

## POTENSI EKSTRAK DAUN SAMBILOTO (*Andrographis paniculata*) SEBAGAI LARVASIDA TERHADAP LARVA NYAMUK *Aedes aegypti*

I Made Ananda Prajna Pratisthita Sukadana<sup>1</sup>, I Made Sudarmaja<sup>2</sup>, I Kadek Swastika<sup>2</sup>, Putu Ayu Asri Damayanti<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Sarjana Kedokteran, Universitas Udayana

<sup>2</sup>Departemen Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana  
e-mail: prananda1901@gmail.com

### ABSTRAK

Demam berdarah dengue (DBD) merupakan suatu penyakit endemik yang tidak asing bagi masyarakat Indonesia bahkan menjadi masalah kesehatan dunia. DBD disebabkan oleh virus RNA rantai tunggal, yaitu *dengue virus*<sup>1</sup> yang penyebarannya mengalami pola perubahan dari siklik menjadi tidak teratur sehingga berdampak pada peningkatan kasus DBD itu sendiri<sup>2</sup>. Pemerintah berupaya mencegah penyebaran kasus DBD dengan memutus rantai perkembangbiakan nyamuk *aedes aegypti* dengan menggunakan insektisida sintetik atau kimia. Namun, pencegahan menggunakan metode ini memberikan dampak buruk bagi lingkungan maupun kesehatan manusia. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian untuk mengkaji potensi ekstrak daun sambiloto sebagai larvasida nabati terhadap larva nyamuk *aedes aegypti*. Penelitian ini merupakan studi eksperimental sesungguhnya dengan rancangan *randomized posttest only control group design*. Populasi dalam penelitian ini adalah seluruh larva *aedes aegypti* yang dikembangbiakan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana dengan besar sampel sebanyak 600 sampel larva yang terbagi menjadi 400 sampel kelompok uji (P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub>, P<sub>3</sub>, dan P<sub>4</sub>) serta 200 sampel kelompok kontrol (P<sub>0</sub> dan P<sub>5</sub>). Hasil analisis ANOVA dan chi square menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*) aktif sebagai larvasida pada konsentrasi efektif 1,390% dengan waktu kontak 24 jam. Daun Sambiloto aktif sebagai larvasida karena mengandung senyawa golongan fenolat, alkaloid, flavonoid, dan terpenoid.

**Kata kunci:** Demam Berdarah Dengue., Ekstrak Sambiloto., Konsentrasi aktif

### ABSTRACT

Dengue hemorrhagic fever (DHF) is an endemic disease that is familiar to the people of Indonesia and has even become a global health problem. DHF is caused by a single-stranded RNA virus, namely dengue virus<sup>1</sup>, whose distribution pattern changes from cyclic to irregular, increasing in dengue cases themselves. The government is trying to prevent the spread of dengue cases by breaking the chain of breeding of the *Aedes aegypti* mosquito by using synthetic or chemical insecticides. However, prevention using this method harms the environment and human health. Therefore it is necessary to research to examine the potential of bitter leaf extract as a vegetable larvicide against *Aedes aegypti* mosquito larvae. This research is a true experimental study with a randomized posttest-only control group design. The population in this study were all *Aedes aegypti* larvae bred at the Parasitology Laboratory, Faculty of Medicine, Udayana University with a sample size of 600 larvae which were divided into 400 test group samples (P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub>, P<sub>3</sub>, and P<sub>4</sub>) and 200 control group samples (P<sub>0</sub> and P<sub>5</sub>). The results of ANOVA and chi-square analysis showed that the ethanol extract of Sambiloto (*Andrographis paniculata*) leaves was active as a larvicide at an effective concentration of 1.390% with a contact time of 24 hours. Sambiloto leaves are active as larvicides because they contain compounds groups phenolic, alkaloid, flavonoid, dan terpenoid.

**Keywords:** Dengue Hemorrhagic Fever., Sambiloto Extract., Active concentration

### PENDAHULUAN

Indonesia dengan iklim tropis memiliki angka kasus penyakit demam berdarah dengue (DBD) yang tinggi bahkan cenderung meningkat secara signifikan pada kurun waktu 45 tahun terakhir akibat perubahan pola penyebaran

DBD dari siklik menjadi tidak teratur<sup>1</sup>. Perubahan pola ini juga mengakibatkan pencegahan DBD dengan vaksin belum bisa dilakukan<sup>2</sup>. Penyakit endemik ini disebabkan oleh *virus dengue* yang dibawa oleh nyamuk *Aedes aegypti* dan *Aedes albopictus* sebagai vektor<sup>3</sup>. Penyebaran penyakit ini dapat

terjadi secara cepat karena faktor manusia, vektor, dan virus. Virus *dengue* dapat bertahan hidup jika ada vektor, dan vektor dapat mengandung virus jika menggigit manusia yang terinfeksi. Siklus ini akan selalu berputar, sehingga terjadilah peningkatan kasus DBD yang signifikan. Pemerintah berupaya melakukan pencegahan penyebaran penyakit DBD dengan memutus siklus hidup dari vektor nyamuk *Aedes aegypti* yang berawal dari telur, larva, pupa dan nyamuk dewasa<sup>4</sup>.



Gambar 1. Siklus hidup nyamuk *Aedes aegypti*

Pemutusan siklus hidup dari vektor nyamuk *Aedes aegypti* dapat dilakukan melalui tiga metode yaitu lingkungan, biologis, dan kimiawi. Salah satu upaya yang umum dilakukan adalah cara kimiawi menggunakan bubuk abate. Penggunaan bubuk abate ini memang tergolong efektif, tetapi penggunaan yang berulang ternyata memberikan efek resisten untuk vektor dan bahkan memberikan dampak negatif pada organisme sekitarnya<sup>5</sup>. Data statistik WHO menunjukkan bahwa sekitar 20.000 orang meninggal per tahun akibat keracunan pestisida kimia serta dampak lain seperti kanker, cacat, dan kemandulan jika digunakan secara terus menerus tanpa kontrol dan pengendalian yang tidak benar<sup>6</sup>. Akibat dampak negatif dari pemakaian pestisida sintetik atau kimia tersebut maka perlu upaya mencari agen larvasida alternatif dari bahan alami. Salah satu tumbuhan yang memiliki potensi sebagai larvasida adalah Sambiloto (*Andrographis paniculate*)<sup>7</sup>. Tumbuhan Sambiloto memiliki berbagai aktivitas farmakologi seperti antilarva, antiinflamasi, antibakteri, antioksidan, antiparasit, antiinflamasi, toksik, analgesik, hepatoprotektor, antitumor dan masih banyak lainnya<sup>8</sup>. Senyawa utamanya adalah lakton, andrografolida, neoandrografolida, 1-deoksi-11, 12 didehidroandrografolida dan homoandrografolida. Sebagai tumbuhan obat tradisional, Sambiloto juga mengandung senyawa golongan saponin (16,8%), flavonoid (0,6%), alkaloid (22,2%), fenol (3,7%), steroid (5,3%) dan tanin (7%). Senyawa golongan saponin, flavonoid, alkaloid dan tanin diketahui toksik bagi larva sehingga sangat berpotensi sebagai anti parasit terutama sebagai larvasida<sup>9</sup>.

## BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah daun Sambiloto, larva nyamuk *Aedes aegypti*, dan pakan larva, sedangkan bahan kimia etanol 96%.

### Peralatan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian seperti beaker glass 100 dan 1000 mL, pipet tetes, neraca, pisau, kertas saring, ekstraktor, dan set *rotary vacuum evaporator*.

### Prosedur Kerja

Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Sambiloto dan Uji aktivitas antilarvasida *Aedes aegypti*

Sebanyak 3 kg serbuk daun Sambiloto diekstraksi dengan cara maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96% selama  $\pm$  24 jam. Filtrat yang diperoleh disaring dan ampas yang tersisa kembali dimaserasi dengan menggunakan etanol 96%. Maserasi dilakukan sampai semua senyawa kimia yang terkandung di dalamnya sebagian besar telah terekstrak. Filtrat yang diperoleh digabungkan dan pelarutnya diuapkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* sehingga diperoleh ekstrak pekat etanol.

Ekstrak pekat etanol yang diperoleh kemudian dibuat variasi konsentrasi yaitu 1%, 2%, 3%, dan 4% (b/v) untuk diujikan aktivitas antilarvasida terhadap larva *Aedes aegypti* menggunakan *randomized posttest only control group design* untuk menentukan dan membandingkan mortalitas larva nyamuk tersebut dengan rancangan sebagai berikut:

- P<sub>0</sub> = kelompok larva *Aedes aegypti* dengan perlakuan 0% (b/v) ekstrak daun sambiloto (Kelompok kontrol negatif)
- P<sub>1</sub> = kelompok larva *Aedes aegypti* dengan perlakuan 1% (b/v) ekstrak daun sambiloto
- P<sub>2</sub> = kelompok larva *Aedes aegypti* dengan perlakuan 2% (b/v) ekstrak daun sambiloto
- P<sub>3</sub> = kelompok larva *Aedes aegypti* dengan perlakuan 3% ekstrak daun sambiloto
- P<sub>4</sub> = kelompok larva *Aedes aegypti* dengan perlakuan 4% ekstrak daun sambiloto.
- P<sub>5</sub> = kelompok larva *Aedes aegypti* dengan perlakuan abate (kontrol positif)

Keseluruhan kelompok tersebut akan diamati dan dievaluasi selama 12 jam, 24 jam, 36 jam, dan 48 jam. Masing-masing wadah/ beaker glass dalam kelompok tersebut, akan diberikan larva sebanyak 20 ekor. Penelitian ini dilakukan dari bulan Mei hingga Juli 2022 di Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana. Populasi yang digunakan adalah seluruh larva *Aedes aegypti* yang dikembangkan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana.

Adapun besar sampel minimal yang digunakan adalah 600 sampel, yang terbagi menjadi 2 kelompok kontrol (positif dan negatif) dan 4 kelompok perlakuan (uji konsentrasi), dengan jumlah sampel larva dimasing-masing kelompok adalah 20, serta dilakukan pengulangan sebanyak empat kali sesuai dengan rumus Federer.

Sampel yang digunakan dalam penelitian juga akan disesuaikan dengan kriteria inklusi dan eksklusi yang telah ditetapkan. Variabel penelitian yang digunakan, yaitu konsentrasi % (b/v) ekstrak sambiloto (variabel bebas); jumlah larva nyamuk yang mati (variabel terikat); dan pencahayaan, temperature, serta jenis air (variabel kontrol). Setelah dilakukan penelitian dan pengambilan data, selanjutnya data yang diperoleh akan dianalisis menggunakan uji ANOVA, Chi Square, dan uji analisis dengan menggunakan bantuan *software* SPSS dan *Microsoft Excel*.

Identifikasi Ekstrak Etanol Aktif Larvasida nyamuk *Aedes aegypti*

Analisis terhadap ekstrak etanol daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*) aktif sebagai larvasida nyamuk *Aedes aegypti* dilakukan dengan uji fitokimia untuk mengidentifikasi golongan senyawa metabolit sekundernya.

## HASIL

Hasil maserasi sebanyak 3 kg serbuk kering daun Sambiloto dengan menggunakan pelarut etanol 96% diperoleh ekstrak kental etanol yang berwarna hijau sebanyak 23,95 g. Hasil uji aktivitas larvasida ekstrak etanol daun Sambiloto terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* pada berbagai perlakuan/konsentrasi serta dalam waktu kontak/pengamatan 48 jam dipaparkan sebagai berikut:

**Tabel. 1** Hasil Uji Aktivitas Larvasida Nyamuk *Aedes aegypti*

Perlakuan/ Konsentrasi	Ulangan	Mortalitas Larva diberi Ekstrak Etanol Daun Sambiloto dalam Waktu kontak/Pengamatan			
		12 jam	24 jam	36 jam	48 jam
P <sub>0</sub> (kontrol -)	I	0	0	0	0
	II	0	0	0	0
	III	0	0	0	0
	IV	0	0	0	0
	V	0	0	0	0
Rata-rata Mortalitas		0	0	0	0
Persentase Mortalitas (%)		0	0	0	0
P <sub>1</sub> (1%)	I	4	4	18	18
	II	2	2	16	18
	III	0	4	14	14
	IV	0	5	15	18
	V	2	6	10	16
Rata-rata Mortalitas		1,6	4,2	14,6	16,8
Persentase Mortalitas (%)		8	21	73	85
P <sub>2</sub> (2%)	I	16	20	20	20
	II	16	18	20	20
	III	12	16	18	20
	IV	14	16	18	20
	V	12	18	20	20
Rata-rata Mortalitas		14	17,6	19,2	20
Persentase Mortalitas (%)		70	85	96	100
P <sub>3</sub> (3%)	I	14	20	20	20
	II	14	18	20	20
	III	16	20	20	20
	IV	14	18	20	20
	V	16	18	20	20
Rata-rata Mortalitas		14,8	18,8	20	20
Persentase Mortalitas (%)		74	94	100	100
P <sub>4</sub> (4%)	I	14	20	20	20
	II	16	20	20	20
	III	20	20	20	20
	IV	20	20	20	20

	V	16	20	20	20
Rata-rata Mortalitas		17,2	20	20	20
Persentase Mortalitas (%)		86	100	100	100
P <sub>5</sub> (kontrol +)	I	3	4	20	20
	II	2	3	20	20
	III	1	5	19	20
	IV	2	5	18	20
	V	2	6	20	20
Rata-rata Mortalitas		2	4,6	19,4	20
Persentase Mortalitas (%)		10	23	97	100

Nilai LC<sub>50</sub> pada tiap waktu kontak/pengamatan yang dihitung berdasarkan pada analisis probit dipaparkan pada Tabel 2 berikut.

**Tabel 2.** Nilai LC<sub>50</sub> larva *Aedes aegypti* pada berbagai waktu kontak/ pengamatan

No.	Waktu kontak/ Pengamatan (jam)	LC <sub>50</sub> (%)
1.	12	1,966
2.	24	1,390
3.	36	0,737
4.	48	0,398

Hasil uji fitokimia yang menunjukkan kandungan senyawa metabolit sekunder dipaparkan pada Tabel 3.

**Tabel 3.** Hasil uji fitokimia ekstrak aktif larvasida daun Sambiloto

No.	Uji Fitokimia	Pereaksi	Perubahan	Pengamatan	Hasil
1.	Fenolat	FeCl <sub>3</sub>	Hijau-biru kehitaman	biru - biru Kehitaman	+
2.	Alkaloid	Mayer	Endapan putih	ada endapan	+
3.	Flavonoid	Wilsatter	Hijau-jingga	Merah bata – Jingga	+
4.	Terpenoid/ Steroid	Liebermann- Burcahrd	Hijau-Ungu Hijau-hijau pudar	Ungu Hijau terang	+
5.	Saponin	Aquades- asam	Tidak ada busa	Tidak berbusa Tidak ada perubahan	-

## PEMBAHASAN

Hasil analisis Anova terhadap data Tabel 1 menggunakan rancangan faktorial dua faktor dengan faktor konsentrasi 6 taraf (termasuk kontrol negatif) dan waktu kontak 5 taraf, diketahui adanya interaksi yang bermakna (signifikan) antara konsentrasi dan waktu kontak/pengamatan (Sig. 0,000). Adanya interaksi pada konsentrasi dan waktu kontak berapa jam yang paling optimum, serta interaksi mana saja yang memberikan pengaruh berbeda dapat diketahui. Terjadi interaksi yang bermakna (Sig.<0,005) antara perlakuan konsentrasi 1% (P<sub>1</sub>) dengan waktu kontak/ pengamatan 12, 24, 36, dan 48

jam. Perlakuan konsentrasi 2% (P<sub>2</sub>) dan 3% (P<sub>3</sub>) menunjukkan interaksi bermakna (Sig.<0,005) pada waktu kontak/pengamatan 12 dan 24 jam, serta mencapai optimum pada waktu kontak/pengamatan 24 jam, namun tidak berbeda secara bermakna pada waktu kontak 36 dan 48 jam (Sig>0,005). Konsentrasi perlakuan 4% (P<sub>4</sub>) mulai memberikan interaksi bermakna (Sig.<0,005) dan optimum pada waktu kontak/pengamatan 12 jam dan tidak bermakna (Sig >0,005) setelah 24, 36, dan 48 jam, sedangkan kontrol (P<sub>0</sub>) tidak memberikan interaksi apa-apa selama waktu kontak/pengamatan.

Tabel 2 menunjukkan nilai LC<sub>50</sub> mengalami penurunan dari waktu pengamatan 12 jam hingga pengamatan terakhir 48 jam. Hal ini menunjukkan bahwa semakin lama waktu kontak ekstrak etanol daun Sambiloto terhadap larva *Aedes aegypti* yang menyebabkan kematian larva 50% dari total larva uji, maka konsentrasi yang dibutuhkan semakin sedikit. Hasil analisis probit yang dilakukan pada setiap kali waktu pengamatan terlihat bahwa nilai LC<sub>50</sub> pada 24 jam hanya membutuhkan konsentrasi sebesar 1,390%. Abate sebagai larvasida sintetik mempunyai LC<sub>50</sub> sebesar 0,012 % pada waktu kontak 24 jam, artinya toksisitas ekstrak etanol daun Sambiloto sebagai larvasida lebih lemah dari abate, namun dampak terhadap lingkungan relatif lebih aman karena berasal dari bahan alam. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan diketahui bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*) maka semakin meningkat angka mortalitas atau kematian larva uji *Aedes aegypti* 50% lebih cepat, yang mana hal ini disebabkan semakin banyak jumlah senyawa toksik yang terkandung didalamnya<sup>10</sup>. Peningkatan toksisitas zat yang terkandung dalam ekstrak menyebabkan zat yang diserap oleh larva *Aedes aegypti* melebihi batas toleransi sehingga mengakibatkan kerusakan sel dan jaringan tubuh sehingga mempercepat kematian larva<sup>11</sup>. Jadi, kematian larva disebabkan ketidakmampuan larva mendetoksifikasi senyawa toksik yang masuk ke dalam tubuh<sup>12</sup>.

Ekstrak etanol daun Sambiloto aktif larvasida *Aedes aegypti* oleh karena efek sinergitas dari campuran senyawa golongan fenolat, alkaloid, flavonoid, dan terpenoid. Senyawa flavonoid dapat mempengaruhi peningkatan fungsi biologis seperti sintesis protein, diferensiasi dan proliferasi sel, angiogenesis, merusak permeabilitas dinding sel dan menghambat kerja enzim sehingga mempengaruhi proses metabolisme pada serangga<sup>13,14,15</sup>. Senyawa fenolat berpengaruh terhadap

polipeptida dinding sel yang menyebabkan kerusakan dinding sel, menggumpalkan protein<sup>16</sup>, merusak mukosa kulit dan kutikula jika terabsorpsi, menyebabkan hemolisis sel darah atau hilangnya lapisan kutikula sehingga pernapasan menjadi terhambat, cairan tubuh banyak yang hilang dan akhirnya mengakibatkan kematian<sup>17</sup>. Alkaloid bersifat racun mampu menghambat kerja sistem saraf dan merusak membran sel. Selain itu senyawa ini mampu menghambat enzim asetilkolinesterase, menyebabkan asetilkolin akan tertimbun pada sinapsis yang akan menghambat proses transmisi saraf, sintesis kitin dan kerja hormon<sup>18</sup>. Pada kondisi ini zat toksik relatif lebih mudah untuk menembus kutikula dan selanjutnya masuk ke dalam tubuh serangga. Oleh karena umumnya tubuh serangga atau larva berukuran kecil sehingga luas permukaan luar tubuh yang terpapar relatif lebih besar sehingga menyebabkan kematian<sup>19</sup>. Senyawa golongan terpenoid berpotensi sebagai penghambat makan serangga. Metabolisme larva akan menurun apabila larva memakan makanan yang mengandung senyawa bersifat toksik sehingga energi untuk pertumbuhan larva berkurang. Senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak daun Sambiloto sangat efektif sebagai larvasida dengan mekanisme kerja menghambat enzim alfa dan beta karboksilesterase yang menyebabkan larva tidak dapat mendetoksifikasi racun dan radikal bebas dalam tubuh sehingga mengakibatkan kematian<sup>20</sup>.

## SIMPULAN

Berdasarkan penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*) aktif sebagai larvasida alami terhadap nyamuk *Aedes aegypti* pada konsentrasi 1,390% dalam kurun waktu 24 jam karena mekanisme sinergis dari senyawa golongan fenolat, alkaloid, flavonoid, dan terpenoid.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Karyanti MR, Uiterwaal CSPM, Hadinegoro SR, Rovers MM, Heesterbeek H, Hoes AW, et al. The changing incidence of dengue haemorrhagic fever in Indonesia: A 45-year registry-based analysis. *BMC Infectious Diseases*. 2014;14:412. DOI: 10.1186/1471-2334-14-412.
2. Kurane I. Dengue Hemorrhagic Fever with Special Emphasis on Immunopathogenesis. *Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Disease*. 2007; Vol 30:329-40.
3. Konishi E. Issues related to recent dengue vaccine development. *Trop Med Health*. 2011; 39 (SUPPLEMENT):S63-S71. doi:10.2149/tmh.2011-S01.
4. Susanti, S., & Suharyo, S. Hubungan Lingkungan Fisik Dengan Keberadaan Jentik

- Aedes Pada Area Bervegetasi Pohon Pisang. *Unns Journal of Public Health*. 2017; 6(4), 271-276.
5. Kardinan, A., (2011), Penggunaan Pestisida Nabati Sebagai Kearifan Lokal dalam Pengendalian Hama Tanaman Menuju Sistem Pertanian Organic, Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik, Jurnal Pengembangan Inovasi Pertanian, 4(4), hal. 262-278.
6. Refai, R., Hermansyah, H., & NauE, D. A. B. Uji Efektifitas Biolarvasida Ekstrak Daun Pepaya (*Carica Papaya L*) Terhadap Kematian Larva Instar III Nyamuk *Aedes Aegypti*. *JPP (Jurnal Kesehatan Poltekkes Palembang)*. 2013;1(11), 91-99.
7. Sikumalay, A., Suharti, N., & Masri, M. Efek Antibakteri dari Rebusan Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) dan Produk Herbal Sambiloto Terhadap *Staphylococcus Aureus*. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 2016; 5(1)
- 8.

9. Afrindayanti, A., 2017. Efektifitas Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) sebagai Larvasida Nyamuk *Aedes sp.* (Skripsi). Kendari: Politeknik Kesehatan Kendari Kementerian Kesehatan Republik Indonesia
10. Duangkaew, P., Phouyfung, P., Jirakanjanakit, N., and Rongnoparut, P., 2018, Combined Larvicidal Efficacy of Rhinacanthin-c, Luteolin, Quercetin, and Binary Mixtures of Rhinacanthus nasutus, Andrographis paniculata and Vernonia cinerea Extracts Against *Aedes aegypti* Mosquito. *International Journal of Agricultural Technology*.
11. Minarni, E., Armansyah, T., Hanafiah, A., 2013, Daya Larvasida Perasan Etil Asetat Daun Kemuning (*Murraya paniculata* (L) Jack) terhadap Larva Nyamuk *Aedes aegypti*, *Jurnal Medical Veterinaria*, 7(1), 27–29.
12. Afrindayanti, A., 2017. Efektifitas Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) sebagai Larvasida Nyamuk *Aedes sp.* (Skripsi). Kendari: Politeknik Kesehatan Kendari Kementerian Kesehatan Republik Indonesia
13. Yunita, E. A., Suprapti, N. H. & Hidayat, J. W., 2009. Pengaruh Ekstrak Daun Teklan (*Eupatorium riparium*) terhadap Mortalitas dan Perkembangan Larva *Aedes aegypti*. *BIOMA*, Juni, 11(1410-8801), pp. 1
14. Sabir, A., 2003, Pemanfaatan Flavonoid di Bidang Kedokteran Gigi. *Majalah Kedokteran Gigi (Dental Journal) Edisi Khusus Temu Ilmiah Nasional*. III: 81–7.
15. Cushnie, T. and Lamb, A.J., 2005, Antimicrobial Activity of Flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 26, 343-56.
16. Duangkaew, P., Phouyfung, P., Jirakanjanakit, N., and Rongnoparut, P., 2018, Combined Larvicidal Efficacy of Rhinacanthin-c, Luteolin, Quercetin, and Binary Mixtures of Rhinacanthus nasutus, Andrographis paniculata and Vernonia cinerea Extracts Against *Aedes aegypti* Mosquito. *International Journal of Agricultural Technology*.
17. Sari, F.P., and Sari, S. M., 2011, Ekstraksi Zat Aktif Antimikroba dari Tanaman Yodium (*Jatropha multifida* Linn) sebagai Bahan Baku Alternatif Antibiotik Alami. *Technical Report*. Semarang: Universitas Diponegoro.
18. Liem, A.F., Holle, E., Gemnafle, I.Y., and Wakum, S., 2013, Isolasi Senyawa Saponin dari Mangrove Tanjung (*Bruguiera gymnorhiza*) dan Pemanfaatannya sebagai Pestisida Nabati pada Larva Nyamuk. *Jurnal Biologi Papua*, 5(1), 29-36.
19. Soemirat, J., 2003, *Toksikologi Lingkungan*. Yogyakarta: UGM Press.
20. Widyantoro, W., 2011, Pengaruh Formulasi Teh Daun Jambu Biji (*Psidium guajava*) sebagai Campuran Teh Terhadap Zona Daya Hambat Mikrobial Anti Diare (*Shigella dysenteriae*). Yogyakarta: Politeknik Kesehatan.
21. Edwin, E. S., Vasantha-Srinivasan, P., Senthil-Nathan, S., Thanigaivel, A., Ponsankar, A., Pradeepa, V., Al-Dhabi, N. A., 2016, Anti-dengue Efficacy of Bioactive Andrographolide from *Andrographis paniculata* (Lamiales: Acanthaceae) against the Primary Dengue Vector *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Acta Tropica*.  
<https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2016.07.009>

