

Potensi Ekstrak Etanol Daun Meniran (*Phyllanthus niruri* L.) sebagai Larvasidal Nyamuk *Aedes aegypti*

Aedes aegypti Mosquito Potential Larvicidal of *Phyllanthus niruri* L. Leaves Ethanol Extracts

Moh. Lutfi Hasbullah¹, Yudha Nurdian², Cholis Abrori³

¹Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Jember

²Laboratorium Parasitologi, Fakultas Kedokteran Universitas Jember

³Laboratorium Farmakologi, Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Jalan Kalimantan No.37, Jember, Indonesia 68121

e-mail korespondensi: mlh.040896@gmail.com

Abstrak

Demam berdarah dengue (DBD) adalah penyakit yang disebabkan oleh virus dengue yang ditularkan oleh nyamuk betina *Aedes aegypti* dengan empat manifestasi klinis utama, yaitu demam tinggi, perdarahan, hepatomegali, dan tanda-tanda kegagalan sirkulasi darah. Indonesia dilaporkan sebagai negara ke-2 dengan kasus DBD terbesar di antara 30 negara wilayah endemis. Bubuk larvasida digunakan sebagai salah satu pengendali vektor virus dengue. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol daun meniran (*Phyllanthus niruri* L.) terhadap kematian nyamuk *Aedes aegypti*. Penelitian ini menggunakan metode *quasi experimental* dengan rancangan *post test only controlled grup design* dengan 1 kelompok kontrol positif (*Temephos*), 1 kelompok kontrol negatif (air ledeng), dan 5 kelompok perlakuan (ekstrak 0,0625%; 0,125%; 0,25%; 0,5%; dan 1%) masing-masing 20 ekor larva *Aedes aegypti* instar III. Hasil penelitian kelompok perlakuan ekstrak dengan konsentrasi 0,5% dan 1% didapatkan 100% larva mati. Hasil uji regresi linear didapatkan pengaruh ekstrak daun meniran terhadap kematian larva *Ae. aegypti* dengan nilai R^2 sebesar 65,2%. Aktivitas larvasida ekstrak etanol daun meniran terhadap larva *Ae. aegypti* instar III berbanding lurus dengan konsentrasi dengan nilai LC_{50} sebesar 0,174% dengan interval kepercayaan 95% (0,155-0,195).

Kata kunci : ekstrak etanol daun meniran, DBD, larva *Aedes aegypti*

Abstract

Dengue hemorrhagic fever (DHF) is a disease caused by dengue virus transmitted by Aedes aegypti female mosquitoes with four major clinical manifestations, such as high fever, hemorrhage, hepatomegaly, and signs of circulatory failure. Indonesia was reported as the 2nd country with the largest dengue cases among 30 endemic countries. The larvicidal powder is used as one of the dengue virus vector controllers. This study aims to determine the effect of ethanol extract of small gooseberry leaves (Phyllanthus niruri L.) to the death of Aedes aegypti mosquitoes. This study used quasi experimental method with post test only controlled group design with 1 positive control group (Temephos), 1 group of negative control (tap water), and 5 treatment groups (0.0625%, 0.125%, 0.25%, 0.5% and 1% extract) used 20 larvae of Aedes aegypti instar III each group. The results of the treatment group extract with a concentration of 0.5% and 1% obtained 100% dead larvae. The result of linear regression test showed the effect of meniran leaf extract on the death of larvae Ae. aegypti with R^2 value of 65.2%. The larvicid activity of ethanol extract leaves meniran against larvae Ae. aegypti instar III was directly proportional to concentration with LC_{50} of 0.174% with 95% confidence interval (0.155-0.195).

Keywords: ethanol extract of small gooseberry leaves, DHF, *Aedes aegypti* larvae

Pendahuluan

Berdasarkan data Profil Kesehatan Indonesia tahun 2015, jumlah penderita DBD pada tahun 2015 mengalami peningkatan dibandingkan tahun 2014. Jumlah penderita DBD di Jawa Timur pada Januari 2015 terjadi kenaikan cukup tinggi mencapai 21.266 orang. Jumlah kasus DBD di Jember pada Januari 2017, tercatat sebanyak 70 kasus DBD, kemudian Februari menurun menjadi 64 kasus, dan pertengahan Maret ini tercatat sekitar 20 kasus (Nurdian dan Lelono, 2008; Solichah, 2017; Kementerian Kesehatan RI, 2017).

Demam berdarah dengue (DBD) adalah salah satu penyakit yang diterapi secara suportif dan ditunjukkan dengan empat manifestasi klinis utama yaitu demam tinggi, manifestasi perdarahan, sering dengan hepatomegali, dan tanda-tanda kegagalan sirkulasi darah. Demam berdarah dengue (DBD) disebabkan oleh virus dengue yang ditularkan oleh nyamuk betina *Aedes aegypti* dan Indonesia dilaporkan sebagai negara ke-2 dengan kasus DBD terbesar diantara 30 negara wilayah endemis.

Penggunaan zat kimia alami yang berasal dari tumbuhan (bioinsektisida) sudah dianjurkan WHO sejak tahun 1985 karena memiliki sifat yang mudah terurai (*biodegradable*) dibandingkan insektisida kimiawi. Ada beberapa bahan aktif pada tumbuhan yang memiliki sifat racun terhadap larva nyamuk penyebab DBD, seperti minyak atsiri, anonin, saponin, flavonoid, tanin, dan alkaloid. Meniran (*Phyllanthus niruri* L.) juga merupakan salah satu tanaman mengandung bahan aktif untuk membunuh larva nyamuk vektor penyebab penyakit DBD (Masrurroh *et al.*, 2014). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol daun meniran (*Phyllanthus niruri* L) terhadap kematian nyamuk *Aedes aegypti*.

Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode *quasi experimental* dengan rancangan *post test only controlled group design*. Sampel menggunakan larva *Aedes aegypti* instar III yang dibagi dalam 7 kelompok yaitu, 1 kontrol positif (*Temephos*), 1 kontrol negatif (air ledeng), dan 5 kelompok perlakuan (ekstrak 0,0625%, 0,125%, 0,25%, 0,5%, dan 1%) yang masing-masing kelompok diulang sebanyak 4 kali. Jumlah sampel larva *Aedes aegypti* pada masing-masing kelompok adalah 20 ekor. Setelah 24 jam perlakuan, dilakukan observasi jumlah kematian larva *Aedes aegypti*. Kemudian dilakukan analisis data dengan uji normalitas *Shapiro-wilk*, uji regresi dan uji *probit*.

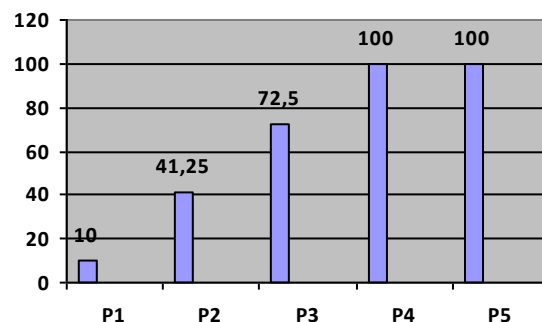
Hasil Penelitian

Setelah perlakuan selama 24 jam, didapatkan hasil jumlah kematian larva *Ae. aegypti* pada masing-masing kelompok dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1 Jumlah kematian larva *Ae. aegypti* setelah 24 jam perlakuan pada penelitian

Kelompok	Perlakuan	Rata-Rata±SD	Persentase Larva Mati (%)
KP	<i>Temephos</i> 1%	20	100%
KN	Air Ledeng	0	0%
P1	Ekstrak 0,0625%	2±0,816	10%
P2	Ekstrak 0,125%	8,25±1,708	41,25%
P3	Ekstrak 0,25%	14,5±1,291	72,5%
P4	Ekstrak 0,5%	20	100%
P5	Ekstrak 1%	20	100%

Berdasarkan hasil penelitian, pada kelompok kontrol positif didapatkan jumlah larva yang mati mencapai 100% sedangkan pada kelompok kontrol negatif didapatkan hasil tidak ada larva yang mati. Pada kelompok dengan pemberian ekstrak daun meniran konsentrasi 0,5% dan 1%, didapatkan jumlah kematian larva mencapai 100%. Persentase kematian larva *Ae. aegypti* pada kelompok penelitian yang diberikan ekstrak daun meniran setelah 24 jam perlakuan dapat dilihat pada Gambar 1 berikut.



Gambar 1. Persentase kematian larva *Ae. aegypti*

Analisis data dilakukan pada data hasil penelitian pada kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak daun meniran. Hasil uji normalitas *Shapiro-Wilk* pada P1, P2, dan P3, diperoleh nilai $p > 0,05$

sedangkan p pada P4 dan P5 tidak keluar karena memiliki hasil yang konstan atau sama. Distribusi data dianggap normal apabila pada semua konsentrasi memiliki nilai $p > 0,05$ (Dahlan, 2011). Hasil uji normalitas dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Tes normalitas *Shapiro-Wilk*

Tests of Normality ^{b,c}			
Shapiro-Wilk			
	Statistic	df	Sig.
P1	.945	4	.683
P2	.971	4	.850
P3	.993	4	.972

- a. Lilliefors Significance Correction
- b. P4 is constant. It has been omitted.
- c. P5 is constant. It has been omitted.

Selanjutnya dilakukan analisis dengan uji regresi linear untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun meniran terhadap kematian larva *Ae. aegypti* dan diperoleh $R^2 = 0,652$ yang berarti pengaruh ekstrak daun meniran terhadap jumlah kematian larva *Ae. aegypti* sebesar 65,2%. Dari uji regresi linear, didapatkan persamaan $y = 12,95 + 4,38x$ dimana y menunjukkan jumlah kematian larva dan x menunjukkan konsentrasi ekstrak daun meniran (Dahlan, 2011). Hasil uji regresi linear dapat dilihat pada Gambar 2.

Uji regresi *probit* digunakan untuk menentukan LC_{50} yang menyebabkan kematian 50% total larva uji dari semua perlakuan. Hasil dari uji regresi *probit* didapatkan nilai LC_{50} sebesar 0,174% dengan interval kepercayaan 95% (0,155–0,195) sehingga LC_{50} pada penelitian ini bernilai signifikan (Dahlan, 2011). Hasil uji analisis *Probit* dapat dilihat pada Tabel 3.

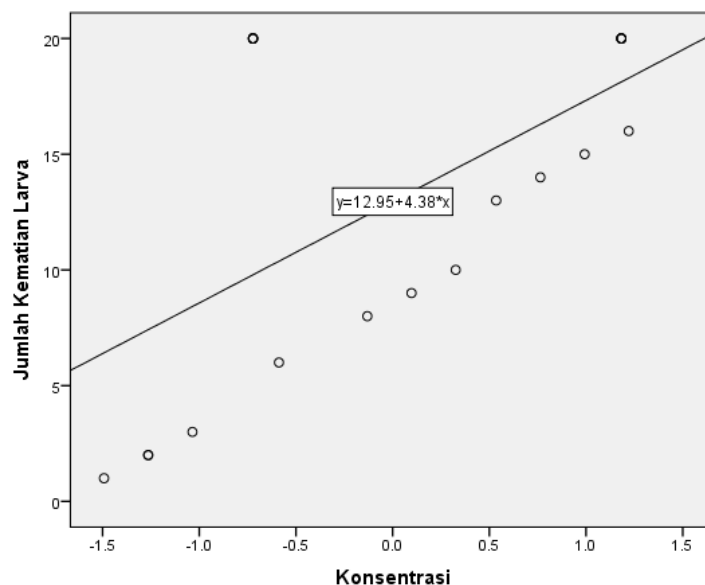
Tabel 3. Hasil uji analisis *Probit*

Probability	95% Confidence Limits for KONSENTRASI		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
.400	.147	.127	.166
.450	.161	.142	.180
.500	.174	.155	.195
.550	.188	.169	.211
.600	.202	.182	.227
.650	.216	.195	.244

Pembahasan

Penelitian ini menggunakan ekstrak etanol daun meniran (*P. niruri* L.) sebagai larvasida nabati terhadap larva *Ae. aegypti* instar III. Penelitian bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun meniran terhadap kematian larva *Ae. aegypti*. Sebelum melakukan uji sebenarnya, peneliti melakukan uji pendahuluan dengan konsentrasi 0,0625%, 0,125%, 0,5%, 1%, 2%, 5%, dan 25%. Dari uji pendahuluan diperoleh konsentrasi yang digunakan pada uji sebenarnya, 0,0625%, 0,125%, 0,125%, 0,5%, dan 1%.

Pada penelitian ini terdapat 7 kelompok yang terdiri dari 5 kelompok perlakuan, 1 kelompok positif dan 1 kelompok negatif yang setiap kelompoknya berisi 20 larva tiap 100ml dengan 4 kali pengulangan. Pada kelompok kontrol positif, didapatkan kematian larva *Ae. aegypti* mencapai 100%. Kontrol positif pada penelitian ini menggunakan larvasida yang umum digunakan untuk mengendalikan populasi nyamuk vektor di masyarakat yaitu *temephos* yang termasuk dalam golongan organofosfat dan bekerja pada sistem saraf larva yaitu dengan menghambat enzim asetilkolinesterase, struktur organofosfat meniru struktur asetilkolinesterase sebagai substrat dari



Gambar 2. Hasil persamaan uji regresi

enzim asetilkolinesterase akibatnya akumulasi asetilkolinesterase yang berlebihan dan menyebabkan penurunan koordinasi otot, konvulsi serta kematian nyamuk (Lesmana, 2010; Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2012).

Pada kelompok kontrol negatif yang diberikan air ledeng dan DMSO, tidak terdapat larva *Ae. aegypti* yang mati. Hal ini membuktikan bahwa DMSO aman sebagai pelarut dari ekstrak daun meniran karena tidak menimbulkan kematian pada sampel uji. Suhu untuk tempat perkembang biakan nyamuk *Ae. argypti* berkisar antara suhu 25 °C–27 °C dan pH normal untuk perkembangan nyamuk dari bertelur sampai menjadi pupa berkisar antara 4–9. Air ledeng atau air sumur memiliki suhu 26 °C dan pH 5–6 sehingga air ledeng atau air sumur menjadi tempat yang optimal untuk larva *Ae. aegypti* (Adifian *et al.*, 2013; Lesmana, 2017).

Pada kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak daun meniran, terdapat larva *Ae. aegypti* yang mati sehingga membuktikan bahwa ekstrak daun meniran memiliki aktivitas larvasida terhadap larva *Ae. aegypti*. Ekstrak daun meniran mengandung zat aktif seperti alkaloid, flavonoid, dan tanin. Biolarvasida membunuh serangga melalui berbagai cara, diantaranya sebagai racun kontak yang masuk melalui kulit atau dinding tubuh, maupun sebagai racun perut atau mulut yang masuk melalui alat pencernaan (Minarni *et al.*, 2013).

Flavonoid berfungsi sebagai inhibitor pernapasan atau sebagai racun pernapasan sehingga menghambat sistem pernapasan nyamuk yang dapat mengakibatkan nyamuk *Ae. aegypti* mati. Flavonoid masuk ke dalam tubuh larva melalui sistem pernapasan yang kemudian akan menimbulkan kelayuan pada saraf serta kerusakan pada sistem pernapasan dan mengakibatkan larva tidak bisa bernapas dan akhirnya mati. Posisi tubuh larva yang berubah dari normal bisa juga disebabkan oleh senyawa flavonoid yang masuk melalui *siphon* dan mengakibatkan kerusakan sehingga larva harus mensejajarkan posisinya dengan permukaan air untuk memudahkan dalam mengambil oksigen (Gautar *et al.*, 2013).

Alkaloid merupakan senyawa yang berfungsi sebagai inhibitor enzim asetilkolinesterase yang menyebabkan kelumpuhan otot *Ae. aegypti* seperti cara kerja organofosfat dan menghambat proses metamorfosis pada larva dengan cara menghambat proses pengelupasan kulit (*molting*) seperti cara kerja *Insect Growth Regulator* (IGR). Kelumpuhan otot tidak hanya berpengaruh terhadap pergerakan larva saja, akan tetapi dalam waktu yang lama kelumpuhan otot juga akan berpengaruh terhadap pencernaan larva. Otot-

otot pada sistem pencernaan larva *Ae. aegypti* tidak berfungsi, akibatnya. Larva tidak dapat melakukan aktifitasnya dalam mencerna makanan dikarenakan tidak berfungsinya organ pencernaan yang membuat larva *Ae. aegypti* semakin lemas dan pada akhirnya mati. Penghambatan metamorfosis disebabkan oleh adanya penolakan dan pembelokan (*blocking*) pada sistem endokrin (neuroendokrin), sehingga menghambat sintesis ecdison dalam jaringan. Blocking pada sistem endokrin ini terjadi karena alkaloid bertindak sebagai analog hormon juvenil, alkaloid mampu berikatan dengan JHBP (*juvenile hormone binding protein*) atau mengganggu jalur sinyal ekdisteroid untuk gen aktivasi dari ekdisteroid dalam sel target. Dengan kata lain, alkaloid menghambat perubahan dari ekspresi gen di sel target yang diinduksi oleh ecdison untuk kebutuhan metamorfosis. Hal ini dapat menghambat proses *molting* dan gangguan pertumbuhan, bahkan menyebabkan kematian pada larva *Ae. aegypti* (Sandika *et al.*, 2012; Minarni *et al.*, 2013).

Tanin dapat menyebabkan penurunan aktivitas enzim protease dalam mengubah asam-asam amino. Senyawa tanin dapat mengikat enzim protease yang menghambat kerja dari enzim tersebut, sehingga proses metabolisme sel dapat terganggu dan larva akan kekurangan nutrisi. Hal ini dapat mengakibatkan pertumbuhan larva terhambat dan jika proses ini berlangsung secara terus menerus maka akan berdampak pada kematian larva. Selain itu tanin dapat mengganggu serangga dalam proses mencerna makanan karena tanin akan mengikat protein dalam sistem pencernaan yang dibutuhkan larva untuk pertumbuhan sehingga proses penyerapan protein dalam sistem pencernaan menjadi terganggu. Namun teori dasar pembentukan kompleks protein-tanin belum sepenuhnya diketahui. Susunan tanin yang kompleks dan bervariasi merupakan salah satu faktor kesulitan dalam mempelajari kompleks protein-tanin (Tandi, 2010).

Berdasarkan analisis data yang telah dilakukan, terdapat sebaran data jumlah kematian larva *Ae. aegypti* yang normal. Kelompok P1, P2, dan P3 memiliki nilai p lebih dari 0,05 sedangkan p pada P4 dan P5 tidak keluar karena memiliki hasil yang konstan atau sama (Gambar 4,2). Distribusi data dianggap normal apabila pada semua konsentrasi memiliki nilai $p > 0,05$ (Dahlan, 2011).

Hubungan ekstrak daun meniran terhadap jumlah kematian larva *Ae. aegypti* bernilai positif, yang berarti semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun meniran semakin besar pula jumlah kematian larva *Ae. aegypti*. Saat ditinjau dari kenaikan

konsentrasi, maka jelas terlihat bahwa kelompok perlakuan dengan konsentrasi 0,5% dan 1% menunjukkan kematian jumlah larva *Ae. aegypti* yang setara atau sama. Penggunaan zat kimia alami yang berasal dari tumbuhan (bioinsektisida) sudah dianjurkan WHO sejak 1985 karena memiliki sifat yang mudah terurai (*biodegradable*). (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2012; Untung, 2004).

Hasil analisis Larva *Ae. aegypti* yang mati pada penelitian ini, sebanyak 65,2% disebabkan oleh ekstrak daun meniran. Sedangkan sisanya dapat disebabkan oleh hal lain, seperti salah satunya suhu ruangan berbeda dengan tempat perindukan awal dan kesehatan larva yang tidak bisa disamakan atau diperiksa (Wahyuni, 2016).

Hasil LC_{50} ekstrak daun meniran terhadap larva *Ae. aegypti* adalah 0,174% pada interval kepercayaan 95% (0,155-0,195). *Temephos* memiliki nilai LC_{50} 0,169% yang artinya ekstrak daun meniran memiliki nilai LC_{50} yang mendekati *temephos* dalam membunuh larva. Semakin rendah nilai LC_{50} suatu larvasida alami maka, semakin baik pula efektifitasnya karena dengan bahan baku yang sedikit dapat menghasilkan daya larvasida yang tinggi, selain itu larvasida nabati lebih ramah lingkungan (Untung, 2004, Fuadzy *et al.*, 2015).

Peneliti menyarankan perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai uji efektivitas ekstrak daun meniran terhadap larva *Ae. aegypti* dengan menggunakan bagian lain dari tanaman meniran, seperti biji, kulit batang atau akar. Selain itu, perlu dilakukan penelitian tentang residu, penggunaan, dan batas konsentrasi aman ekstrak daun meniran (*Maximum Allowable Toxicant Concentration* atau MATC) terhadap larva *Ae. aegypti* dalam skala yang lebih luas serta penggunaan ekstrak daun meniran sebagai alternatif pengendalian vektor pada stadium pupa serta nyamuk dewasa *Ae. aegypti* dan pada spesies nyamuk lain.

Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilaksanakan, dapat diambil kesimpulan bahwa ekstrak etanol daun meniran (*P. niruri* L.) memiliki aktivitas larvasida terhadap larva *Ae. aegypti* instar III berbanding lurus dengan konsentrasi. LC_{50} ekstrak daun meniran terhadap larva *Ae. aegypti* instar III adalah 0,174% dengan interval kepercayaan 95% (0,155-0,195).

Ucapan Terimakasih

Pada kesempatan ini peneliti mengucapkan terimakasih kepada Departemen Penyakit Tropis

Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga atas fasilitas dan bantuan yang diberikan hingga terlaksananya penelitian ini.

Daftar Pustaka

- Adifian, H. Ishak, R.L. Ane. 2013. Kemampuan Adaptasi Nyamuk *Aedes Aegypti* Dan *Aedes Albopictus* Dalam Berkembang Biak Berdasarkan Jenis Air. *Skripsi*. Makassar: Fakultas Kesehatan Masyarakat.
- Dahlan, M.S. 2011. *Statistika untuk Kedokteran dan Kesehatan*. Edisi 5. Jakarta: Penerbit Salemba Medika.
- Fuadzy, H., D.N. Hodijah, A. Jajang, M. Widawati. 2015. Kerentanan Larva *Aedes Aegypti* Terhadap Temefos Di Tiga Kelurahan Endemis Demam Berdarah Dengue Kota Sukabumi. *Buletin Penelitian Kesehatan*. 43(1): 41-46S.
- Gautar, Kumar, dan Poonia. 2013. Larvicidal activity and GC-MS analysis of flavonoids of *Vitex negundo* and *Andrographis paniculata* against two vector mosquitoes *Anopheles stephensi* and *Aedes aegypti*. *J Vector Borne*. 50(9): 171-178.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2012. *Pedoman Penggunaan Insektisida (Pestisida) dalam Pengendalian Vektor*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2017. *Data dan Informasi Profil Kesehatan Indonesia 2016*. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI.
- Lesmana, A.W. 2017. Uji Aktivitas Ekstrak Daun Sirsak (*Annona Muricata* Linn) Pada Caplak (*Boophilus Microplus*) Berdasarkan Waktu Kematian (*In Vitro*). *Skripsi*. Makasar: Program Studi Kedokteran Hewan.
- Lesmana, S.D. 2010. Resistensi *Aedes aegypti* Terhadap Insektisida. *Jurnal Ilmu Kedokteran*. 4(1): 10-13.
- Masruroh, E., Tukiran, Suyatno, dan N. Hidayati. 2014. Analisis Awal Fitokimia Pada Tanaman Meniran. 20 September 2014. *Prosiding Seminar Nasional Kimia*: 252-258.
- Minarni, E., T. Armansyah, M. Hanafiah. 2013. Daya Larvasida Ekstrak Etil Asetat Daun Kemuning (*Murraya paniculata* (L) Jack) terhadap Larva Nyamuk *Aedes aegypti*. *Jurnal Medika Veterinaria*. 7(1): 27-29.

- Nurdian, Y., dan A. Lelono. 2008. Prediction of Distribution Pattern of *Aedes aegypti* as DHF Main Vector in Jember. *Folia Medica Indonesiana*. 44: 11-14.
- Sandika, Bayu, Raharjo, dan D. Nur. 2012. Pengaruh Pemberian Air Rebusan Akar Delima (*Punica granatum* L.) terhadap Mortalitas *Ascarissuum* Goesze. secara In Vitro. *LenteraBio*.1(2): 81-86.
- Solichah, Z. 2017. Penderita DBD di Jember Capai 460 Orang. http://www.antarajatim.com/berita/187212/penderita-dbd-di-jember-capai-460-orang?utm_source=fly&utm_medium=related&utm_campaign=news. [Diakses pada 14 Mei 2017].
- Tandi, E.J. 2010. Pengaruh Tanin terhadap Aktivitas Enzim Protease. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Fakultas Peternakan UNHAS.
- Untung, K. 2004. *Manajemen Resistensi Pestisida Sebagai Penerapan Pengelolaan Hama Terpadu*. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.
- Wahyuni, D. 2016. *Toksisitas Ekstrak Tanaman sebagai Bahan Dasar Biopeptisida Baru Pembasmi Larva Nyamuk Aedes aegypti (Ekstrak Daun Sirih, Ekstrak Biji Pepaya, dan Ekstrak Biji Srikaya Berdasarkan Hasil Penelitian)*. Malang: Media Nusa Creative.
- World Health Organization. 2005. *Guidelines for Laboratory and Field Testing Mosquito Larvicides*. Geneva: WHO Press.
- World Health Organization. 2010. *Generic Risk Assessment Model for Insecticides Used for Larviciding*. Geneva: WHO Press.