

EFEKTIVITAS EKSTRAK DAUN SIRIH MERAH (*Piper crocatum Ruiz & Pav*) SEBAGAI LARVASIDA TERHADAP LARVA *Culex sp*

Sofiatul Rohmania

Jurusan Analisis Kesehatan, Politeknik Kesehatan Kemenkes Surabaya; sofiatulrohmania404@gmail.com

Drh Diah Titik Mutiarawati, M.Kes

Jurusan Analisis Kesehatan, Politeknik Kesehatan Kemenkes Surabaya; diahtitikmutiarawati@gmail.com

Suliati, S.pd, S.Si, M.Kes

Jurusan Analisis Kesehatan, Politeknik Kesehatan Kemenkes Surabaya; suli_ati@rocketmail.com

Abstract

Filariasis is an infectious disease caused by mosquitos *Culex sp*. The prevention is generally taken by using chemical larvicide that may cause resistance. The other alternative way to solve the problem is by utilizing one of the natural plants red betel leaf (*Piper crocatum Ruiz & Pav*) that contains alkaloids, saponin, tannin, and flavonoid. The research was conducted to examine the effectiveness of red betel leaf extract as the larvicide on *Culex sp* larvae. The research was conducted in Parasitology Laboratory Health Analyst College of Surabaya Health Polytechnic in April 2020. The experimental research used four times of replications with 25 samplings of *Culex sp* larvae instar III in each replication. There were six groups of testing those were red betel leaf extract with the concentration 30%, 35%, 40%, and 45%, with aquadest as negative control and abate (temefos 1%) as the positive control. *Culex sp* larvae were soaked in 100 ml of liquid testing. The death time of larvae was 5 minute, 10 minute, 25 minute, 45 minute, 60 minute (1 hour), 120 minute (2 hour), 180 minute (3 hour), and 1440 minute (24 hour). The research result showed that death means and the death percentage of larvae in the 30% of concentration was 20 larvae (84%) with the time limit 1440 minute (24 hour). In the 35% of concentration was 23 larvae (92%) with the time limit 1440 minute (24 hour). In the 40% concentration was 25 larvae (100%) with a time limit of 180 minute (3 hour). In the 45% concentration was 25 larvae (100%) with a time limit of 120 minute (2 hour). The data were analyzed by using *the Post Hoc* statistic test. The data indicated there were significant differences between the concentration of red betel leaf extract and the death of *Culex sp* larvae. The toxicity value highlighted in the 30% concentration showed number 432.850% and in the 45% concentration showed 21.279%, thus LT₅₀ was 24,662 hour in the time limit 1440 minute (24 hour).

Keywords : *Culex sp* larvae, Red betel leaf extract (*Piper crocatum Ruiz & Pav*).

Abstrak

Filariasis merupakan penyakit menular yang ditularkan oleh nyamuk *Culex sp*. Pencegahan yang umum dilakukan dengan menggunakan larvasida kimiawi. Larvasida kimia dapat menimbulkan resistensi alternatif lain yang dapat dilakukan yaitu dengan memanfaatkan tumbuh-tumbuhan yang berasal dari alam salah satunya daun sirih merah (*Piper crocatum Ruiz & Pav*) mengandung yang seperti alkaloid, saponin, tanin, dan flavonoid. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efektivitas ekstrak daun sirih merah sebagai larvasida terhadap larva *Culex sp*. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Parasitologi Kampus Analisis Kesehatan poltekkes Surabaya pada bulan April 2020. Penelitian ini dilakukan secara eksperimen. Penelitian terdapat 4 kali replikasi setiap perlakuan berisi 25 ekor larva *Culex sp* instar III dengan 6 kelompok perlakuan yaitu ekstrak daun sirih merah dengan konsentrasi 30%, 35%, 40%, 45%, serta aquadest sebagai kontrol negatif dan abate (temefos 1%) sebagai kontrol positif. Larva *Culex sp* direndam kedalam larutan uji sebanyak 100 ml dengan waktu kematian larva larva 5 menit, 10 menit, 25 menit, 45 menit, 60 menit (1 jam), 120 menit (2 jam), 180 menit (3 jam), 1440 menit (24 jam). Hasil penelitian menunjukkan terdapat rata-rata dan persentase kematian pada konsentrasi 30% sebanyak 20 ekor (81%) waktu 24 jam. Konsentrasi 35% sebanyak 23 ekor (91%) waktu 24 jam. Konsentrasi 40% sebanyak 25 (100%) waktu 3 jam. Konsentrasi 45% sebanyak 25 ekor (100%) waktu 2 jam. Hasil analisa data dengan uji statistik *Post-Hoc* menunjukkan adanya : Ada perbedaan yang signifikan antar perlakuan (konsentrasi) ekstrak daun sirih merah terhadap kematian larva *Culex sp*. Dilanjutkan Nilai toksisitas LC₅₀ adalah konsentrasi 30% dengan nilai 432.850% dan konsentrasi 45% dengan nilai 21.279 %, LT₅₀ adalah 24,662 jam pada waktu 1440 jam.

Kata Kunci : Ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum Ruiz & Pav*), Larva *Culex sp*

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan tempat yang mendukung bagi perkembangan penyakit filariasis karena beriklim tropis. Filariasis hidup di kelenjar getah bening dan darah yang bersifat menahun, dan dapat mengakibatkan

cacat yang menetap berupa pembesaran kaki, lengan, dan alat kelamin baik perempuan maupun laki-laki (Juriah, 2017). Filariasis merupakan penyakit yang disebabkan oleh infeksi cacing dengan hos perantara yaitu nyamuk *Culex sp.* Di Indonesia penyakit filariasis dapat menyerang semua golongan umur dan jenis kelamin. Berdasarkan data Kementerian Kesehatan RI, di Indonesia hingga tahun 2016 telah ditemukan lebih dari 13.032 penderita filariasis kronis atau penyakit kaki gajah. Jumlah ini tersebar di 429 kabupaten/kota di seluruh Indonesia. Jumlah penderita penyakit filariasis ini dari tahun ke tahun masih terdapat kasus.

Larvasida yang umumnya digunakan oleh masyarakat adalah larvasida kimiawi *temephos* dengan merek dagang abate. Penggunaan larvasida kimiawi memang lebih efektif dan cepat dalam membasmi larva, tetapi jika penggunaannya tidak sesuai dengan dosis dan waktunya tidak teratur dapat menimbulkan resistensi, selain itu bahan kimiawi juga dianggap beracun oleh masyarakat sehingga ragu untuk menggunakannya. Karena kini pengendalian hayati dikembangkan sebagai larvasida (Adibah, 2017).

Larvasida alami relatif aman bagi kesehatan karena mudah terurai di alam sehingga tidak meninggalkan residu di tanah, air dan udara (Santoso & Haminudin, 2018). Sehubungan mengenai kerugian yang dapat ditimbulkan oleh pengendalian kimia tersebut maka perlu dilakukan suatu usaha untuk memutus mata rantai penularan penyakit dengan menggunakan larvasida yang tidak mencemari lingkungan dan relatif aman bagi manusia, yaitu dengan memanfaatkan tumbuh-tumbuhan yang berasal dari alam (Abdi, 2018). Salah satunya yaitu daun sirih merah.

Daun sirih merah (*Piper crocatum Ruiz & Pav*) mempunyai kandungan yang bermanfaat seperti alkaloid, saponin, tanin, dan flavonoid yang bersifat antibakteri dan anti inflamasi (Sidiqa, 2017).

Berdasarkan latar belakang diatas, perlu dilakukan penelitian adalah efektivitas ekstrak daun sirih merah sebagai larvasida terhadap larva *Culex sp*

METODE PENELITIAN

Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan eksperimental, yaitu suatu metode untuk mengetahui Efektivitas ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum Ruiz & Pav*) pada larva *Culex sp* instar III sebagai larvasida

Bahan Uji

Bahan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sirih merah (*Piper crocatum Ruiz & Pav*) yang diperoleh UPT Medica Daerah Batu Malang, Provinsi Jawa Timur.

Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan pada penelitian ini yaitu larva *Culex sp* instar III yang diperoleh di ITD (Insitute of Tropical Disease) jalan. Unair, Mulyosari, Gubeng, Surabaya

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dimulai dari bulan Desember 2019 hingga Juni 2020. Penelitian dilakukan di Laboratorium Parasitologi Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Surabaya.

Metode Pengumpulan Data

Penelitian ini menggunakan teknik pengumpulan data secara observasi eksperimental (pengamatan secara langsung), yaitu dengan mengamati secara langsung kematian larva *Culex sp* setelah perendaman dengan daun sirih merah dengan berbagai perlakuan yaitu konsentrasi 30%, 35%, 40%, 45% serta perlakuan kontrol positif dan kontrol negatif.

PROSEDUR

Prepasi Sampel dan Pembuatan Ekstrak

Sampel yang digunakan daun sirih merah di panen sebanyak 6kg di ambil dari UPT Materia Medica Batu. Sampel di sortasi dipisahkan dari pengotor dan dipilih daun yang baik. Lalu dicuci daun yang sudah disortasi dengan air yang mengalir, dan ditiriskan. Selanjutnya daun dibirakan mengering dengan cara mengatur bahan pada rak pengeringan dan di ratakan agar merata. Dan dipisahkan daun yang rusak dan yang daun terlalu kering. Lalu daun digiling menggunakan mesin hingga menjadi serbuk, dan simplisia siap digunakan.

Bahan simplisia di maserasi menggunakan pelarut etanol 96% direndam sampai terendam seluruhnya, dihomogenkan dalam *shaker waterbath* dengan kecepatan 120 rpm selama 1 jam, selanjutnya melakukan

maserasi larutan selama 24 jam pada suhu kamar, memisahkan larutan dengan menggunakan penyaring *Buchner*, diangin anginkan residu penyaringan selanjtnya melakukan maserasi ulang selama 24 jam, maserasi diulangi sebanyak 3 kali hingga di peroleh larutan bening, selanjutnya menguapan pelarut dengan bantuan *rotary evaporator* pada suhu 50°C sampai di dapatkan ekstrak pekat daun sirih merah (*Piper crocatum Ruiz & Pav*) murni.

Pengujian larvasida

Menyiapkan bahan yang sudah diencerkan, selanjutnya larva *Culex sp* instar III diambil menggunakan pipet drop sebanyak 25 larva dan dimasukkan langsung ke dalam gelas plastik yang sudah terdapat berbagai konsentrasi ekstrak daun sirih merah. Kontrol positif terdapat Abate 1% dan kontrol negatif menggunakan aquadest. Dilakukan penggulungan sebanyak 4 kali, selanjutnya larva di hitung berdasarkan interval waktu 5 menit, 10 menit, 25 menit, 45 menit, 60 menit (1 jam), 120 menit (2 jam), 180 menit (3 jam), dan 1440 menit (24 jam). Selanjutnya kematian larva dihitung dengan rumus persentase.

Analisa Data

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan uji statistik Kolmogrov Smirnov dan dilanjutkan uji homogenitas menggunakan aplikasi SPSS, apabila data berdistribusi normal dan homogen maka dapat dilanjutkan dengan analisis *Anova One Way* jika data tidak berdistribusi normal dan homogen maka menggunakan alternatif lain yaitu *Kruskal Wallis* lalu dilanjutkan uji statistik *Post Hoc* untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan signifikan dari ekstrak daun sirih merah terhadap jumlah kematian larva *Culex sp* setelah dilakukan rendaman dengan bahan baku ekstrak daun sirih merah. Selanjutnya dilakukan analisis probit perhitungan LC_{50} dan LT_{50} .

HASIL

Penyajian Data

Hasil yang didapatkan dari penelitian efektivitas ekstrak daun sirih merah sebagai larvasida terhadap larva *Culex sp* tersaji pada tabel 1.

Tabel 1. Data Hasil Penelitian Efektivitas Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum Ruiz & Pav*) Sebagai Larvasida Terhadap Larva *Culex Sp*.

Kematian Larva <i>Culex sp</i> dalam persentase (%)								
Konsentrasi	Waktu Kematian Larva							
	5 menit	10 menit	25 menit	45 menit	60 menit (1 jam)	120 menit (2 jam)	180 menit (3 jam)	1440 menit (2 jam)
30%	5%	10%	17%	27%	42%	62%	79%	81%
35%	7%	15%	29%	45%	61%	83%	85%	91%
40%	17%	30%	37%	54%	75%	96%	100%	100%
45%	20%	40%	56%	80%	92%	100%	100%	100%
Kontrol positif (+)	24%	44%	60%	84%	92%	100%	100%	100%
Kontrol negatif (-)	0	0	0	0	0	0	0	0

Berdasarkan dari tabel tersebut Jumlah kematian larva *Culex* pada waktu 5 menit pada konsentrasi 30%, 35%, 40%, 45% kematian meningkat hingga 1440 menit (24 jam). Semakin tingginya konsentrasi maka semakin cepat waktu yang dibutuhkan untuk mematikan larva.

Data yang diperoleh berdasarkan output SPSS uji *Kruskal Wallis* ini menghasilkan nilai yang signifikan ($p = 0,000$) dimana nilai tersebut kurang dari 0,05 sehingga sehingga H_0 ditolak (H_1 diterima). Maka dapat di simpulkan kelompok data memiliki perbedaan yang bermakna. Selanjutnya dilakukan uji *Post Hoc* untuk mengetahui data yang memiliki nilai yang berbeda dari pasangan kelompok perlakuan.

Pada hasil uji *post hoc* Nilai signifikan dari ekstrak daun sirih merah kontrol positif dengan dengan kelompok perlakuan 30%, 35%, dan kontrol negatif, yaitu nilai kurang dari 0,05, Maka nilai signifikan $< 0,05$ sehingga menolak H_0 dan menerima H_1 yang artinya Ada perbedaan yang signifikan antar perlakuan (konsentrasi) ekstrak daun sirih merah terhadap kematian larva *Culex sp*. tidak ada perbedaan yang signifikan antara konsentrasi 40%, dan konsentrasi 45% terhadap kematian larva *Culex sp*.

Berdasarkan hasil yang diperoleh LC_{50} terjadi penurunan nilai LC_{50} dari waktu 5 menit menunjukkan konsentrasi 55.952% sedangkan waktu yang dibutuhkan untuk membunuh 50% larva uji dalam waktu 1440 menit (24 jam) menunjukkan nilai 24.662% mengalami penurunan. Karena semakin rendah nilai suatu zat maka zat tersebut mempunyai aktivitas yang lebih tinggi untuk membunuh hewan coba (Manyullei, dkk, 2015). Pada nilai LT_{50} pada konsentrasi 30% dengan nilai 432.850 jam dan konsentrasi 45% dengan nilai 21.279 jam mengalami penurunan jika dibandingkan dengan konsentrasi lain.

PEMBAHASAN

Berdasarkan dari penelitian yang dilakukan menunjukkan adanya efektivitas paparan ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum Ruiz & Pav*) terhadap kematian larva dengan ditunjukkan perbedaan kematian larva yang berbeda-beda antar konsentrasi, adanya efektivitas rendaman ekstrak daun sirih merah terhadap kematian larva antar kelompok. Larva yang digunakan pada penelitian ini merupakan larva *Culex sp* instar III yang berumur 3-4 hari sebanyak 25 ekor larva setiap cup dan dilakukan 4 kali replikasi setiap perlakuan.

Pada tabel 5.1 kematian larva uji pada masing-masing kelompok konsentrasi 30% diperoleh rata-rata kematian larva *Culex* sebanyak 20 dengan persentase (81%) waktu 1440 menit (24 jam). Konsentrasi 35% diperoleh rata-rata kematian larva *Culex* sebanyak 23 dengan persentase kematian (91%) waktu 1440 menit (24 jam). Konsentrasi 40% diperoleh rata-rata kematian larva *Culex* sebanyak 25 dengan persentase (100%) waktu 180 menit (3 jam). Konsentrasi 45% diperoleh rata-rata kematian larva *Culex* 25 dengan persentase (100%) waktu 120 menit (2 jam).

Pada konsentrasi 30%, 35%, 40% dan 45% memiliki efek kematian dalam waktu 5 menit merupakan memiliki daya kematian yang sama dengan Abate 1% Dalam hal ini diketahui dari hasil perendaman daun sirih merah terhadap larva *Culex* menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun sirih merah, maka semakin banyak jumlah larva yang mengalami kematian. Pada kontrol positif mampu membunuh larva *Culex* sebanyak 100% sedangkan pada kontrol negatif tidak ada larva yang mati.

Pengujian larvasida ditentukan pada LC_{50} untuk menentukan konsentrasi yang dibutuhkan untuk membunuh 50% larva uji, dari hasil LC_{50} di dapatkan ekstrak daun sirih merah yang efektif membunuh 50% larva nyamuk *Culex sp* adalah pada konsentrasi 24.662%, didapatkan interval LC sebesar 11.168% - 28.828%. menunjukkan semakin besar konsentrasi ekstrak daun sirih merah yang diberikan maka semakin kecil nilai konsentrasi yang di butuhkan untuk membunuh 50% larva uji, hal ini di karenakan semakin besar konsentrasi maka toksisitas terhadap larva *Culex* akan semakin besar sehingga jumlah kematian meningkat (Hidayatulloh, 2013).

LT_{50} waktu yang dibutuhkan untuk membunuh 50% larva uji didapatkan konsentrasi terendah yaitu konsentrasi 30% pada nilai 432.850 jam dan konsentrasi 45% didapatkan 21.279 jam. Menurunnya nilai LT pada konsentrasi 30% ke konsentrasi 45% disebabkan karena, semakin besar konsentrasi yang diberikan pada larva uji menyebabkan toksik yang ada pada larva uji semakin tinggi, sehingga waktu yang di butuhkan untuk membunuh larva menjadi semakin cepat untuk membunuh 50% larva uji (Hidayatulloh, 2013). Karena semakin rendah nilai suatu zat maka zat tersebut mempunyai aktivitas yang lebih tinggi untuk membunuh hewan coba (Ekasari & Manyullei, dkk, 2015).

Daun sirih merah (*Piper crocatum Ruiz & Pav*) mempunyai kandungan senyawa kimia yang bermanfaat seperti alkaloid, saponin, tanin, dan flavonoid (Sidiqa, 2017). Dari beberapa senyawa tersebut berperan sebagai bersifat toksik pada larva.

Pada tanin merusak pencernaan larva seta merusak dinding sel pada larva karena dapat menghambat aktivitas enzim dengan jalan membentuk ikatan kompleks dengan protein pada enzim dan substrat Alkaloid menyebabkan larva mengalami kaku serta berwarna kuning pucat, apabila alkaloid masuk ke dalam tubuh larva dalam dosis rendah maka menimbulkan rekasi kimia pada larva dalam proses metabolisme dan terhambatnya hormon pertumbuhan sehingga larva tidak bisa tumbuh secara normal bahkan bisa mengalami kematian (Iskandar dkk., 2017).

Flavonoid merupakan bekerja sebagai racun perut pada larva sehingga dapat menyebabkan kematian (Widastuti, 2016) larva mengalami kejang dan paralisis disebabkan rusak pada membran sel dan banyaknya toksin yang masuk pada tubuh larva.

Saponin sebagai inhibitorik yang dari enzim asetilkolinesterase proses absorpsi pada larva dan aktivitas enzim pencernaan juga akan mengalami penurunan maka larva bisa mengalami anoreksia dan kutula pada tubuh larva dapat mengalami kerusakan efek dari saponin hilangnya pada cairan tubuh larva (Maharani, 2016).

Hal tersebut diduga karena adanya penurunan toksisitas senyawa metabolit yang terkandung dalam ekstrak daun sirih merah dan berikut ini faktor yang dipengaruhi oleh lamanya penyimpanan ekstrak, dikarenakan penyimpanan dilakukan dalam botol penampung berbahan plastik transparan yang memungkinkan terkena paparan cahaya matahari dari sekitar ruangan sehingga mempengaruhi proses penguraian bahan ekstrak,

juga dapat berpengaruh pada larva karena penurunan toksisitas pada ekstraksi, serta ketidak mampuan larva dalam mendetoksifikasi senyawa toksik yang masuk dalam tubuh larva, (Ratnawati, 2016) faktor lingkungan seperti suhu, kelembapan bukan yang mempengaruhi kematian larva. Pada penelitian lain terdapat efek daun pandan yang digunakan untuk larva *Aedes Aegypti* mengalami penurunan toksisitas akibat waktu 1 bulan berada di dalam pendinginan sebelum digunakan untuk penelitian. (Mutiarasari dkk, 2017).

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

1. jumlah kematian larva *Culex* yang di ujikan Ekstrak daun sirih merah pada konsentrasi 30% diperoleh rata-rata kematian larva *Culex* sebanyak 20 dengan persentase (81%) waktu 1440 menit (24 jam). Konsentrasi 35% diperoleh rata-rata kematian larva *Culex* sebanyak 23 dengan persentase kematian (91%) waktu 1440 menit (24 jam). Konsentrasi 40% diperoleh rata-rata kematian larva *Culex* sebanyak 25 dengan persentase (100%) waktu 180 menit (3 jam). Konsentrasi 45% diperoleh rata-rata kematian larva *Culex* 25 dengan persentase (100%) waktu 120 menit (2 jam).
2. Perhitungan LC_{50} dari ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum Ruiz & Pav*) terhadap larva *Culex* adalah dengan nilai konsentrasi 24.662%.
3. Perhitungan LT_{50} dari ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum Ruiz & Pav*) terhadap larva *Culex* adalah kosentrasi 30% dengan nilai 432.850 jam dan konsentrasi 45% dengan nilai 21.279 jam.
4. Konsentrasi Ekstrak daun sirih merah (*Piper Crocatum Ruiz & Pav.*) yang optimum membunuh larva *Culex sp* adalah konsentrasi 40% dengan jumlah kematian 25 larva (100%) waktu 180 menit (3 jam) dan konsentrasi 45% dengan kematian 25 larva (100%) waktu 120 menit (2 jam).

Saran

1. Bagi peneliti selanjutnya diharapkan dilakukan penelitian lanjutan mengenai ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum Ruiz & Pav*) sebagai larvasida dengan cara seperti perasan, infusa, rebusan atau metode ekstraksi lain.
2. Bagi peneliti selanjutnya diharapkan dilakukan penelitian lanjutan mengenai efektivitas ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum Ruiz & Pav*) terhadap larva *Culex* dengan waktu yang bervariasi lagi serta konsentrasi yang lebih variatif lagi.
3. Bagi peneliti selanjutnya diharapkan untuk melakukan penelitian mengenai daun sirih merah sebagai ovisida terhadap nyamuk *Culex*, *Aedes aegypti*
4. Bagi masyarakat dapat memberikan informasi tentang tanaman herbal daun sirih merah dapat digunakan sebagai larvasida.

DAFTAR PUSTAKA

1. Susanto, A., & Setiyorini, E. (2017). *Efektifitas Kombinasi Perasan daun sirih (Piper betle L.) dengan perangkap nyamuk terhadap kematian larva Aedes aegypti, Upaya penurunan penderita DBD di desa jogoroto kabupaten jombang*. Jombang: Prodi analis kesehatan, STIKES ICME.
2. Abdi, A. F., Setiawan, & Kriswandana, F. (2018). *potensi ekstrak daun nangka (artocarpus heterophyllus lamk) sebagai biolarvasida nyamuk culex sp*. Gema Kesehatan Lingkungan. vol 16.
3. Adnyani, N. R., Parwata, I. O., & Negara, I. M. (2016). *Potensi Ekstrak Daun Nangka (Artocarpus heterophyllus lam.) Sebagai Antioksidan Alami*. *Jurnal Kimia*.
4. Arsin, A. A. (2016). *Epidemiologi Filariasis Di Indonesia*. Makassar: Jl. Goa Ria, Griya Sudiang Permai Blok A3/2 Kel. Suding, Kec. Biringkananya, Makssar 90242.
5. Asro Abadi Firdaus, S. F. (2018). *Potensi Ekstrak Daun Nangka (Artocarpus heterophyllus Lamk) Sebagai Biolarvasida Nyamuk Culex sp* .
6. Basri, A. (2017). *Perbandingan Efektifitas Perasan Daun Kemangi (Ocimum Sanctum) Dan Daun Sirih (Piper betle) Sebagai Larvasida Pada Larva Aedes aegypti Instar III*. Jurusan Analis Kesehatan Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Ternate, , Volume 7, Nomor 2 .
7. Juariah, S., & Irawan, M. P. (2017). *Biolarvasida Ekstrak Etanol Kulit Nanas (Ananas comosus L. Merr) Terhadap Larva Nyamuk Culex Sp*. Akademi Analis Kesehatan Yayasan Fajar Pekanbaru, Indonesia.

8. Santoso, B. S., & Haminudin, M. (2018). Potensi Ekstrak Umbi Rumput Teki (*Cyperus rotundus L.*) Sebagai Larvasida Terhadap Larva Nyamuk *Culex Sp* . Malang : Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang, Vol. 7 .
9. Ulkhaq, M. F., Budi, D. S., Kenconoajati, H., & Azhar, M. H. (2019). Penggunaan Bubuk Abate Untuk Menurunkan Derajat Infestasi Dan Merusak Organ Parasit *Argulus* Yang Menginfestasi Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) . Banyuwangi: 1Program Studi Akuakultur, Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga Kampus Banyuwangi, Vol. 8 No. 1.
10. Ningrum, A. C. (2019). Uji ekstrak daun sirih (*Piper betle Linn*) sebagai larvasida alami larva *Aedes aegypti*. KTI. Jurusan analis kesehatan jombang: Sekolah tinggi ilmu kesehatan insan cendekia medika jombang. Diakses pada 14 November 2019.
11. Andayani, T., Hendrawan, Y., & Yulianingsih , R. (2014). Minyak Atsiri Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum*) Sebagai Pengawet Alami Pada Ikan Teri (*Stolephorus indicus*). Jurusan Keteknikan Pertanian Malang: Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya. Vol. 2.
12. Anggraini, sarah. (2017). Efektivitas Metode Abatisasi Dengan Menggunakan Sistem Membran Dan Sistem Tabur. Makassar: Fakultas kesehatan Masyarakat Universitas Hasanuddin.
13. Mulyani, S. (2014). Bibliography Granul Minyak Serai Dapur Sebagai Larvasida Nyamuk *Aedes aegypti* . Yogyakarta: Pharmaceutical Biology Dept., Faculty of Pharmacy, Universitas Gadjah Mada.
14. Nisa, G. K., Nugroho, W. A., & Hendrawan, Y. (2014). Ekstraksi Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum*) Dengan Metode Microwave Assisted Extraction (Mae) . Malang: Keteknikan Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya Malang , vol 2.
15. Ahdiyah, I., & Purwani , K. I. (2015). Pengaruh Ekstrak Daun Mangkoka (*Nothopanax scutellarium*) sebagai Larvasida Nyamuk *Culex sp.* . Surabaya: Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS) , Vol 4.
16. Sendy, V. A., Pujiastuti, P., & Ernawati, T. (2014). Daya Antibakteri Ekstrak Daun Sirih Merah (*Pipper crocatum*) Terhadap *Porphyromonas gingivalis* . Jember: Fakultas kedokteran gigi universitas jember.
17. Amroini, F. (2016). Toksisitas campuran ekstrak daun sirih (*Piper betle L.*) dengan ekstrak biji sirsak (*Annona muricata L.*) Terhadap mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti L.* dan pemanfaatannya sebagai buku ilmiah populer. Jember: Program studi pendidikan biologi jurusan pendidikan Mipa fakultas keguruan dan ilmu pendidikan.
18. Suprani. (2014). Uji Efektifitas Ekstrak Daun Pandan Wangi (*Pandanus amarylifolius*) Sebagai Larvasida Terhadap Larva *Aedes aegypti* . Medan: Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes , Vol 8.
19. Carolia, N., & Noventi, W. (2016). Potensi Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle L.*) sebagai Alternatif Terapi *Acne vulgaris*. Lampung: FakultasKedokteran, volume 5.
20. Bagaskara, R. (2017). Pemetaan Sebaran Nyamuk *Culex* Di Kecamatan Sandubaya Kota Mataram Menggunakan Geographic Information System (Gis) Sebagai Dasar Pengendalian Penyakit Filariasis . Mataram: Jurusan Pendidikan Ipa Biologi Fakultas Tarbiyah Dan Keguruan .
21. Erfrihana, Y. (2019). Konsentrasi efektifitas granula ekstrak daun sirih (*Piper betle L.*) Terhadap larva nyamuk *Culex sp.* dan pemanfaatannya sebagai buku ilmiah populer. jember: Jember: program studi biologi jurusan pendidikan mipa.
22. Fatrowie, A. F. (2015). Perbedaan toksisitas ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle L.*) dengan berbagai jenis pelarut terhadap mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti L.* Jember: Jember: program studi pendidikan biologi jurusan pendidikan mipa .
23. Fenisenda, A., & Rahman, A. O. (2016). Uji Resistensi Larva Nyamuk *Aedes Aegypti* Terhadap Abate (*Temephos*) 1% Di Kelurahan Mayang Mangurai Kota Jambi Pada Tahun 2016. Jambi: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Jambi, Volume 4.
24. Ferina, S. N. (2016). Efektivitas ekstrak biji sirsak (*Annona muricata L.*) sebagai larvasida terhadap larva *Culex sp. instar III/IV di ciputat*. Jakarta: Jakarta: Program studi kedokteran dan profesi fakultas kedokteran dan ilmu kesehatan universitas islam negeri syarif hidayatullah.

25. Harviyanto, I. Z., & Windraswara, R. (2017). *Lingkungan Tempat Perindukan Nyamuk Culex Quinquefasciatus Di Sekitar Rumah Penderita Filariasis*. Semarang: Jurusan Ilmu Kesehatan Masyarakat, Fakultas Ilmu Keolahragaan, Universitas Negeri Semarang.
26. Haryono, F. N. (2015). *Efikasi kelambu celup cypermethrin 100n EC terhadap nyamuk Culex quinquefasciatus dari daerah bekasi pada tahun 2015*. Jakarta: program studi pendidikan dokter fakultas kedokteran dan ilmu kesehatan universitas islam negeri syarif hidayatullah jakarta.
27. Carolia, N., & Noventi, W. (2016). *Potensi Ekstrak Daun Sirih Hijau (Piper betle L.) sebagai Alternatif Terapi Acne vulgaris*. Lampung: Fakultas Kedokteran, volume 5.
28. Handayani, K. D., Kusmintarsih, E. S., & Riwidiharso, E. (2017). *Prevalensi Mikrofilaria pada Nyamuk Culex dan Manusia di Desa Dukuhturi, Kecamatan Bumiayu, Kabupaten Brebes*. Purwokerto, Vol 34.
29. Isrianto, P. L., & Kristianto, S. (2017). *Perbandingan Ekstrak Etanol Buah Lerak Dan Abate Terhadap Mortalitas Larva Aedes aegypti Instar III*. Surabaya: Pendidikan Biologi FBS Universitas Wijaya Kusuma Surabaya.
30. Bagaskara, R. (2017). *Pemetaan Sebaran Nyamuk Culex Di Kecamatan Sandubaya Kota Mataram Menggunakan Geographic Information System (Gis) Sebagai Dasar Pengendalian Penyakit Filariasis*. Mataram: Jurusan Pendidikan Ipa Biologi Fakultas Tarbiyah Dan Keguruan.
31. Erfrihana, Y. (2019). *Konsentrasi efektifitas granula ekstrak daun sirih (Piper betle L.) Terhadap larva nyamuk Culex sp. dan pemanfaatannya sebagai buku ilmiah populer*. Jember: Jember: program studi biologi jurusan pendidikan mipa.
32. Fatrowie, A. F. (2015). *Perbedaan toksisitas ekstrak daun sirih hijau (Piper betle L.) dengan berbagai jenis pelarut terhadap mortalitas larva nyamuk Aedes aegypti L*. Jember: Jember: program studi pendidikan biologi jurusan pendidikan mipa.
33. Fenisenda, A., & Rahman, A. O. (2016). *Uji Resistensi Larva Nyamuk Aedes Aegypti Terhadap Abate (Temephos) 1% Di Kelurahan Mayang Mangurai Kota Jambi Pada Tahun 2016*. Jambi: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Jambi, Volume 4.
34. Ferina, S. N. (2016). *Efektivitas ekstrak biji sirsak (Annona muricata L.) sebagai larvasida terhadap larva Culex sp. instar III/IV di ciputat*. Jakarta: Jakarta: Program studi kedokteran dan profesi fakultas kedokteran dan ilmu kesehatan universitas islam negeri syarif hidayatullah.
35. Harviyanto, I. Z., & Windraswara, R. (2017). *Lingkungan Tempat Perindukan Nyamuk Culex Quinquefasciatus Di Sekitar Rumah Penderita Filariasis*. Semarang: Jurusan Ilmu Kesehatan Masyarakat, Fakultas Ilmu Keolahragaan, Universitas Negeri Semarang.
36. Haryono, F. N. (2015). *Efikasi kelambu celup cypermethrin 100n EC terhadap nyamuk Culex quinquefasciatus dari daerah bekasi pada tahun 2015*. Jakarta: program studi pendidikan dokter fakultas kedokteran dan ilmu kesehatan universitas islam negeri syarif hidayatullah jakarta.
37. Hidayat, M. (2015). *Kadar Immunoglobulin E, Jumlah Eosinofil Pada Penderita Filariasis Dengan Elefantiasis Dan Penderita Filariasis Pascaterapi*. Jambi: Keperawatan stikes, vol.4.
38. Ibrahim, A. M. (2013). *Uji efektifitas ekstrak daun sirih hijau (Piper betle Linn) terhadap pertumbuhan bakteri Streptococcus viridaus dengan metode Disc difusion*. Jakarta.
39. Iskandar, I., Horiza, H., & Fauzi, N. (2017). *Efektivitas Bubuk Biji Pepaya (Carica papaya linnaeus) Sebagai Larvasida Alami Terhadap Kematian Larva Aedes Aegypti Tahun 2015*. Tanjung pinang: Jurusan Kesehatan Lingkungan Poltekkes Kemenkes Tanjungpinang, Vol. 18.
40. Kohar, I. (2016). *Media Pharinaceutica Indonesiana*. Suarabaya.
41. Maharani, S. F. (2016). *Efektivitas ekstrak daun sirih (Piper betle Linn) sebagai larvasida terhadap larva Culex sp Instar III/IV*. Jakarta: Jakarta: Program studi kedokteran dan profesi dokter fakultas kedokteran dan ilmu kesehatan UIN syarif hidayatullah.
42. Muhsin, Safarianti, & Maryatun. (Volume 17). *Peran Sel Granulosit Pada Penyakit Filariasis*. Banda Aceh: Jurnal Kedokteran Syiah Kuala.

43. Oei, Y. W. (2013). *Uji toksisitas subkronis infusa daun sirih merah (Piper crocatum Ruiz & Pav.) pada tikus: studi terhadap gambaran Mikroskopis hati dan kadar SGPT darah*. Yogyakarta: Yogyakarta: fakultas farmasi universitas sanata dharma.
44. Permadi, I. D. (2013). *Keanekaragaman Tanaman Obat sebagai Larvasida dalam Upaya Pengendalian Vektor Demam Berdarah Dengue (DBD)*. Sumatra selatan: Jurnal Sains dan Teknologi Lingkungan .
45. Pratiwi, Y. E. (2019). *Konsentrasi efektif granula ekstrak buah jeruk nipis (Citrus X aurantiifolia (Christin.) Swingle) terhadap larva nyamuk Culex sp. dan pemanfaatannya sebagai buku ilmiah populer*. Jember: Jurusan pendidikan mipa dakultas keguruan dan ilmu pendidikan.
46. Prayoga, E. (2013). *Perbandingan efek ekstrak daun sirih hijau (Piper betle L.) dengan metode difusi disk dan sumuran terhadap pertumbuhan bakteri Staphylococcus aureus*. jakarta: Fakultas kedokteran dan ilmu kesehatan universitas islam negeri syarif hidayatullah.
47. Rabbani, F., Husni, P., & Hartono, K. (2017). *Formulasi Tablet Hisap Ekstrak Kering Daun Sirih Hijau (Piper betle L.)* . Bandung: Jurusan Farmasi, FMIPA, Universitas Al Ghifari, Volume 15.
48. Shidqon, M. A. (2016). *Bionomik Nyamuk Culex Sp Sebagai Vektor Penyakit Filariasis Wuchereria bancrofti (Studi Di Kelurahan Banyurip Kecamatan Pekalongan Selatan Kota Pekalongan Tahun 2015)* . Semarang: Semarang: Jurusan ilmu kesehatan masyarakat fakultas ilmu keolahragaan universitas negri semarang.
49. Silalahi, A. M. (2018). *Uji Efek Anti Nyamuk Losio Minyak Atsiri Kulit Jeruk Manis (Citrus sinensis L.)* . Medan: Medan: politeknik kesehatan kemenkes medan jurusan farmasi.
50. Siregar, W. R. (2018). *Uji Efek Anti Nyamuk Losio Minyak Atsiri Daun Kemangi (Ocimum tenuiflorum L.)* . Medan: Medan: Politeknik kesehatan Kemenkes medan jurusan farmasi.
51. Sugiyono, Iftitah, O. E., & Windriyati, Y. N. (2016). *Optimasi Formula Tablet Ekstrak Daun Sirih Merah (Piper Crocotum Ruiz & Pav) Dengan Metode Kempa Langsung Menggunakan Desain Faktorial* . Semarang: Majalah Farmasi, Sains, dan Kesehatan, Volum 2.
52. Sukendra, D. M., & Syafrianti, S. Y. (2019). *Perilaku Mencari Pakan pada Nyamuk Culex sp. sebagai Vektor Penyakit Filariasis* . Semarang: Univesitas Negeri Semarang, Jurusan Ilmu Kesehatan Masyarakat.
53. Widawati, M., & Prasetyowati, H. (2013). *Efektivitas Ekstrak Buah Beta vulgaris L. (buah bit) Dengan Berbagai Fraksi Pelarut Terhadap Mortalitas Larva Aedes aegypti* . Loka Penelitian dan Pengembangan Penyakit Bersumber Binatang (P2B2) Ciamis , Vol. 5.
54. Widiastuti, D., & Marbawati, D. (2016). *Efek Larvasida Bakteri Kitinolitik dari Limbah Kulit Udang terhadap Larva Aedes aegypti* . jawa tengah: Balai litbang.
55. Wilis, R., & Andrian. (2017). *Efektifitas Berkumur Rebusan Daun Sirih Dibandingkan Rebusan Daun Saga Terhadap Perubahan Derajat Keasaman Air Ludah* . Aceh besar: Jurusan Keperawatan Gigi Politeknik Kesehatan Kemenkes Aceh, Jl. Sukarno Hatta. Lampeunerut. Aceh Besar. E, Volume 2.
56. Safitri, Niken., (2018). *Efektivitas Ekstrak Rimpang Kunyit (Curcuma domestica Val) Sebagai Anti Nyamuk Elektrik Terhadap Aedes aegypti*. Skripsi. Jurusan Analis Kesehatan. Surabaya: Poltekkes Kemenkes Surabaya.
57. Ekasari, R., Manyullei, S., & Ishak, H. (2015). *Perbandingan Efektivitas Air Perasan Kulit Jeruk Manis dan Temephos Terhadap Kematian Larva Aedes Aegypti*. Kesehatan Lingkungan Universitas Hasanudin .
58. Indrasasono, A. L. (2019). *Efektivitas Ekstrak Daun Jambu Air (Syzygium Aqueum) Sebagai Larvasida Pada Larva Aedes aegypti INSTAR III*. Kementerian kesehatan republik indonesia politeknik kesehatan kemenkes surabaya jurusan analis kesehatan.
59. Isfanda, Lensoni, & Trias, S. S. (2019). *Efektivitas Ekstrak Bawang Putih (Allium Sativum) Sebagai Biolarvasida Terhadap Larva Nyamuk Aedes Aegypti*. Kesehatan Masyarakat, Fakultas Kesehatan Masyarakat, Universitas Abulyatama, Aceh Besar.
60. Mutiarasari, D., & Kala Tiku, L. B. (2017). *Uji Efektivitas Daun Pandan (Pandanus amaryllifolius Roxb.) Sebagai Larvasida Alami Terhadap Larva Aedes Aegypti*. Fakultas Kedokteran dan ilmu kesehatan : Universitas Tadalako.

61. Setiawan, B., Zarqya, i., Ichwa, Z., & Putro, S. (Desember 2019). *The Effect of Red Betel Leaf's Eddential Oil (Piper Crocatum Ruiz & Pav.) Against Third Instar Aedes aegypti Larvae*. Poltekkes Kemenkes Yogyakarta, Indonesia.
62. Syahrinastiti, T., Djamal, A., & Irawati, L. (2015). *Perbedaan Daya Hambat Ekstrak Daun Sirih Hijau (Piper Betle L.) dan Daun Sirih Merah (Piper crocatum Ruiz & Pav) Terhadap Pertumbuhan Escherichia coli*. Jurnal Kesehatan FK. unand.
63. Permenkes. (2017). Standart Baku Mutu kesehatan lingkungan dan persyaratan kesehatan untuk vektor dan binatang pembawa penyakit serta pengendaliannya.
64. Ratnawati, D., Manaf, S., & Sari, Y. N. (2016). *Aktivitas Larvasida Ekstrak Metanol Daun Selasih (Ocimum basilicum)*. Universitas Bengkulu, Indonesia.
65. WHO. (2015). Pedoman Untuk Laboratorium dan Pengujian Bidang Larvasida Mosquito. Organisasi Kesehatan Dunia.
66. Hidayatulloh, N., Kurniawan, B., & Wahyuni, A. (2013). *Efektivitas Pemberian Ekstrak Etanol 70% Akar Kecombrang (Etlingera elatior) Terhadap Larva Instar III Aedes aegypti sebagai Biolarvasida Potensi*. Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.