

Toksisitas Ekstrak Terpurifikasi Daun Buas-Buas (*Premna serratifolia* L.) terhadap Mortalitas Larva Nyamuk *Culex* sp.

Ulmiyatul Alifiah Zahroh¹, Dwi Wahyuni^{1*}, Mochammad Iqbal¹

Program Studi Pendidikan Biologi, Jurusan Pendidikan MIPA, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Jember (UNEJ)
Jalan Kalimantan no.30 Kampus Tegal Boto Jember Jawa Timur 68121

Abstract: *Culex* sp. is a vector of filariasis. Vector control mostly uses chemical insecticides which have a negative impact. Buas-buas plants (*Premna serratifolia* L.) are one of the plants that have the potential as an alternative to the use of chemical insecticides that have been widely used (as botanical insecticides). Buas-buas leaves (*Premna serratifolia* L.) contain alkaloids, flavonoids, saponins, and tannins. This study aimed to test the toxicity of the purified extract of buas-buas leaf (*Lethal concentration* 50) on the mortality of *Culex* sp. larvae with an exposure time of 24 hours. Serial concentrations of purified extract used were 850, 1350, 1850, 2350, and 2850 ppm with four repetitions. Each treatment used 20 *Culex* sp. late three to early four instars. Toxicity testing of *Culex* sp. gives an LC₅₀ result of 1799.77 ppm..

Kata Kunci: *Culex* sp.; *Premna serratifolia* L. ; Terpurifikasi; Toksisitas

PENDAHULUAN

Nyamuk genus *Culex* merupakan nyamuk yang banyak terdapat di sekitar kita yang spesiesnya terbukti berperan sebagai vektor penyakit salah satunya penyakit filariasis (Rachmawati,2013; Putri et al., 2017). Filariasis (penyakit kaki gajah) merupakan salah satu di antara penyakit menular yang masih menjadi masalah kesehatan masyarakat Indonesia (Nombe dan Binawari, 2017).

Berdasarkan info yang dipaparkan oleh Kementerian Kesehatan Tahun 2019 filariasis masih berjangkit di sebagian besar wilayah Indonesia. Tahun 2018 terdapat 10.681 kasus filariasis yang tersebar di 34 provinsi. Provinsi Jawa Timur sampai tahun 2018 terhitung 412 kasus filariasis tersebar di 38 kabupaten,123 kecamatan, dan 152 desa (Dinkes Jatim, 2018). Walaupun tidak banyak terjadi, namun penyakit ini dapat menyebabkan kecacatan seumur hidup dikarenakan berkurangnya kemampuan kerja seseorang (Wijayanti et al., 2018).

Insektisida kimia paling banyak digunakan untuk pengendalian vektor karena dianggap efektif, praktis, manjur dan dari segi ekonomi lebih menguntungkan (Ahdiyah, 2015). Namun, penggunaan insektisida sintetik dapat berdampak buruk bagi kesehatan manusia, kontaminasi tanaman, pencemaran lingkungan, keseimbangan ekologi, dan juga

¹ E-mail: dwiwahyuniwiwik.fkip@unej.ac.id

P-ISSN: 1411-5433

E-ISSN: 2502-2768

© 20XX Saintifika; Jurusan PMIPA, FKIP, Universitas Jember

<http://jurnal.unej.ac.id/index.php/STF>

menyebabkan serangga menjadi resisten bahkan dapat menyebabkan mutasi gen (Kuncoro et al, 2015). Ketidaktahuan akan adanya resistensi, menimbulkan dampak negatif lain akibat residu insektisida yang digunakan akan masuk ke sistem lingkungan dan sampai ke rantai makanan hingga kembali ke manusia (Sukmawati et al., 2018). Maka perlu pengembangan insektisida baru yang lebih selektif, aman, dan mudah terurai (biodegradable) di alam (M. Susanti et al., 2015; Lenoni et al., 2019).

Upaya yang dapat dilakukan yaitu dengan memanfaatkan tanaman sekitar sebagai bioinsektisida atau larvasida alami. Tanaman buah-buas (*Premna serratifolia* L.) merupakan tanaman yang dapat dikonsumsi dan berkhasiat sebagai obat. Bagian tanaman yang sering digunakan yaitu daun (Lestari et al., 2014). Kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada daun buah-buas (*Premna serratifolia* L.) seperti flavonoid, alkaloid, tanin, steroid, saponin, terpenoid, dan fenolik (Shukri et al., 2011; Wahyuni et al., 2014; Tonius et al., 2016). Berdasarkan kandungan metabolit sekunder yang terkandung pada tanaman buah-buas, ada beberapa senyawa yang diketahui dapat memiliki aktivitas larvasida, antara lain alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin (Apriangga, 2014; M. Susanti et al., 2015).

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa daun buah-buas dapat dikembangkan sebagai bioinsektisida. Penelitian oleh Lestari (2014) menyatakan bahwa konsentrasi $LC_{50-24jam}$ ekstrak metanol daun *P. serratifolia* adalah 2.691,53 ppm terhadap mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* sedangkan ekstrak n-heksan sebesar 2.818,38 ppm. Ekstrak metanol daun *P. serratifolia* dalam penelitian ini lebih toksik dibandingkan ekstrak n-heksan. Semakin rendah nilai $LC_{50-24jam}$ suatu zat maka semakin toksik dalam membunuh hewan uji (Moehammadi, 2005). Berdasarkan penelitian di atas, dapat diketahui bahwa ekstrak daun buah-buas toksik terhadap mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti*, sehingga ekstrak daun buah-buas dianggap berpotensi sebagai larvasida terhadap jenis nyamuk lain yaitu larva nyamuk *Culex* sp. karena belum pernah dilakukan.

Pembuatan ekstrak dari suatu tanaman, seringkali menghasilkan ekstrak yang mengandung senyawa yang tidak diinginkan seperti zat warna (pigmen) klorofil, karbohidrat, lilin, resin, dan sejenisnya. Keberadaan senyawa tersebut tersebut lebih banyak merugikan seperti pada kestabilannya dan mengurangi efektivitas senyawa aktif di dalam ekstrak sehingga harus dihilangkan (Armadany et al., 2014; Awwalita, 2016). Penghilangan zat ballast sebagai pengganggu seperti lemak, klorofil dan lain-lain pada

ekstrak dapat dilakukan dengan purifikasi ekstrak (Wijayanti et al., 2018). Purifikasi ekstrak diharapkan toksisitas ekstrak sebagai *repellant* semakin besar.

METODE PENELITIAN

Tahap Identifikasi Larva Uji

Tahap identifikasi larva uji dilakukan melalui pengamatan secara makroskopis yakni dengan mengamati fase istirahat larva dan secara mikroskopis yakni dengan melihat morfologi larva meliputi warna bentuk, ukuran dan duri-duri lateral dengan bantuan alat yaitu mikroskop.

Tahap Pemeliharaan

Larva nyamuk *Culex* sp. yang didapatkan dan diidentifikasi, kemudian diletakkan di toples dengan aquadest agar beradaptasi di lingkungan Laboratorium Toksikologi Program Studi Pendidikan Biologi Universitas Jember. Selama pemeliharaan pemberian pakan pada larva dilakukan dengan pemberian pellet ikan yang dihaluskan dengan mortar dan pistil. Melakukan pengamatan setiap hari untuk mengetahui proses pergantian kulit, sehingga dapat ditentukan stadium larva dengan menghilangkan lapisan yang terbentuk dibagian permukaan air dengan menggunakan pipet dan kertas saring. Larva dipelihara sampai instar III akhir sampai IV awal dan siap digunakan sebagai larva uji. Larva uji yang digunakan adalah larva yang terseleksi dan ukuran tubuh homogen pada stadium larva instar III akhir sampai IV awal dengan kriteria sehat dan gerakan yang lincah.

Tahap Pembuatan Ekstrak Terpurifikasi Daun Buas-Buas (*Premna serratifolia* L.)

Tahap pembuatan ekstrak daun buas-buas diawali dengan persiapan pemilihan daun buas-buas dengan cara menyortir yaitu kualitas yang baik, berwarna hijau, dan tidak rusak fisik oleh parasit. Dikeringanginkan hingga berat kering stabil (tidak ada kandungan air), setelah itu di oven untuk memastikan benar-benar kering selama 2-3 jam. Kemudian menghaluskan sampel menggunakan blender kering hingga menjadi serbuk. Menimbang serbuk sebanyak 400 gram dan memasukkan ke dalam toples kaca maserasi. Kemudian ditambahkan etanol 96% sebanyak 2 L, diaduk sampai homogen dengan menggunakan spatula dan ditutup di maserasi selama 3 x 24 jam. Hasil maserasi disaring dengan menggunakan corong Buchner yang dialasi dengan kertas saring agar endapan daun buas-buas tidak ikut kembali. Hasil saringan diatas kemudian dimasukkan dalam labu destilasi

dan dirangkai sedemikian rupa dengan alat rotary evaporator untuk memisahkan etanol dengan ekstrak daun buas-buas sehingga dihasilkan ekstrak etanol buas-buas. Mengatur suhu 50°C dan 60 RPM (Revolutions Per Menit), Ekstrak yang telah berhasil dibuat dipurifikasi menggunakan pelarut n-heksan. Purifikasi dilakukan dengan melarutkan ekstrak dalam etanol 96% dengan perbandingan 1:10 dan dimasukkan kedalam corong pisah gojok hingga homogen. Kemudian ditambahkan n-heksan dengan perbandingan 1:10 larutkan hingga homogen, digojog selama 5 menit kemudian didiamkan hingga terbentuk dua lapisan. Lapisan n-heksan dipisahkan, dan dilakukan pengulangan sampai fase n-heksan berwarna bening. Larutan hasil pemisahan yaitu fase etanol yang diperoleh selanjutnya dipekatkan dengan dievaporasi sehingga didapatkan ekstrak terpurifikasi pindahkan dalam gelas sloki disimpan di dalam lemari es yang siap digunakan sebagai larvasida.

Uji Toksisitas Ekstrak Terpurifikasi Daun Buas-Buas (*Premna serratifolia* L.)

Konsentrasi ekstrak terpurifikasi daun buas-buas yang digunakan adalah konsentrasi 850 ppm, 1350 ppm, 1850 ppm, 2350 ppm, 2850 ppm dan akuades sebagai control. Memasukkan secara perlahan 20 ekor larva uji menggunakan pipet kedalam tiap larutan konsentrasi, kemudian ditutup dengan menggunakan kasa. Melakukan pengamatan terhadap jumlah larva yang mati dengan cara menyentuh batang lidi lentur dengan larva uji dan diamati pergerakannya. Pengamatan dilakukan selama 24 jam.

Analisis Data

Data mortalitas larva akibat ekstrak terpurifikasi daun buas-buas (*Premna serratifolia* L.) dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Mortalitas} = \frac{\text{Jumlah larva yang mati}}{\text{Jumlah larva yang di uji}} \times 100\%$$

Apabila mortalitas larva nyamuk kontrol sebesar 5-20% maka dilakukan koreksi persentase dengan menggunakan rumus Abbot :

$$A_1 = \frac{A-B}{100-B} \times 100\%$$

Keterangan:

A₁: Presentase setelah koreksi

A : Presentase kematian larva uji

B : Presentase kematian larva kontrol

Jika persentase mortalitas larva nyamuk kontrol > 20% maka pengujian dianggap gagal dan harus diulang kembali. Data yang diperoleh adalah data mortalitas larva *Culex* sp. pada 24 jam.. Analisis data yang digunakan untuk menentukan LC₅₀ selama waktu dedah 24 jam yaitu analisis probit dengan software *Minitab 20 for windows*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Mortalitas larva *Culex* sp. semakin meningkat dengan konsentrasi ekstrak terpurifikasi daun buah-buhas (*Premna serratifolia* L.) Berdasarkan Tabel 1. menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak terpurifikasi daun buah-buhas (*Premna serratifolia* L.) maka semakin tinggi rerata persentase mortalitas larva nyamuk *Culex* sp.. Mortalitas larva nyamuk *Culex* sp. terendah yaitu pada konsentrasi 850 ppm dengan rerata dan standar deviasi sebesar $3 \pm 2,886$, sedangkan mortalitas larva nyamuk *Culex* sp. tertinggi yaitu pada konsentrasi 2850 ppm dengan rerata dan standar deviasi sebesar $95 \pm 4,082$.

Tabel 1. Mortalitas Larva Nyamuk *Culex* sp. dalam Waktu Dedah 24 Jam.

Konsentrasi (ppm)	Mortalitas Larva Nyamuk <i>Culex</i> sp. (%)				Rerata \pm SD
	Ulangan				
	1	2	3	4	
Kontrol (-)	0	0	0	0	$0 \pm 0,0$
Kontrol (+)	100	100	100	100	$100 \pm 0,0$
850	5	0	0	5	$3 \pm 2,886$
1350	20	30	20	25	$24 \pm 4,787$
1850	55	60	60	55	$58 \pm 2,886$
2350	80	85	80	85	$83 \pm 2,886$
2850	90	95	95	100	$95 \pm 4,082$

Keterangan:

K- : Kontrol negatif dengan akuades (0 ppm)

K+: Kontrol positif dengan abate 100 ppm

Data yang diperoleh dari hasil penelitian dianalisis menggunakan Analisis Probit untuk mengetahui LC₅₀, dimana LC₅₀ merupakan konsentrasi yang dibutuhkan untuk mematikan 50% dari larva uji. Data hasil analisis probit disajikan dalam tabel berikut ini.

<i>Lethal Concentration</i> (LC ₅₀)	LC ₅₀ (ppm)	Batas Bawah (ppm)	Batas Atas (ppm)
--	------------------------	-------------------	------------------

Ekstrak Terpurifikasi	1799,77	1708,23	1809,01
-----------------------	---------	---------	---------

Tabel 2. Analisis Probit LC₅₀

Hasil analisis probit toksisitas ekstrak terpurifikasi daun buah-buas (*Premna serratifolia* L.) terhadap mortalitas larva nyamuk *Culex* sp. dalam waktu dedah 24 jam menunjukkan konsentrasi sebesar 1799,77 ppm dengan batas bawah 1708,23 ppm dan batas atas 1809,01 ppm. Batas bawah (*lower concentration*) adalah konsentrasi terendah dari suatu ekstrak yang dapat mematikan 50% dari larva uji dalam waktu dedah 24 jam. Batas atas (*upper concentration*) adalah konsentrasi tertinggi dari suatu ekstrak yang dapat mematikan 50% larva uji dalam waktu dedah 24 jam.

Pembahasan

Hasil dan analisis data memberikan gambaran bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak terpurifikasi daun buah-buas (*Premna serratifolia* L.) yang digunakan dalam perlakuan, maka semakin tinggi mortalitas atau jumlah kematian larva nyamuk *Culex* sp. Hal ini disebabkan oleh kandungan senyawa toksik yang terdapat dalam ekstrak terpurifikasi daun buah-buas (*Premna serratifolia* L.). Semakin tinggi konsentrasi larutan maka semakin banyak kandungan zat aktif yang masuk ke dalam tubuh larva sehingga ketahanan larva terhadap zat terlarut semakin berkurang dan larva menjadi lebih rentan, akibatnya akan terjadi kematian yang lebih tinggi (Wahyuni et al., 2014).

Daun buah-buas dapat disebut sebagai insektisida nabati (botani) karena terbukti bersifat toksik terhadap larva nyamuk *Cules* sp.. Kematian (mortalitas) larva nyamuk *Cules* sp. dalam penelitian ini disebabkan oleh aktivitas dari senyawa yang terkandung dalam ekstrak terpurifikasi daun buah-buas. Berdasarkan penelitian sebelumnya kandungan metabolit sekunder yang terkandung di dalam ekstrak etanol daun buah-buas (*Premna serratifolia* L.) yaitu flavonoid, alkaloid, tanin, steroid, saponin, terpenoid, dan fenolik (Shukri et al., 2011; Wahyuni et al., 2014; Tonius et al., 2016). Pada penelitian, ekstrak etanol dilanjutkan dengan purifikasi menggunakan pelarut yang bersifat non polar (n-heksan) untuk menghilangkan zat ballast yang masih terkandung dalam ekstrak sehingga ekstrak yang diperoleh bersifat polar (Puspitasi dan Prabowo, 2015; Erwiyani et al., 2021). Maka hasil dari purifikasi ekstrak etanol daun buah-buas (*Premna serratifolia* L.) mempertahankan senyawa bersifat polar yaitu golongan alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin.. Senyawa tersebut diketahui dapat memiliki aktivitas

larvasida, antara lain alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin (Apriangga, 2014; M. Susanti et al., 2015).

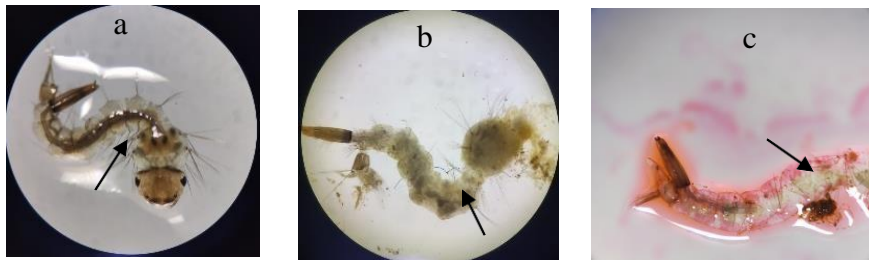
Mekanisme kerja senyawa alkaloid (carpaine) sebagai larvasida bertindak sebagai racun perut dan racun kontak. Alkaloid masuk ke dalam tubuh larva melalui absorpsi dan mendegradasi membran sel kulit kemudian masuk ke dalam untuk merusak sel serta mengganggu kerja saraf larva dengan menghambat kerja enzim asetilkolinesterase yang memecah neurotransmitter asetikolin menjadi asetil Ko-A dan kolin sehingga larva menjadi kejang, lumpuh, bahkan mati. Terjadinya perubahan warna pada tubuh larva menjadi lebih transparan dan gerakan tubuh larva yang melambat bila dirangsang sentuhan serta selalu membengkokkan badan juga disebabkan oleh senyawa alkaloid (Ahdiyah dan Purwani, 2015).

Alkaloid juga berperan dalam menghambat tiga hormon utama di dalam serangga. Tiga hormon utama yang dihambat yaitu hormon otak, hormon edikson, dan hormon juvenil serangga. Saat hormon pertumbuhan serangga terhambat, maka pertumbuhannya akan terganggu dan kemudian mati. Berdasarkan hasil pengamatan saat uji, larva uji memperlihatkan gejala kegelisahan salah satunya gejala keracunan akibat senyawa alkaloid. Senyawa ini menyebabkan gerakan tubuh larva yang melambat bila dirangsang sentuhan, serta selalu membengkokkan badan. Gejala kegelisahan saat pengamatan terlihat jika dibandingkan dengan kelompok kontrol, dimana larva kontrol menunjukkan kondisi istirahat dengan berada dipermukaan membentuk sudut tertentu.

Flavonoid bekerja sebagai inhibitor pernapasan. Flavonoid memiliki cara kerja dengan memasuki tubuh larva melalui sistem pernapasan yang kemudian akan menimbulkan gangguan pada saraf serta kerusakan pada alat pernapasan dan mengakibatkan larva tidak bisa bernapas. Akibat masuknya senyawa flavonoid melalui siphon, mengakibatkan kerusakan pada siphon sehingga larva harus mensejajarkan posisinya dengan permukaan air untuk mempermudah dalam proses pengambilan oksigen (Puzi et al., 2015; Hasanah et al., 2019; Dewa et al., 2020).

Saponin mempunyai kemampuan bila masuk ke dalam tubuh dalam bentuk larva dapat mengakibatkan hemolisis pada pembuluh darah dan dapat menurunkan tegangan permukaan selaput mukosa saluran pencernaan larva sehingga dinding saluran pencernaan menjadi rusak (Wahyuni., 2015). Kemampuan saponin dapat dilihat Gambar 1, menunjukkan rusaknya saluran pencernaan larva.

Senyawa saponin bekerja sebagai racun perut yaitu masuk melalui mulut (sistem pencernaan) dan meracuni larva. Apabila saponin masuk ke dalam tubuh larva maka sistem pencernaan larva akan terganggu. Selain itu, aktivitas larvasida dari senyawa saponin yaitu dapat menurunkan tegangan pada permukaan selaput mukosa traktus digestivus larva sehingga dinding saluran pencernaan menjadi rusak (Wahyuni., 2015).



Gambar 1. Tanda panah menunjukkan adanya kerusakan pada saluran pencernaan larva; Gambar (a) tanpa perlakuan, (b) setelah perlakuan, dan (c) setelah perlakuan ditambah uji kimia (Perbesaran 4x) (Dokumen pribadi)

Saponin yang masuk ke dalam tubuh larva dapat berinteraksi dengan sel-sel mukosa pada saluran pencernaan dan membuatnya lebih permeabel, sehingga mengurangi kemampuan saluran pencernaan larva dalam mentranspor nutrisi. Kekurangan asupan nutrisi, sebagai akibat dari gangguan pencernaan dan proses asimilasi, dapat menurunkan laju pertumbuhan dari larva tersebut (Wahyuni et al., 2014). Terdapat hasil penelitian yang mendukung hipotesis ini karena dalam penelitian yang dilakukan, larva uji yang diuji setelah perlakuan kehilangan banyak berat badannya atau menyusut daripada larva yang menjadi kontrol.

Senyawa tanin yang terkandung dalam daun buah-buahan (*Premna serratifolia* L.) berfungsi sebagai larvasida terutama sebagai racun perut karena dapat menghambat aktivitas enzim dengan jalan membentuk ikatan kompleks dengan protein pada enzim dan substrat yang dapat menyebabkan gangguan pencernaan serta merusak dinding sel pada larva (Arimaswati et al., 2017). Senyawa tanin akan mengikat protein dalam sistem pencernaan yang dibutuhkan larva untuk pertumbuhan yang menyebabkan proses penyerapan protein dalam sistem pencernaan larva menjadi terganggu.

Selain itu, senyawa tanin akan menyebabkan penurunan aktivitas enzimprotease dalam mengubah asam-asamamino. Senyawa tanin dapat mengikat enzim protease. Proses pengikatan enzim yang diikat oleh tanin menyebabkan kerja enzim tersebut akan menjadi terhambat, sehingga proses metabolisme sel dapat terganggu dan larva akan

kekurangan nutrisi. Hal ini berakibat pada pertumbuhan larva. Jika proses ini berlangsung secara terus menerus pertumbuhan larva akan terhambat dan berdampak pada kematian larva (Gautam et al., 2013).

SIMPULAN

Besarnya toksisitas (LC_{50}) pada waktu dedah 24 ekstrak terpurifikasi daun buas-buas (*Premna serratifolia* L.) terhadap mortalitas larva nyamuk *Culex* sp. adalah 1799,77 ppm, sementara besarnya LC_{5} , dan LC_{95} yaitu 850 ppm dan 2850 ppm..

DAFTAR PUSTAKA

- Ahdiyah, I. 2015. Pengaruh Ekstrak Daun Mangkokan (*Nothopanax scutellarium*) Sebagai The Influence Of (*Nothopanax scutellarium*) Leaf Extracts As Larvicidies For Mosquito *Culex* sp . *Skripsi*, 4(2), 2337–3520.
- Andini, D., Mulangsri, K., dan Zulfa, E. 2020. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Terpurifikasi Daun Mangga Arumanis (*Mangifera indica* L .) dan Identifikasi Flavonoid dengan KLT (*Antibacterial Activity of Arumanis Mango Leaves (Mangifera indica L.) Purified Extract and Identification of Flavonoid* 6(1), 55–62.
- Armadany, F. I., Nafisah, A., Adjeng, T., dan Fiyana, A. S. 2014. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Komba-Komba (*Eupatorium odoratum*) Berbunga Putih dan Berbunga Kuning Sebagai Antinyamuk. *Jurnal Farmasi, Sains, Dan Kesehatan ISSN*, 3(2), 18–21.
- Dinata, A. 2018. Bersahabat dengan Nyamuk: Jurus Jitu Atasi Penyakit Bersumber Nyamuk. Pangandaran: Arda Publishing.
- Gautam K, Kumar P, Poonia S. (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 Dis*. 50(3):171–8.
- Hasanah, A., Hermansyah, B., dan Abrori, C. 2019. The Larvacidal Activity of Ethanol Extracts of Phyllanthus acidus Leaves on The *Culex quinquefasciatus* Instar III/IV Larvae. *Journal of Agromedicine and Medical Sciences*, 5(2), 24. <https://doi.org/10.19184/ams.v5i2.6842>
- Kuncoro, H., dan Rijai, L. 2015. Uji Aktivitas Larvasida Ekstrak Daun Keladi Birah (*Alocasia indica* Schott) Terhadap Larva Nyamuk *Culex* sp.
- Lensoni, Surafi, T., dan Isfanda. (2019). Efektivitas Ekstrak Bawang Putih (*Alium Sativum*) Sebagai Biolarvasida Terhadap Larva Nyamuk *Aedes Aegypti*. *Jurnal Aceh Medika Universitas Abulyatama*, 9623(1), 71–76.

- Lestari, M., Mukarlina, dan Yanti, A. (2014). Uji Aktivitas Ekstrak Metanol dan n-Heksan Daun Buas-Buas (*Premna serratifolia* L.) pada Larva Nyamuk Demam Berdarah (*Aedes aegypti* Linn.). *Protobiont*, 3 (2), 247–251. <http://jurnal.untan.ac.id/index.php/jprb/article/view/6831>
- Nombe, S., dan Binawari, D. (2017). Pemberian Ekstrak Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.) dan Biji Sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap Mortalitas Larva Nyamuk *Culex Sp.* 10(September), 1–15.
- Oktaviani, E., Wibowo, M., dan Idiawati, N. (2015). Penapisan Fraksi Antioksidan Daun Buas-buas (*Premna serratifolia* Linn). *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 4(3), 40–47.
- Putri, R., Wargasetia, T. L., dan Tjahjani, S. (2017). Efek larvasida ekstrak etanol daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) terhadap larva nyamuk *Culex* sp. *Global Medical and Health Communication*, 5(2), 103-107.
- Rachmawati, N. A., Suranto, S., dan Solichatun, S. (2006). The Effect of drying methods variation on saponin content, total plate count, and pathogen bacteria of simplisia of *Sesbania grandiflora* (L.) Pers. leaf extract. *Biofarmasi Journal of Natural Product Biochemistry*, 4(1), 4–9. <https://doi.org/10.13057/biofar/f040102>
- Rahmawati, E. 2013. Pemanfaatan Biji Mimba (*Azadirachta indica*) Sebagai Larvasida Nyamuk *Culex* sp. *LenteraBio: Berkala Ilmiah Biologi*, 2(3).
- Sukmawati, S., Ishak, H., dan Arsin, A. A. (2018). Uji kerentanan untuk insektisida malathion dan cypermethrine (CYF 50 ec) terhadap populasi nyamuk *Aedes aegypti* di Kota Makassar dan Kabupaten Barru. *HIGIENE: Jurnal Kesehatan Lingkungan*, 4(1), 41-47.
- Wahyuni, D. (2015). New bioinsecticide granules toxin from extract of papaya (*Carica papaya*) seed and leaf modified against *Aedes aegypti* larvae. *Procedia Environmental Sciences*, 23, 323-328.
- Wahyuni, D., Dewi, D. P., Suratno. (2014). Toksisitas Granula Ekstrak Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.) Terhadap Mortalitas Larva Nyamuk *Aedes aegypti* L. *Artikel Ilmiah Hasil Penelitian Mahasiswa*. 1-5
- Wahyuni, S., Mukarlina. dan Yanti, AP. (2014). Aktivitas Antifungi Ekstrak Metanol Daun Buas-Buas (*Premna serratifolia* L.) terhadap Jamur *Diplodia* sp. pada Jeruk Siam (*Citrus nobilis* var. microcarpa). *Jurnal Protobiont*. Vol 3 (2) : 274-278.
- Wahyuni, D., Waluyo, J., dan Hariyadi, S. (2012). Granulasi Senyawa Toksik sebagai Bioinsektisida Baru Pemberantas Larva Nyamuk *Aedes aegypti* yang Strategis di Indonesia. *Laporan Hasil Penelitian, Hibah Penelitian Strategis Nasional*. Jember: Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember.
- Wijiati, D. (2015). Uji Efektivitas Minyak Atsiri Bunga Kenanga (*Canangium odoratum* Baill) Terhadap Daya Bunuh Larva Nyamuk *culex quinquefasciatus*. *International Institute for Environment and Development*, 07/80 (2), 125.