia;

^{1,3}Pusat Studi Bahan Alam dan Lingkungan, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Kristen Satya Wacana, Salatiga, Indonesia;

Riwayat artikel

Received : 26 November 2019

Revised : 15 Januari 2020

Accepted : 22 Januari 2020

Published : 28 Januari 2020

*Corresponding Author:

November Rianto Aminu
Program Studi Kimia, Fakultas
Sains dan Matematika,
Universitas Kristen Satya
Wacana, Salatiga, Indonesia;
Email:
november.aminu@uksw.edu

Abstrak: Resistensi temephos (abate) sebagai larvasida telah terjadi di Jawa Tengah sejak tahun 2007 dan ditahun 2017 Jawa Tengah tercatat sebagai provinsi dengan jumlah kasus DBD terbanyak ketiga secara nasional. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk memanfaatkan ekstrak daun kenikir (*Cosmos caudatus*) sebagai larvasida pengganti temephos. Proses penelitian dimulai dengan ekstraksi fraksinasi, kemudian dilanjutkan dengan *screening* fitokimia dan uji larvasida menggunakan metode yang direkomendasikan oleh WHOPEs dengan mengamati mortalitas larva nyamuk *A. aegypti* pada jam ke 24, 48 dan 72 pada berbagai konsentrasi larutan uji (600, 800, 1000, 1200, 1400, 1600, dan 1800 ppm). Data mortalitas larva dianalisis dengan menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) subsampling. Perbandingan antar perlakuan diuji dengan uji Beda nyata Jujur (BNJ) dengan tingkat kebermaknaan 5%. Analisa probit pada data mortalitas menghasilkan nilai dosis efektif LC₅₀. Hasil penelitian menunjukkan diantara ketiga fraksi, ekstrak kenikir fraksi heksan memiliki efek larvasida terbaik (mortalitas 71,67%) dengan LC₅₀ sebesar 1762 ppm pada waktu paparan 72 jam. Golongan senyawa kimia yang menyebabkan efek larvasida ini adalah alkaloid, terpenoid, dan flavonoid. Walaupun ekstrak fraksi heksan tanaman ini memiliki efek larvasida, potensi pengembangan tanaman ini sebagai pengganti temepos kecil dikarenakan nilai LC₅₀ yang tinggi pada waktu paparan yang lama.

Kata kunci: Larvasida; temephos; resistensi; *Cosmos caudatus*; potensi

Abstract: Temephos resistance as larvicide has occurred in Central Java since 2007 and in 2017 Central Java was recorded as the 3rd highest dengue cases in Indonesia. Hence, this study attempts to use extract of *Cosmos caudatus* as temephos substitute. The study start with fraction extraction of dried *C. caudatus* leaf followed by phytochemical screening of the extract and larvicide assay was carried out using method recommended by WHOPEs by observing the mortality of *A. aegypti* larvae at 24, 48, and 72 hours on various extract concentration (600, 800, 1000, 1200, 1400, 1600, and 1800 ppm). The mortality data was analyzed using Randomized Block Design (RBD) subsampling (P<0,05). Probit analysis on mortality data result in the LC₅₀. The result showed the most effective fraction is hexane fraction (mortality 71,67%) with LC₅₀ 1762 ppm at 72 hours exposure time. The active compound in the hexane fraction were alkaloid, terpenoids, and flavonoids. Even though the hexane fraction extract has the most larvicidal effect, this extract has low potential to developed as replacement to temephos because the LC₅₀ was high and longtime exposure

Keywords: Larvicide; temephos; resistance; *Cosmos caudatus*; potential

Pendahuluan

Gerakan 3M plus merupakan program pemerintah dalam rangka mencegah penyebaran penyakit Demam Berdarah Dengue (DBD). Kegiatan ini meliputi menutup, menguras dan mengubur benda – benda yang dapat mendukung siklus hidup nyamuk (pengendalian secara biologi dan lingkungan) serta menambahkan abate pada tempat – tempat penampungan air dan pengasapan (pengendalian secara kimiawi). Metode ini dipandang mampu mengurangi kemungkinan penularan DBD hingga batasan tertentu, Namun, pengendalian secara kimiawi yang dilakukan hingga saat ini, sudah tidak efektif lagi.

Damar Tri Boewono dan Widiarti pada tahun 2007 dalam penelitiannya melaporkan malathion dan temephos (senyawa yang pada umumnya dipergunakan untuk pengasapan dan senyawa aktif dalam abate) telah mengalami resistensi di area Yogyakarta dan Jawa Tengah (Damar Tri Boewono & Widiarti, 2007). Hal ini membawa dampak pada jumlah kasus DBD yang muncul pada tahun – tahun berikutnya. Pada tahun 2017, Jawa Tengah tercatat sebagai provinsi dengan jumlah kasus DBD terbanyak ketiga (7400 kasus) se-Indonesia dengan jumlah kematian terbanyak kedua dengan 92 kematian (Pusdatin Kemenkes RI, 2017).

Berdasarkan pemampanan di atas, perlu segera dilakukan pencarian senyawa kimia yang mampu menggantikan peranan temephos sebagai larvasida. Pada penelitian ini, kami menggunakan ekstrak daun kenikir (*Cosmos caudatus*) berbagai fraksi sebagai larvasida nyamuk *A. aegypti* (Gambar 1). Tanaman ini dipilih dikarenakan kandungan senyawa kimia golongan saponin, flavonoid, terpenoid, alkaloid, tannin, dan minyak atsiri yang terkandung didalamnya. Berdasarkan penelitian terdahulu, golongan senyawa kimia tersebut dapat berfungsi sebagai larvasida (Syamsul & Purwanto, 2014).



Gambar 1. Daun Kenikir (*Cosmos caudatus*)

Harapan kami, penelitian ini dapat dijadikan sebagai alternatif rujukan dalam menemukan senyawa pengganti temephos, sehingga dapat membantu menurunkan jumlah kasus DBD di Jawa Tengah. Senyawa pengganti tersebut juga harus ramah lingkungan dan tidak mempengaruhi makhluk hidup non-target.

Bahan dan Metode

Waktu dan tempat

Penelitian ini dilakukan pada bulan Juni – November 2019 di Salatiga, Jawa Tengah. Daun kenikir diperoleh dari daerah Salatiga dan sekitarnya. Penelitian ini akan dilaksanakan pada dua laboratorium. Ekstraksi dan *screening* fitokimia dilaksanakan di Laboratorium Kimia FSM UKSW. Uji larvasida dilakukan di Laboratorium Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Vektor dan Reservoir Penyakit (B2P2VRP), Salatiga. Bahan kimia yang dipergunakan diperoleh dari Laboratorium Kimia FSM UKSW dimana semuanya berderajat pro analisis.

Preparasi Sampel

Daun kenikir yang telah dipisahkan dari batangnya, kemudian dicuci bersih dan dikeringkan dalam *drying cabinet* dengan suhu 50°C selama 24 jam. Sampel yang sudah kering kemudian dihaluskan menggunakan *blender*.

Ekstraksi Sampel dengan menggunakan metode Soxhlet

Daun kenikir yang telah dihaluskan, lalu diambil sejumlah 100 gram sampel dimasukkan kedalam kertas saring. Tahap selanjutnya, ekstraksi dilakukan dengan menggunakan soxhlet melalui 3 tahap menggunakan pelarut nonpolar, semipolar dan polar. Tahap pertama dengan pelarut heksan sebanyak 250 mL selama 5-7 jam untuk mengekstraksi komponen yang bersifat nonpolar. Fraksi heksana diambil, lalu residu diekstraksi kembali menggunakan etil asetat dan metanol berturut-turut. Filtrat yang didapatkan kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator*.

Screening Fitokimia (Harborne, 1987)

Screening fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi zat-zat yang terkandung didalam hasil ekstraksi daun kenikir. *Screening* fitokimia ini dilakukan dalam tiga fraksi yaitu fraksi nonpolar, semipolar, dan polar.

a. Uji Alkaloid

Ekstrak sampel sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 5

tetes kloroform dan beberapa tetes pereaksi Meyer yang dibuat dari 1 gram KI dilarutkan dalam 20 mL akuades sampai semua larut, lalu ke dalam larutan KI tersebut ditambahkan 0,271 gram HgCl₂ sampai larut. Jika terbentuk endapan putih mengindikasikan adanya alkaloid.

b. Uji Terpenoid dan Seteroid

Ekstrak sampel sebanyak 1 mL ditambahkan dengan 1 mL CH₃COOH glasial dan 1 mL larutan H₂SO₄ pekat. Jika berubah menjadi biru atau ungu, menandakan adanya kelompok senyawa seteroid. Jika warna berubah menjadi merah menunjukkan adanya kelompok senyawa terpenoid.

c. Uji Flavonoid

Ekstrak sampel sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan dengan serbuk Mg sebanyak 1 gram dan larutan HCl pekat. Jika terjadi perubahan warna menjadi warna kuning menandakan adanya flavonoid.

d. Uji Tanin dan Polifenol

Beberapa tetes larutan FeCl₃ 10 % ditambahkan ke dalam 1 mL ekstrak. Jika terjadi perubahan warna menjadi warna hijau, merah, ungu, biru, atau hitam menunjukkan keberadaan tanin dan polifenol.

e. Uji Saponin

Ekstrak sampel sebanyak 2 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan dengan air lalu dikocok dengan kuat. Apabila larutan berbuih, menandakan adanya saponin.

f. Uji Fenol

Ekstrak sampel dilarutkan diambil 1 mL, lalu ditambahkan 2-3 tetes HCl dan FeCl₃. Hasil yang positif ditunjukkan dengan warna merah.

g. Uji Glikosida

Ekstrak sampel dilarutkan diambil 1 mL, lalu diuapkan di atas penangas air dan dilarutkan dalam 5 mL asam asetat anhidrida kemudian ditambah 10 tetes asam sulfat pekat. Terbentuknya warna biru atau hijau menunjukkan adanya glikosida.

h. Uji Kuinon

1 mL larutan sampel ditambahkan beberapa tetes larutan NaOH. Apabila terbentuk warna merah menunjukkan adanya kuinon.

Uji Larvasida

Dalam uji tingkat toksisitas dilakukan dengan pengamatan terhadap tingkat kematian larva nyamuk *Aedes aegypti* pada instar IV dalam berbagai konsentrasi pada masing-masing fraksi ekstrak (WHO, 2005). Konsentrasi larutan yang digunakan : 600, 800, 1200, 1400, 1600, dan 1800 ppm pada masing-masing fraksi polar, semi polar, dan nonpolar dengan volume masing-masing larutan sebanyak 20 mL. Larutan tersebut dimasukkan ke dalam wadah yang berisi 10 ekor larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III dan IV. Mortalitas diamati pada 24 jam, 48 jam, dan 72 jam (Liem, 2006) .

Analisis Data

Data analisis dari hasil pengujian larvasida dianalisa dengan menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) Sub Sampling untuk masing-masing fraksi dengan 7 perlakuan, 4 kali ulangan dan 3 subsampling. Sebagai perlakuan adalah konsentrasi larutan. Perbandingan antar perlakuan diuji dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) dengan tingkat kebermaknaan 5% (Steel & Torrie, 1991). Selanjutnya dalam menentukan dosis efektif LC₅₀ digunakan analisa probit (Goulden, 1970).

Hasil dan Pembahasan

Mortalitas dan LC₅₀ Ekstrak Kenikir Berbagai Fraksi Terhadap Larva Nyamuk A. aegypti

Tabel 1 menunjukkan mortalitas larva nyamuk *A. aegypti* Instar 4 pada berbagai konsentrasi ekstrak fraksi Metanol, etil asetat, dan heksana. Hasil pengamatan menunjukkan fraksi metanol dan etil asetat tidak memberikan efek signifikan terhadap mortalitas larva selama waktu pengamatan. Hasil yang diperoleh bertentangan dengan hasil penelitian Wasilah, (2019). Pada penelitian tersebut, ekstrak polar daun kenikir dengan konsentrasi 0,05% (500 ppm) memberikan mortalitas hingga 53% dalam waktu 24 jam, sementara pada penelitian ini ekstrak metanol dan etil asetat dengan konsentrasi 600 – 1800 ppm masih belum memberikan efek larvasida hingga 72 jam pengamatan.

Fraksi heksana menunjukkan peningkatan jumlah mortalitas seiring meningkatnya waktu dan konsentrasi ekstrak (Tabel 1). Hingga waktu pengamatan 48 jam, fraksi heksana masih belum menunjukkan efek mortalitas lebih dari 50% pada berbagai konsentrasi yang diujikan. Mortalitas terbesar (46,47%) pada waktu pengamatan 48 jam diperoleh pada konsentrasi 1600 ppm. Mortalitas fraksi heksan mencapai lebih dari 50% pada konsentrasi 1600 ppm setelah 72 jam terpapar ekstrak.

Tabel 2 menunjukkan nilai LC₅₀, berdasarkan analisa probit, dari berbagai fraksi ekstrak daun kenikir terhadap larva nyamuk *A.aegypti* instar 4. Seiring

berjalannya waktu paparan, nilai LC₅₀ akan semakin mengecil. Data pada Tabel 2 menunjukkan nilai LC₅₀ fraksi heksan memiliki nilai yang lebih rendah jika

dibandingkan fraksi lainnya pada jam pengamatan yang sama.

Tabel 1. Mortalitas Larva *A. aegypti* Instar 4 pada Berbagai Konsentrasi Ekstrak Fraksi Metanol, Etil Asetat, dan Heksana

Waktu (Jam)	Konsentrasi (ppm)	Persentasi mortalitas Larva (rata-rata ± SE)		
		Metanol	Etil Asetat	Heksana
24	600	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a	1,67 ± 1,12 ^a
	800	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a	1,67 ± 1,12 ^a
	1000	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a	1,67 ± 1,12 ^a
	1200	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a	5,00 ± 2,30 ^a
	1400	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a	11,67 ± 1,12 ^b
	1600	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a	23,33 ± 5,12 ^c
	1800	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a	8,33 ± 1,67 ^a
48	600	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a	4,17 ± 1,93 ^a
	800	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a	4,17 ± 3,36 ^a
	1000	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a	2,50 ± 1,31 ^a
	1200	0,00 ± 0,00 ^a	0,83 ± 0,83 ^a	5,00 ± 2,30 ^a
	1400	0,00 ± 0,00 ^a	0,83 ± 0,83 ^a	16,67 ± 2,25 ^a
	1600	0,00 ± 0,00 ^a	0,83 ± 0,83 ^a	46,67 ± 4,49 ^b
	1800	0,00 ± 0,00 ^a	1,67 ± 1,12 ^a	37,50 ± 7,30 ^b
72	600	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a	5,00 ± 1,95 ^a
	800	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a	9,17 ± 3,36 ^a
	1000	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a	3,33 ± 1,42 ^a
	1200	0,00 ± 0,00 ^a	0,83 ± 0,83 ^a	10,00 ± 2,75 ^a
	1400	0,00 ± 0,00 ^a	1,67 ± 1,12 ^a	23,33 ± 2,56 ^b
	1600	0,00 ± 0,00 ^a	0,83 ± 0,83 ^a	71,67 ± 2,41 ^c
	1800	0,00 ± 0,00 ^a	1,17 ± 1,12 ^a	59,17 ± 5,57 ^c

Catatan: Nilai yang diikuti dengan abjad yang sama pada waktu paparan tertentu berarti tidak memiliki perbedaan signifikan. Nilai yang diikuti dengan abjad yang berbeda pada waktu paparan tertentu berarti memiliki perbedaan signifikan. Nilai signifikansi berdasarkan Rancangan Acak Kelompok (RAK) 7x3 diikuti dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) P < 0,05

Tabel 2. Nilai LC₅₀ dari Berbagai Fraksi Ekstrak daun Kenikir terdapat Larva Nyamuk *A.aegypti* instar 4

Fraksi	Waktu (Jam)	LC ₅₀ (ppm)
Metanol	24	-
	48	-
	72	-
Etil Asetat	24	-
	48	-
	72	-
Heksana	24	-
	48	-
	72	1762

Catatan: Tanda (-) berarti nilai LC₅₀ tidak berada pada kisaran konsentrasi yang diujicobakan

Berdasarkan nilai LC₅₀ pada Tabel 2, potensi ekstrak daun kenikir sebagai larvasida sangat kecil.

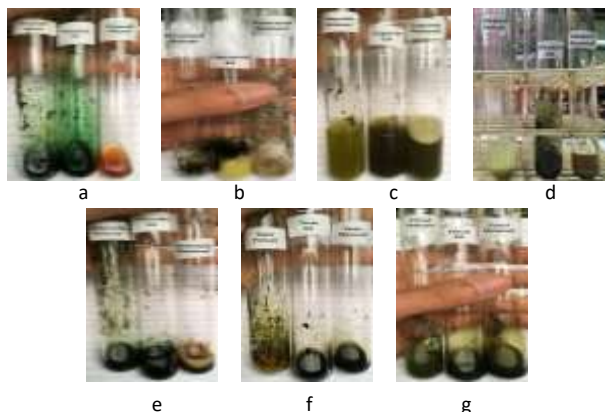
Prijono (1999) menyatakan jika suatu ekstrak memiliki LC₅₀ > 5000 ppm pada pengamatan selama 24 jam, berarti senyawa yang terkandung dalam ekstrak memiliki aktifitas larvasida yang rendah, atau konsentrasi senyawa aktif dalam ekstrak rendah. Hal ini juga dapat berarti ekstrak tersebut akan bernasib sama dengan temephos dan secara ekonomis tidak memiliki keuntungan jika dikembangkan.

Screening Fitokimia

Hasil *screening* fitokimia menunjukkan berbagai golongan senyawa kimia muncul pada masing-masing fraksi (Gambar 2). Hasil ini ditabulasikan dalam Tabel 3. Pada fraksi yang efektif pada penelitian ini (fraksi heksan) dideteksi adanya golongan senyawa alkaloid, flavonoid, dan steroid.

Ketiga golongan senyawa tersebut dapat bekerja secara individu atau bersama-sama memberikan efek

toksitas terhadap larva. Alkaloid berperan sebagai racun yang dapat menurunkan nafsu makan larva (*stop feeding action*) yang pada akhirnya menyebabkan kematian (Soparat, 2010). Terpenoid dan flavonoid bekerja sebagai racun yang menyebabkan rusaknya sistem pernafasan pada larva (Nursal, 2005; Wasilah, 2019). Selain itu flavonoid juga bekerja sebagai penghambat kerja enzim endokrin dan enzim pencernaan sehingga laju pertumbuhan berkurang (Innocent, Joseph, Gikonyo, Nkunya, & Hassanali, 2009).



Gambar 2. Hasil *screening* fitokimia pada masing-masing fraksi, a) Terpenoid; b) Flavonoid; c) Saponin; d) Alkaloid; e) Glikosida; f) Tanin; g) Fenol.

Tabel 3. Golongan Senyawa Kimia dalam Ekstrak Daun Kenikir

Senyawa Fitokimia	Fraksi		
	Metanol	Etil Asetat	Heksana
Alkaloid	+	-	+
Flavonoid	-	+	+
Terpenoid	+	-	-
Steroid	-	+	+
Saponin	+	+	-
Tannin dan Polifenol	+	+	-
Fenol	+	+	-
Glikosida	-	+	+
Kuinon	+	+	-
Jumlah	6	7	4

Catatan: (+) = ada, (-) = tidak ada

Kesimpulan

Pengujian ekstrak daun tanaman kenikir (*Cosmos caudatus*) berbagai fraksi sebagai larvasida nyamuk *Aedes aegypti* instar IV telah dilakukan. Fraksi heksan memberikan tingkat kematian tertinggi dibandingkan

fraksi metanol dan etil asetat pada waktu pengamatan berlangsung. Senyawa yang terkandung dalam fraksi heksan yaitu golongan senyawa alkaloid, terpenoid, dan flavonoid. Ketiga golongan senyawa tersebut, secara individu atau bersama-sama, memberikan efek larvasida. Walaupun demikian analisis probit menunjukkan nilai LC_{50} dari ekstrak ini tinggi sehingga potensi pengembangan ekstrak tanaman ini sebagai larvasida pengganti temephos sangat kecil.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kami sampaikan kepada Laboratorium Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Vektor dan Reservoir Penyakit (B2P2VRP) Salatiga, yang telah menyediakan tempat dan larva nyamuk *A. aegypti* untuk pengujian larvasida. Terima kasih juga kami ucapkan kepada pihak – pihak yang telah mendukung penelitian ini hingga penelitian ini dapat terlaksana dengan baik.

Daftar Pustaka

- Damar Tri Boewono, & Widiarti. (2007). SUSCEPTIBILITY OF DENGUE HAEMORRHAGIC FEVER VECTOR (*Aedes aegypti*) AGAINST ORGANOPHOSPHATE INSECTICIDES (MALATHION AND TEMEPHOS) IN SOME DISTRICTS OF YOGYAKARTA AND CENTRAL JAVA PROVINCES. *Bul. Penel. Kesehatan*, 35(2), 49–56. Retrieved from <https://media.neliti.com/media/publications/66889-EN-susceptibility-of-dengue-haemorrhagic-fe.pdf>
- Goulden, C. H. (1970). *Methods of Statistical Analysis* (Modern Asi). New York: John Wiley & Sons, Inc. ISBN: 1406737070
- Harborne, J. B. (1987). *Metode fitokimia : penuntun cara modern menganalisis tumbuhan / J.B. Harborne; penerjemah Kosasih Padmawinata, Iwang Soediro; penyunting Sofia Niksolihin* (Vol. 1987). Bandung: ITB. ISBN: 9798001141
- Innocent, E., Joseph, C. C., Gikonyo, N. K., Nkunya, M. H. H., & Hassanali, A. (2009). Growth disruption activity of polar extracts from *Kotschyia uguenensis* (Fabaceae) against *Anopheles gambiae* s.s. (Diptera: Culicidae) larvae. *International Journal of Tropical Insect Science*, 28(4), 220–224. <https://doi.org/10.1017/s1742758408108839>
- Liem, L. (2006). Daya Larvasida Ekstrak Etanol Daun Kenikir (*Cosmos caudatus* HBK) Terhadap Larva Nyamuk *Aedes aegypti* L. Serta Analisis Minyak

- Atsirinya.
<http://digilib.ubaya.ac.id/pustaka.php/149759>
- Nursal, S. (2005). *Kandungan Senyawa Kimia ekstrak Daun Lengkuas (Lactuca indica Linn). Toksisitas dan Pengaruh Subletalnya terhadap Mortalitas Larva Nyamuk Aedes aegypti L.* Laporan penelitian pada Universitas Sumatera Utara, Medan: tidak diterbitkan
- Prijono, D. (1999). *Prospek dan strategi pemanfaatan insektisida alami dalam PHT.* (W. Nugroho, Dadang, & D. Prijono, Eds.) (1st ed.). Pusat Kajian Pengendalian Hama Terpadu, IPB. Retrieved from https://www.researchgate.net/publication/318820239_Prospek_dan_strategi_pemanfaatan_insektisida_alami_dalam_PHT
- Pusdatin Kemenkes RI. (2017). InfoDatin Demam Berdarah Dengue 2017. Retrieved from <http://www.pusdatin.kemkes.go.id/download.php?file=download/pusdatin/infodatin/InfoDatin-Situasi-Demam-Berdarah-Dengue.pdf>
- Soparat, S. (2010). *Chemical Ecology and Function of Alkaloid.* Bangkok. Retrieved from <http://pirun.ku.ac.th/g4686045/media/alkaloid.pdf>
- Steel, R. G. D., & Torrie, J. H. (1991). *Prinsip dan prosedur statistika : suatu pendekatan biometrik.* Jakarta: Gramedia Pustaka Utama. ISBN: 0070609259
- Syamsul, E., & Purwanto, E. (2014). Uji AKTIVITAS PERASAN BUAH MENTIMUN (*Cucumis sativus* L) SEBAGAI BIOLARVASIDA TERHADAP LARVA NYAMUK *Aedes aegypti* L. *Jurnal Kimia Mulawarman*, 11(2). <http://jurnal.kimia.fmipa.unmul.ac.id/index.php/JKM/article/view/23>
- Wasilah, Z. (2019). Larvicidal Effect of Kenikir Leaves Extract (*Cosmos caudatus* Kunth.) Against *Aedes aegypti* L. Larvae Vector of Dengue Hemorrhagic Fever, 13(Ichs 2018), 272–278. <https://doi.org/10.2991/ichs-18.2019.37>
- WHO. (2005). Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides. *World Health Organization Communicable Disease Control, Prevention and Eradication Who Pesticide Evaluation Scheme*, 1–41. <https://doi.org/Ref:WHO/CDS/WHOPES/GCDPP/2005.11>