

Ekstrak Daun Pulutan (*Urena lobata* L.) dalam Memengaruhi Mortalitas dan Morfologi Larva Nyamuk *Aedes aegypti* Linn.

(PULUTAN (*URENA LOBATA* L.) LEAF EXTRACT AFFECTS MORTALITY AND MORPHOLOGY OF *AEDES AEGYPTI* LINN. MOSQUITO LARVAE)

Firman Andani¹, Ngurah Intan Wiratmini¹, Sang Ketut Sudirga¹

¹Program Studi Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana
Jl. Raya Kampus Unud, Bukit Jimbaran, Jimbaran,
Kuta Selatan, Badung, Bali, Indonesia, 803613
Tlp. 0361 701954 ext.235; Email: wiratminiintan@unud.ac.id

ABSTRACT

Aedes aegypti is a mosquito species known as the vector involved in dengue fever. Synthetic larvicides, commonly used as control measures against mosquitoes, bring harmful impacts upon health and environmental well-being. Therefore, their natural counterparts has been developed, such as using *pulutan* (*Urena lobata* L.) leaves which is a plant capable of acting as natural larvicides. This study aimed to investigate the effect of *pulutan* leaves extract towards mortality rate and changes in morphological features of *A. aegypti* larvae. The completely randomized design was used in this study. The treatment in this research used various concentration of *pulutan* crude leaves extract (0%; 0.1%; 0.5%; 1%; 1.5%; 2%; 2.5%; 3%; and 3.5%), previously dissolved in 96% of ethanol, then administered to twenty 3rd instar of *Aedes aegypti* larvae. The data obtain was analyzed using Kruskal Wallis test and showed that all concentration groups were significantly different compared to controls in terms of mortality rate. Mann-Whitney Post-hoc test further showed that the mortality rate among controls, 0.1% and 0.5% concentration were significantly different ($p < 0.05$), while the rest showed 100% mortality rate ($p > 0.05$). In conclusion, 0.1%; 0.5%; and 1-3.5% of *pulutan* (*U. lobata* L.) leaves extract was associated with 10%; 55%; and 100% mortality rate in in *A. aegypti* larvae, respectively. The observed changes in morphological features of *A. aegypti* larvae included body color; increased length of larval neck; antennal damage; narrowed digestive tract; widened anal segment; irregular growth of hair (setae) on thorax, abdomen, and anal segment; as well as hair loss on segment 4-7.

Keywords: toxicity; *Urena lobata* L.; larvae; morphology

ABSTRAK

Aedes aegypti merupakan spesies nyamuk yang berperan sebagai vektor virus penyebab penyakit demam berdarah dengue. Upaya pengendalian nyamuk telah dikembangkan, seperti penggunaan larvasida sintesis. Namun, upaya tersebut menimbulkan dampak buruk bagi kesehatan dan lingkungan. Larvasida alami perlu dikembangkan karena bersifat ramah lingkungan. Tumbuhan pulutan (*Urena lobata* L.) salah satu tumbuhan yang berpotensi sebagai larvasida alami. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun pulutan terhadap mortalitas dan gambaran morfologi larva nyamuk *A. aegypti*. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Pelarut yang digunakan dalam pembuatan ekstrak adalah etanol 96%. Ekstrak kasar daun pulutan konsentrasi 0%; 0,1%; 0,5%; 1%; 1,5%; 2%; 2,5%; 3%; dan 3,5% diujikan pada 20 larva nyamuk *A. aegypti* instar 3. Parameter penelitian yang diamati adalah jumlah mortalitas larva dan gambaran kerusakan morfologi larva. Hasil analisis Kruskal Wallis menunjukkan perbedaan yang nyata antara kontrol dengan semua perlakuan dalam hal mortalitas. Hasil uji *Post-hoc* Mann-Whitney menunjukkan terdapat perbedaan nyata antara kelompok kontrol, konsentrasi 0,1% dan 0,5%

($p < 0,05$), sementara sisanya mengalami mortalitas 100% ($p > 0,05$). Simpulannya adalah ekstrak daun pulutan (*U. lobata* L.) pada konsentrasi 0,1%; 0,5% dan 1-3,5% menyebabkan mortalitas larva nyamuk *A. aegypti* sebesar 10%, 55% dan 100%. Karakter morfologi larva *A. aegypti* yang ditemukan adalah perubahan pada warna tubuh, leher larva bertambah panjang, kerusakan pada antena, menyempitnya saluran pencernaan, melebarnya segmen anal, rambut seta dibagian thoraks, abdomen dan segmen anal tidak beraturan, serta kerontokan rambut seta pada segmen 4 hingga 7.

Kata-kata kunci: toksisitas; *Urena lobata* L.; larva; morfologi.

PENDAHULUAN

Pulutan (*Urena lobata* L.) merupakan tumbuhan dari familia Malvaceae yang tersebar luas terutama di daerah dataran rendah. Tumbuhan ini tumbuh subur pada daerah tropis beriklim lembap dengan intensitas sinar matahari yang cukup (Islam dan Uddin, 2017). Menurut Amalia *et al.* (2021), metabolit sekunder daun pulutan selain dimanfaatkan sebagai obat berbagai penyakit, juga berpotensi sebagai larvasida alami. Larvasida alami bersifat ramah lingkungan dan mudah diuraikan oleh lingkungan (Syamsul dan Purwanto, 2014). Selain itu, larvasida alami umumnya memiliki tingkat toksisitas yang cukup rendah pada mamalia sehingga cocok untuk diterapkan dalam kehidupan manusia (Pratiwi, 2012).

Kandungan metabolit sekunder *U. lobata* adalah alkaloid, tanin, saponin, flavonoid, terpenoid, plakasin, mangiferin, dan stigmasterol (Fagbohun *et al.*, 2014). Kandungan senyawa golongan alkaloid, saponin dan flavonoid bersifat larvasida dengan menghambat kerja enzim serta menyebabkan keracunan pada larva (Cania dan Setyaningrum, 2013). Kandungan senyawa tanin menyebabkan gangguan metabolisme dan menghambat pertumbuhan pada larva (Ramayanti dan Febriani, 2016). Kandungan senyawa turunan flavonoid berupa kaempferol dan quercetin yang terkandung dalam *U. lobata* memiliki aktivitas larvasida (Pontual *et al.*, 2012).

Nyamuk *Aedes aegypti* merupakan serangga yang berasal dari famili Culicidae (Wang *et al.*, 2012) dan merupakan vektor virus penyebab penyakit demam berdarah dengue. Penyakit ini ditetapkan sebagai penyakit endemik di seluruh wilayah Indonesia dan dapat mengakibatkan penderita mengalami gejala perdarahan, renjatan, hingga terjadinya mortalitas (Nuryanti, 2013). Larvasida biasanya digunakan untuk membunuh larva dari serangga yang dapat menjadi vektor penyakit, salah satu contohnya adalah larva nyamuk *A. aegypti*

(Pratiwi, 2014). Saat ini penggunaan larvasida sintetis telah banyak dikembangkan. Namun, penggunaan insektisida sintetis dalam jangka waktu lama dapat menyebabkan resistansi pada larva dan mencemari lingkungan dengan meninggalkan residu yang sulit diurai oleh lingkungan (Pratiwi, 2012).

Beberapa penelitian serupa mengenai pemanfaatan berbagai jenis tumbuhan sebagai larvasida alami nyamuk *A. aegypti* telah dilakukan di antaranya pemanfaatan kulit jeruk manis (Nurhaifah dan Sukesni, 2015), ekstrak etil asetat dari daun kemuning (Minarni *et al.*, 2013), ekstrak daun pepaya (Ramayanti dan Febriani, 2016), dan ekstrak daun binjau (Nadila *et al.*, 2017).

Ekstrak terpurifikasi daun pulutan (*U. lobata* L.) fraksi etanol telah dilaporkan menyebabkan kematian larva *A. aegypti* hingga 95% dengan nilai LC50 adalah 0,090% (Amalia *et al.*, 2021). Namun, penelitian mengenai ekstrak kasar daun pulutan terhadap morfologi dan histologi larva *A. aegypti* belum banyak dilakukan. Peneliti tertarik melakukan penelitian terhadap potensi ekstrak daun pulutan (*U. lobata* L.) sebagai larvasida pada larva nyamuk *A.s aegypti*.

METODE PENELITIAN

Pelaksanaan penelitian ini dilakukan pada bulan November 2022 hingga Februari 2023 di Laboratorium Struktur Hewan dan Laboratorium Biokimia yang berlokasi di Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana.

Sampling Daun Pulutan (*Urena lobata* L.)

Daun pulutan (*Urena lobata* L.) diperoleh dari Desa Tegalalang, Kecamatan Tegalalang, Kabupaten Gianyar, Provinsi Bali. Sampel diambil dari daun yang berwarna hijau tua dari seluruh bagian tumbuhan yang sudah berbunga.

Penyediaan Larva Nyamuk *Aedes aegypti*

Larva nyamuk *A. aegypti* diperoleh dari Laboratorium Parasitologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana. Sampel yang digunakan adalah larva instar 3 dengan ciri-ciri, yaitu terdapat rambut pada seluruh tubuh, perubahan pada kepala menjadi warna hitam, dan memiliki pergerakan aktif (Mutmainah *et al.*, 2017). Larva diletakkan pada gelas plastik berukuran 500 mL yang telah diberi air sumur dan difungsikan sebagai tempat pemeliharaan larva. Larva diberi makan berupa pelet pakan anjing merek (Dog Choize[®], PT Central Proteina Prima Tbk, Lampung, Indonesia) sebanyak 0,5g.

Variabel Penelitian

Variabel bebas penelitian ini, yaitu konsentrasi ekstrak daun pulutan (*U. lobata* L.), sedangkan variabel terikat penelitian ini, yaitu jumlah mortalitas dan perubahan morfologi larva nyamuk *A. aegypti*.

Ekstraksi Daun Pulutan (*U. lobata* L.)

Daun pulutan yang sudah dipisahkan dari tangkainya dicuci dengan air mengalir. Setelah bersih, daun dikeringanginkan hingga mencapai bobot konstan dan *diblender* hingga menjadi serbuk halus. Serbuk halus daun pulutan ditimbang sebanyak 1 kg kemudian dimasukkan ke dalam toples kaca tertutup dan dimaserasi dengan etanol 96% dengan perbandingan 1:10. Rendaman dilakukan selama satu minggu dan diaduk sebanyak dua kali setiap hari. Selanjutnya maserat disaring, filtrat yang dihasilkan diuapkan dengan *rotary evaporator* hingga mendapatkan ekstrak kental (Sari dan Ferdinan, 2017).

Uji Toksisitas

Ekstrak daun pulutan konsentrasi 0%; 0,1%; 0,5%; 1%, 1,5%; 2%; 2,5%; 3%; dan 3,5% dibuat sebanyak 200 mL dalam cawan petri. Setiap konsentrasi ekstrak dimasukkan 20 larva instar 3 yang hidup dan bergerak aktif. Masing-masing konsentrasi ekstrak terdapat tiga ulangan. Jumlah larva yang mati dihitung setelah 24 jam pada masing-masing perlakuan (Ahdiyah dan Purwani, 2015).

Pengamatan Morfologi Larva *A. aegypti*

Larva dari masing-masing perlakuan diamati di bawah mikroskop cahaya untuk mengetahui terdapatnya perubahan morfologi berupa perubahan warna tubuh serta kerusakan pada kepala, thoraks, abdomen,

dan corong pernapasan (Yasmin dan Fitri, 2013). Pengamatan morfologi larva dilakukan menggunakan mikroskop binokuler.

Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Sebanyak 540 larva nyamuk dibagi menjadi sembilan perlakuan konsentrasi ekstrak daun pulutan, masing-masing perlakuan terdiri atas tiga ulangan. Konsentrasi ekstrak daun pulutan yang digunakan adalah 0%; 0,1%; 0,5%; 1%, 1,5%; 2%; 2,5%; 3%; dan 3,5%. Jumlah minimal pengulangan dihitung dengan rumus $(p-1)(r-1) \geq 15$, dalam hal ini p = jumlah perlakuan; r = jumlah pengulangan; dan 15 = derajat kebebasan) (Charan dan Kantharia, 2013).

Analisis Data

Data hasil uji toksisitas diperoleh dengan cara menghitung banyaknya larva nyamuk *A. aegypti* yang mati setelah diberi perlakuan ekstrak daun pulutan. Data uji toksisitas yang tidak terdistribusi normal dianalisis menggunakan uji Kruskal-Wallis dengan *Statistical Product and Service Solutions* (SPSS). Jika terdapat perbedaan nyata antar perlakuan pemberian ekstrak daun pulutan terhadap mortalitas larva *A. aegypti*, maka dilanjutkan dengan Uji Mann-Whitney. Karakter morfologi larva yang terdiri atas perubahan warna tubuh, kerusakan pada kepala, thoraks, abdomen, dan corong pernapasan larva dianalisis secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rata-rata jumlah mortalitas larva nyamuk *A. aegypti* meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak daun pulutan. Ekstrak daun pulutan menyebabkan mortalitas larva *A. aegypti* berkisar 10% hingga 100%, sedangkan perlakuan kontrol (konsentrasi 0%) persentase mortalitas larva sebesar 0% (Tabel 1). Hasil uji statistika terhadap mortalitas larva tidak terdistribusi normal sehingga data dianalisis dengan uji Kruskal-Wallis. Hasil analisis menunjukkan *Ranking Mean* pada kontrol= 2,00 berbeda nyata ($p < 0,05$) dengan konsentrasi 0,1%= 5,00; 0,5%= 8,00; dan 1% hingga 3,5%= 18,50; data tersebut disajikan pada Tabel 2. Hal ini berarti bahwa ada pengaruh perlakuan ekstrak daun pulutan terhadap mortalitas larva nyamuk.

Tabel 1. Rata-rata mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* yang dipaparkan dengan ekstrak daun pulutan (*Urena lobata* L.) selama 24 jam

Konsentrasi	Jumlah Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> yang mati				
	R1	R2	R3	Rata-Rata	%
Kontrol	0	0	0	0	0
0,1%	2	2	2	2	10
0,5%	13	10	10	11	55
1%	20	20	20	20	100
1,5%	20	20	20	20	100
2%	20	20	20	20	100
2,5%	20	20	20	20	100
3%	20	20	20	20	100
3,5%	20	20	20	20	100

Tabel 2. Analisis mortalitas larva *Aedes aegypti* dengan uji *Kruskall Wallis*

Variabel	Konsentrasi	Rangking Mean	P
Jumlah Mortalitas Larva	Kontrol	2,00	0,001*
	0,1%	5,00	
	0,5%	8,00	
	1%	18,50	
	1,5%	18,50	
	2%	18,50	
	2,5%	18,50	
	3%	18,50	
	3,5%	18,50	

Keterangan : * Berbeda nyata ($P < 0,05$) berdasarkan hasil uji *Kruskall Wallis*

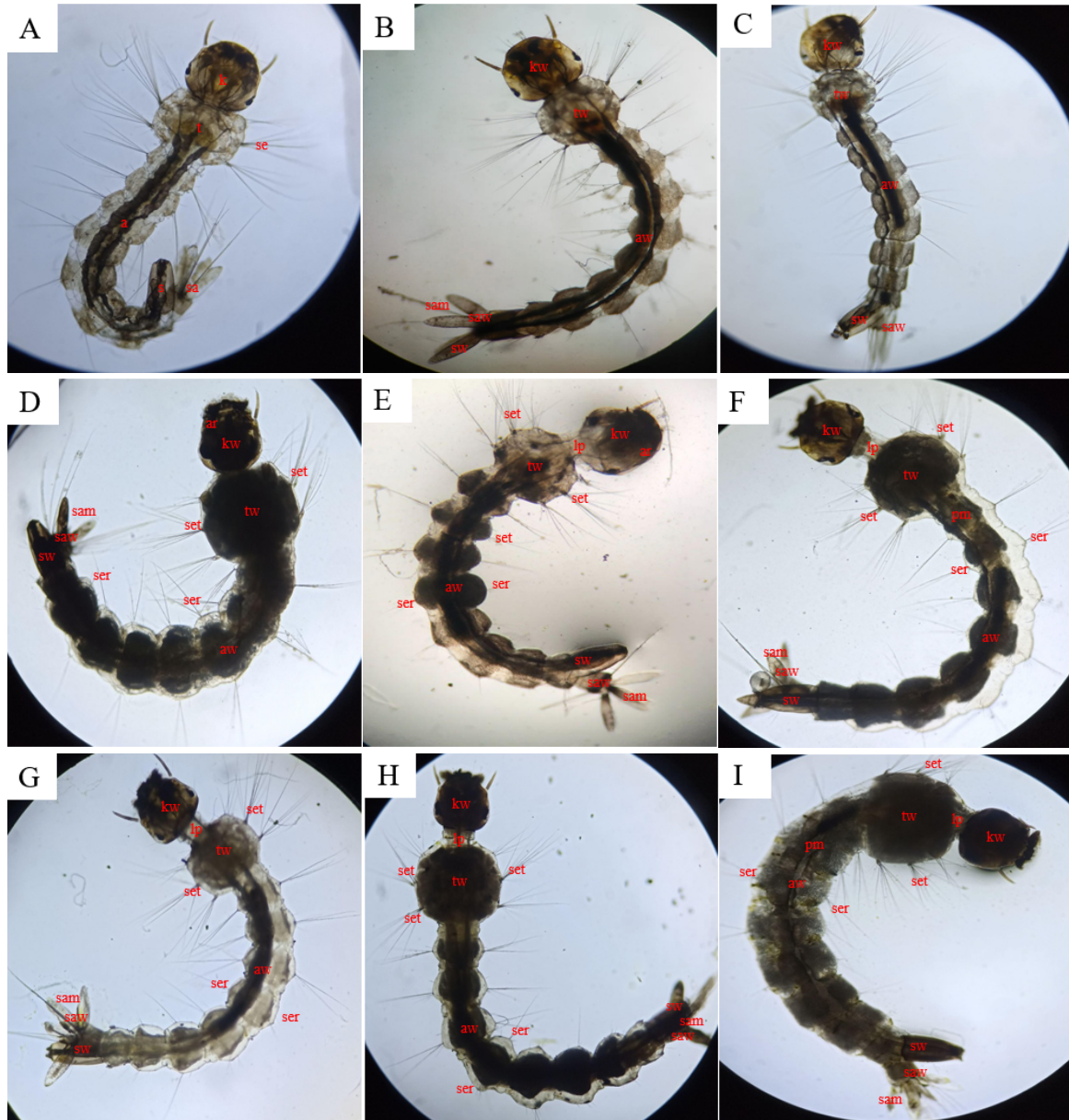
Tabel 3. Analisis perbedaan mortalitas larva *Aedes aegypti* dengan uji *Post-hoc Mann-Whitney*

Konsentrasi	Kontrol	0,1%	0,5%	1%	1,5%	2%	2,5%	3%	3,5%
Kontrol	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0,1%	0,025*	-	-	-	-	-	-	-	-
0,5%	0,034*	0,034*	-	-	-	-	-	-	-
1%	0,025*	0,025*	0,034*	-	-	-	-	-	-
1,5%	0,025*	0,025*	0,034*	1.00	-	-	-	-	-
2%	0,025*	0,025*	0,034*	1.00	1.00	-	-	-	-
2,5%	0,025*	0,025*	0,034*	1.00	1.00	1.00	-	-	-
3%	0,025*	0,025*	0,034*	1.00	1.00	1.00	1.00	-	-
3,5%	0,025*	0,025*	0,034*	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	-

Keterangan : * Berbeda nyata ($P < 0,05$) berdasarkan hasil uji *Post-hoc Mann-Whitney*

Analisis data dilanjutkan dengan uji *post-hoc* Mann-Whitney untuk mengetahui terdapatnya perbedaan nyata dari setiap konsentrasi ekstrak daun pulutan. Hasil uji *Post-hoc* Mann-Whitney menunjukkan terdapat perbedaan nyata ($p < 0,05$) antara kelompok kontrol, konsentrasi 0,1% dan 0,5%. Namun, antara kelompok perlakuan konsentrasi 1% hingga 3,5% menunjukkan tidak terdapat perbedaan nyata ($p > 0,05$) (mortalitas 100%), data tersebut disajikan pada Tabel 3. Hal ini berarti bahwa konsentrasi terendah yang tidak menyebabkan mortalitas 100% adalah 0,5%.

Menurut Ramayanti dan Febriani (2016), mortalitas larva nyamuk tergantung pada konsentrasi larvasida, bentuk bahan, dan cara masuk bahan ke dalam tubuh larva. Amalia et al. (2021) juga melaporkan bahwa mortalitas larva nyamuk *A. aegypti* diakibatkan oleh senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada tanaman. Hasil pengamatan morfologi pada larva yang mati ditemukan perubahan pada warna tubuh, kerusakan pada bagian kepala, thoraks dan abdomen larva nyamuk (Gambar 1). Morfologi larva nyamuk *A. aegypti* yang mengalami mortalitas pada konsentrasi 0,1%



Gambar 1. Morfologi larva *Aedes aegypti* setelah diberi perlakuan ekstrak daun pulutan (Perbesaran 40x). A. Kontrol (Konsentrasi 0%); B. Konsentrasi 0,1%; C. Konsentrasi 0,5%; D. Konsentrasi 1%; E. Konsentrasi 1,5%; F. Konsentrasi 2%; G. Konsentrasi 2,5%; H. Konsentrasi 3%; dan I. Konsentrasi 3,5%.

Keterangan (k) kepala, (t) toraks, (a) abdomen, (s) sifon, (sa) segmen anal, (se) rambut seta, (kw) kepala berubah warna, (tw) toraks berubah warna, (aw) abdomen berubah warna, (sw) sifon berubah warna, (saw) segmen anal berubah warna, (ar) antena mengalami kerusakan, (lp) leher memanjang, (pm) saluran pencernaan menyempit, (sam) segmen anal melebar, (set) rambut seta tidak beraturan, (ser) rambut seta rusak atau rontok

hingga 3,5% terjadi perubahan warna menjadi berwarna hijau atau kecoklatan pada bagian kepala, thoraks, abdomen, sifon dan segmen anal (Gambar 1B hingga 1I). Larva pada perlakuan konsentrasi 1% hingga 3,5% selain mengalami perubahan warna, ditemukan juga kerusakan pada antena, segmen anal yang melebar, rambut seta tidak beraturan pada thoraks, abdomen, dan segmen anal, kerontokan rambut seta pada segmen 4 hingga 7 (Gambar 1D hingga 1I) serta bertambah panjangnya bagian leher larva pada konsentrasi 1,5% dan 3,5% (Gambar 1E hingga 1I). Selain itu, kerusakan berupa penyempitan saluran pencernaan juga ditemukan pada larva dengan perlakuan konsentrasi 2% dan 3,5% (Gambar 1F dan 1I).

Daun pulutan mengandung metabolit sekunder berupa alkaloid, tanin, saponin, flavonoid, terpenoid, plakasin, mangiferin dan stigmasterol (Fagbohun *et al.*, 2014), glikosida dan steroid (Islam *et al.*, 2020).

Perubahan warna pada larva dalam penelitian ini disebabkan oleh senyawa saponin (Fajriansyah, 2019). Senyawa saponin mampu berinteraksi dengan membran kutikula dan merusak membran luar tubuh. Kerusakan membran menyebabkan senyawa-senyawa ekstrak lebih mudah memasuki tubuh dan merusak jaringan tubuh larva (Subahar *et al.*, 2020). Menurut Mahyoub *et al.* (2016), kerusakan membran dan kutikula akibat senyawa saponin ikut berdampak pada rusaknya rambut seta larva nyamuk.

Menurut Sutiningsih *et al.* (2018), metabolit sekunder pada tumbuhan dapat menembus lapisan kutikula tipis pada tubuh larva nyamuk melalui proses difusi dan dibawa oleh cairan tubuh ke organ aktif, seperti organ pencernaan, pernapasan dan saraf. Kerusakan pada kulit larva nyamuk memudahkan metabolit sekunder lainnya masuk ke dalam tubuh larva. Selain itu, metabolit sekunder pada tumbuhan dapat masuk ke dalam saluran pencernaan melalui mulut dan menutupi jaringan epitel pada *midgut* atau usus tengah larva serta melisiskan sel epitel. Lisisnya sel epitel mukosa pencernaan menyebabkan larva nyamuk tidak mampu mencerna dan menyerap zat nutrisi. Menurut Susilowati dan Sari (2022), penyempitan saluran pencernaan yang ditemukan pada larva *A. aegypti* yang mendapat perlakuan ekstrak daun pulutan konsentrasi 2% dan 3,5% disebabkan oleh senyawa saponin dan alkaloid. Penyempitan terjadi karena lisisnya sel epitel *midgut*, membran peritrofik dan *brush border*

sehingga sel-sel pada saluran pencernaan terlepas dari membran basal. Menurut Lubis *et al.* (2018), metabolit sekunder juga menyebabkan kerusakan pada sistem saraf sehingga fungsi sifon dalam mengangkut oksigen terganggu

SIMPULAN

Konsentrasi 0,1%; 0,5% dan 1-3,5% ekstrak daun pulutan (*U. lobata* L.) menyebabkan mortalitas larva nyamuk *A. aegypti* sebesar 10%, 55% dan 100%. Karakter morfologi larva nyamuk *A. aegypti* yang mengalami mortalitas adalah perubahan pada warna tubuh, bertambahnya panjang leher larva, kerusakan pada antena, menyempitnya saluran pencernaan, melebarnya segmen anal, rambut seta dibagian thoraks, abdomen dan segmen anal tidak beraturan, serta kerontokan rambut seta pada segmen 4 hingga 7.

SARAN

Perlu dilakukan uji lanjutan mengenai pangaruh ekstrak daun pulutan (*U. lobata* L.) terhadap daya tetas telur dan kerusakan histologi pada bagian tubuh, seperti *midgut* larva *A. aegypti*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Laboratorium Struktur Hewan, Laboratorium Biokimia, Jurusan Biologi, FMIPA Unud, dan Laboratorium Parasitologi FK Unud yang telah membantu dan memfasilitasi penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahdiyah I, Purwani KI. 2015. Pengaruh ekstrak daun mangkakan (*Nothopanax scutellarium*) sebagai larvasida nyamuk *Culex* sp. *Jurnal Sains dan Seni ITS* 4(2): 2337–3520.
- Amalia IA, Wahyuni D, Fikri K. 2021. Toksisitas ekstrak terpurifikasi daun pulutan (*Urena lobata* L.) fraksi etanol terhadap mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti*. *Jurnal Sainstifika* 23(2): 19–32.
- Cania E, Setyaningrum E. 2013. Uji efektivitas larvasida ekstrak daun legundi (*Vitex trifolia*) terhadap larva *Aedes*

- aegypti*. *Journal Medical of Lampung University* 2(4): 52–60.
- Charan J, Kantharia N. 2013. How to calculate sample size in animal studies?. *Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics* 4(4): 303–306.
- Fagbohun E, Asare R, Egbebi A. 2014. The medicinal characteristics of alcohol-extraction-water-precipitation fraction from *Swertia mussotii* Franch. *Journal of Medicinal Plants Research* 8(3): 158–161.
- Fajriansyah. 2019. Pengaruh ekstrak daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) terhadap mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti*. *Jurnal SAGO Gizi dan Kesehatan* 1(1): 73–78.
- Islam M, Uddin M. 2017. A revision on *Urena lobata* L. *International Journal of Medicine* 5(1): 126.
- Islam T, Ibrahim M, Ahsan Q, Chowhury MMU, Hossain A, Rashid MA. 2020. Phytochemical and pharmacological investigations of *Uraria lagopodides* DC. and *Urena lobata* L. *Dhaka University Journal of Pharmaceutical Sciences* 11(1): 65–69.
- Lubis R, Ilyas S, Panggabean M. 2018. The effectivity test of *Aloe vera* leaf extract to larvae *Aedes* sp. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research* 11(7): 262–266.
- Mahyoub JA, Hawas Qu, Al-Ghamdi KM, Aljamooli MME, Shaher FM, Bamakhrama MA, Alkenani NA. 2016. The biological effects of some marine extracts against *Aedes aegypti* (L.) mosquito vector of the dengue fever in Jeddah Governorate, Saudi Arabia. *Journal of Pure and Applied Microbiology* 10(3): 1949–1956.
- Minarni E, Armansyah T, Hanafiah M. 2013. Daya larvasida ekstrak etil asetat daun kemuning (*Murraya paniculata* (L) jack) terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*. *Jurnal Medika Veterinaria* 7(1): 27–29.
- Mutmainah S, Prasetyo E, Sugiarti L. 2017. Daya predasi ikan cupang (*Betta splendens*) dan ikan guppy (*Poecilia reticulata*) terhadap larva instar III nyamuk *Aedes aegypti* sebagai upaya pengendalian vektor penyakit demam berdarah dengue (BDB). *Jurnal Sains Natural* 4(2): 98.
- Nadila I, Istiana I, Wydiamala E. 2017. Aktivitas larvasida ekstrak etanol daun binjai (*Mangifera caesia*) terhadap larva *Aedes aegypti*. *Berkala Kedokteran* 13(1): 61.
- Nurhaifah D, Sukei TW. 2015. Effectivity of sweet orange peel juice as a larvasides of *Aedes aegypti* mosquito. *Jurnal Kesehatan Masyarakat Nasional* 9(3): 207–213.
- Nuryanti E. 2013. Perilaku pemberantasan sarang nyamuk di masyarakat. *Jurnal Kesehatan Masyarakat* 9(1): 15–23.
- Pontual EV, Napoleao TH, Assis CRD, Bezerra RS. 2012. Effect of *Moringa oleifera* flower extract on larval trypsin and acetylcholinesterase activities in *Aedes aegypti*. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 79(3): 135–152.
- Pratiwi A. 2012. Penerimaan masyarakat terhadap larvasida alami. *Jurnal Kesehatan Masyarakat* 8(1): 88–93.
- Pratiwi A. 2014. Studi deskriptif penerimaan masyarakat terhadap larvasida alami. *Unnes Journal of Public Health* 3(2): 1–10.
- Ramayanti I, Febriani R. 2016. Uji efektivitas larvasida ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* Linn) terhadap larva *Aedes aegypti*. *Syifa Medika* 6(2): 79–88.
- Sari R, Ferdinan A. 2017. Pengujian aktivitas antibakteri sabun cair dari ekstrak kulit daun lidah buaya. *Pharmaceutical Science and Research* 4(3): 111–120.

- Subahar R, Aulung A, Husna I, Winita R, Susanto L, Lubis NS, Firmansyah NE. 2020. Effects of *Lansium domesticum* leaf extract on mortality, morphology, and histopathology of *Aedes aegypti* larvae (Diptera: Culicidae). *International Journal of Mosquito Research* 7(4): 105–111.
- Susilowati RP, Sari MP. 2022. Histopathological changes of midgut epithelial cells of *Aedes aegypti* larvae exposed to permot leaf extract (*Passiflora foetida*). *Jurnal Pembelajaran dan Biologi Nukleus* 8(1): 53–63.
- Sutiningsih D, Mustofa M, Satoto TBT, Martono E. 2018. Morphological and histological effects of bruceine a on the larvae of *Aedes Aegypti* Linnaeus (Diptera: Culicidae). *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research* 11(10): 422.
- Syamsul ES, Purwanto EN. 2014. Uji aktivitas perasan buah mentimun (*Cucumis sativus* L) sebagai biolarvasida terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* L. *Jurnal Kimia Mulawarman* 11(2).
- Wang G, Li C, Guo X, Dong Y, Wang Z, Zhang Y, Liu M, Zheng Z, Zhang H, Zhu X, Wu Z, Zhao T. 2012. Identifying the main mosquito species in china based on DNA barcoding. *PLoS ONE* 7(10): 1–11.
- Yasmin Y, Fitri L. 2013. Perubahan morfologi larva nyamuk akibat pemberian larvasida bakteri kitinolitik. *Jurnal Entomologi Indonesia* 10(1): 18–23.