

Efektivitas Ekstrak Daun Ceremai (*Phyllanthus acidus*) terhadap Mortalitas Larva *Aedes aegypti*

The Effectiveness of Phyllanthus acidus Leaves Extract on The Mortality of Aedes aegypti Larvae

Yulida Catur Pratiwi, Tjipto Haryono, Yuni Sri Rahayu
Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Negeri Surabaya

ABSTRAK

Aedes aegypti merupakan vektor penyakit arbovirus, antara lain demam berdarah dengue, *yellow fever*, encephalitis dan chikungunya. Salah satu cara pengendalian vektor, yaitu menggunakan larvasida nabati dari daun ceremai. Penelitian ini bertujuan untuk mendeskripsikan kandungan metabolit sekunder ekstrak daun ceremai; mendeskripsikan pengaruh ekstrak daun ceremai terhadap mortalitas larva *Aedes aegypti*; serta menentukan *lethal concentration* ekstrak daun ceremai yang menyebabkan kematian 50% dan 90% (LC₅₀ dan LC₉₀) pada 24, 48, dan 72 jam setelah perlakuan. Penelitian bersifat eksperimental laboratorium menggunakan rancangan acak lengkap. Sasaran penelitian, yaitu larva *Aedes aegypti* instar III yang diberi perlakuan berupa ekstrak daun ceremai dengan konsentrasi 0,4%; 0,6%; 0,8%; 1,0%; 1,2%; serta 0% sebagai kontrol. Pengulangan dilakukan sebanyak 4 kali dengan tiap unit perlakuan berisi 20 larva *Aedes aegypti*. Pengamatan mortalitas dilakukan setiap 24 jam selama 3 hari kemudian data dianalisis menggunakan *One Way ANOVA*, uji Tukey (BNJ), dan Probit. Berdasarkan uji profil fitokimia, ekstrak daun ceremai mengandung senyawa flavonoid, tanin, dan saponin. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun ceremai berpengaruh secara nyata terhadap mortalitas larva *Aedes aegypti*, baik pada 24, 48 maupun 72 jam setelah perlakuan. LC₅₀ dan LC₉₀, yaitu: 0,505% dan 0,922% pada 24 jam setelah perlakuan; 0,432% dan 0,732% pada 48 jam setelah perlakuan; 0,421% dan 0,682% pada 72 jam setelah perlakuan.

Kata kunci: *Aedes aegypti*; daun ceremai; mortalitas larva; LC₅₀; LC₉₀

ABSTRACT

Aedes aegypti is an arbovirus disease vector i.e. dengue hemorrhagic fever, yellow fever, encephalitis, and chikungunya. One of the vector controlling is using botanical larvicide from *Phyllanthus acidus* leaves. This research aimed to describe the secondary metabolite of *Phyllanthus acidus* leaves extract; to describe the effect of *Phyllanthus acidus* leaves extract on the mortality of *Aedes aegypti* larvae; and to determine the lethal concentration of *Phyllanthus acidus* leaves extract for 50% and 90% mortality (LC₅₀ and LC₉₀) at 24, 48, and 72 hours after treatment. It was laboratory experimental by completely random design. The experimental object was 3rd instars of *Aedes aegypti* larvae that got into liquid of *Phyllanthus acidus* leaves extract: 0.4%; 0.6%; 0.8%; 1.0%; 1.2%; and 0% as control. There were 4 replications and every unit treatments consisted of 20 larvae. Mortality counting was held every 24 hours for 3 days, and then it was analyzed by *One Way ANOVA*, Tukey (HSD), and Probit. The phytochemical testing showed that *Phyllanthus acidus* leaves extract contain of flavonoid, tannin, and saponin. *Phyllanthus acidus* leaves extract significantly affected on the mortality of *Aedes aegypti* larvae at 24, 48, and 72 hours after treatment. LC₅₀ and LC₉₀ were: 0.505% and 0.922% at 24 hours after treatment; 0.432% and 0.732% at 48 hours after treatment; 0.421% and 0.682% at 72 hours after treatment.

Key words: *Aedes aegypti*; *Phyllanthus acidus* leaves; mortality of larvae; LC₅₀; LC₉₀

PENDAHULUAN

Ae. aegypti merupakan vektor penyakit arbovirus berbahaya yang dapat mengakibatkan kematian seperti DBD (Demam Berdarah Dengue), *yellow fever*, *encephalitis*, dan cikungunya (Ndione dkk., 2007; Supartha, 2008). Salah satu cara pengendalian vektor (*Ae. aegypti*), yaitu menggunakan larvasida. Penggunaan larvasida sintetik dapat menyebabkan resistensi, resurgensi, serta sulit terdegradasi sehingga mencemari

lingkungan dan menyebabkan keracunan pada organisme nonsasaran. Kasus resistensi larva *Ae. aegypti* terhadap larvasida sintetik, temefos (Abate), terjadi di beberapa negara seperti Brazil, Bolivia, Argentina, Venezuela, Cuba, French Polynesia, Karibia, dan Thailand (Felix, 2008). Di Indonesia terjadi indikasi penurunan kerentanan larva *Ae. aegypti* terhadap temefos (Gafur dkk, 2006).

Daun ceremai mengandung senyawa flavonoid, tanin, dan saponin yang dapat merusak permeabilitas membran sel, koagulator protein, menghambat kerja enzim, dan menghambat proses pencernaan protein (Robinson, 1995; Cowan, 1999; Widodo, 2005). Hasil penelitian Nirmawati (2010), menunjukkan bahwa ekstrak daun ceremai memiliki efek larvasida terhadap larva *Anopheles aconitus* dengan LC_{50} dan LC_{99} sebesar 0,505% dan 1,23%. Hal ini menjadi acuan untuk menggunakan ekstrak daun ceremai sebagai larvasida *Ae. aegypti* yang merupakan satu famili dengan *An. aconitus*, yaitu Culicidae. Larva *An. aconitus* dan *Ae. aegypti* memiliki persamaan, yaitu hidup pada habitat akuatik. Namun, larva *An. aconitus* dan *Ae. aegypti* berbeda habitat, morfologi, dan anatomi sehingga perlu dilakukan penelitian tentang efektivitas ekstrak daun ceremai terhadap mortalitas larva *Ae. aegypti*.

Pengaruh larvasida terhadap larva nyamuk dapat diketahui dengan memasukkan larva ke dalam suatu larutan uji (larutan larvasida) dengan berbagai konsentrasi selama 24-48 jam atau bahkan lebih (WHO, 2005). Selama pengamatan mortalitas larva dicatat untuk mengetahui pengaruh larvasida terhadap larva nyamuk serta menentukan LC_{50} dan LC_{90} .

Hasil uji pendahuluan menunjukkan adanya pengaruh pemberian ekstrak daun ceremai terhadap mortalitas larva *Ae. aegypti*, yaitu semakin tinggi konsentrasi, maka semakin tinggi mortalitas larva untuk konsentrasi ekstrak daun ceremai dengan rentang 0% hingga 1,2%. Larva yang mati menunjukkan kondisi kaku dan lisis yang semakin banyak seiring meningkatnya konsentrasi ekstrak daun ceremai.

Penelitian ini bertujuan untuk mendeskripsikan kandungan metabolit sekunder ekstrak daun ceremai; mendeskripsikan pengaruh ekstrak daun ceremai terhadap mortalitas larva *Aedes aegypti*; serta menentukan *lethal concentration* ekstrak daun ceremai yang menyebabkan kematian 50% dan 90% (LC_{50} dan LC_{90}) pada 24, 48 dan 72 jam setelah perlakuan.

BAHAN DAN METODE

Penelitian bersifat eksperimental yang dilakukan di Laboratorium Mikroteknik dan Mikrobiologi, Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Surabaya pada bulan Februari-Juni 2013. Sasaran penelitian, yaitu larva *Aedes aegypti* instar III yang diberi perlakuan berupa ekstrak daun ceremai dengan konsentrasi 0,4%; 0,6%; 0,8%; 1,0%; 1,2%; serta 0% sebagai kontrol.

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan pengulang sebanyak 4 kali.

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain *rotary vacuum evaporator*, neraca, labu erlenmeyer, *stirrer*, termometer, pH meter, gelas plastik (*test cup*), botol fial, pipet, dan mikroskop. Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain daun ceremai, metanol, air, larva *Ae. aegypti* instar III, $FeCl_3$ 1 %, HCl 37%, etanol 95%, HCl 1%, serbuk, dan Mg.

Daun ceremai yang telah dicuci bersih, dikeringanginkan selama 7 hari kemudian dihaluskan. Serbuk daun ceremai dimaserasi menggunakan metanol dengan perbandingan 1:3 (untuk perendaman pertama), dan 1:2 (untuk perendaman kedua dan ketiga). Tiap perendaman dilakukan selama 24 jam. Filtrat yang diperoleh diuapkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* sehingga diperoleh ekstrak daun ceremai.

Uji flavonoid. Ekstrak daun ceremai seberat 0,5 gram, 1-2 ml air panas, dan sedikit serbuk Mg dimasukkan ke dalam botol fial kemudian ditambahkan 4-5 tetes HCl 37% dan etanol 95%, kocok hingga tercampur. Apabila timbul warna merah, kuning, atau jingga maka ekstrak daun ceremai positif mengandung flavonoid (Lathifah, 2008).

Uji tanin. Ekstrak daun ceremai seberat 0,5 gram, 1-2 ml air dan 2 tetes $FeCl_3$ 1% dimasukkan ke dalam botol fial kemudian dikocok hingga tercampur. Apabila timbul warna hijau kebiruan maka ekstrak daun ceremai positif mengandung tanin (Lathifah, 2008).

Uji saponin. Ekstrak daun ceremai seberat 0,5 gram dimasukkan ke dalam botol fial dan ditambahkan air sebanyak 0,5 ml kemudian dikocok selama 1 menit. Apabila timbul busa, ditambahkan HCl 1%. Jika busa tetap stabil selama 10 menit maka ekstrak daun ceremai positif mengandung saponin (Lathifah, 2008).

Uji Mortalitas pada Larva *Ae. aegypti*. Larutan stok merupakan larutan ekstrak daun ceremai 10%, yaitu ekstrak daun ceremai sebanyak 10 gram diencerkan dengan air hingga volumenya menjadi 100 ml. Larutan stok diencerkan hingga diperoleh konsentrasi 0,4%; 0,6%; 0,8%; 1,0%; dan 1,2%, sedangkan konsentrasi 0% merupakan kontrol tanpa penambahan larutan ekstrak. Pada tiap unit perlakuan dimasukkan 20 larva *Ae. aegypti* dan diamati setiap 24 jam selama 3 hari.

HASIL

Pada penelitian ini uji profil fitokimia ekstrak daun ceremai meliputi uji flavonoid, tanin, dan

saponin. Uji flavonoid menggunakan metode *shinoda test* (Mg dan HCl). Ekstrak daun ceremai diencerkan dengan air dan etanol sehingga diperoleh larutan ekstrak daun ceremai yang berwarna hijau. Larutan ekstrak daun ceremai berubah warna menjadi jingga setelah larutan ekstrak daun ceremai ditambah dengan HCl dan serbuk Mg. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun ceremai mengandung senyawa flavonoid (Lathifah, 2008).

Uji tanin menggunakan pereaksi FeCl_3 yang berupa larutan berwarna kuning. Larutan ekstrak daun ceremai yang berwarna hijau berubah warna menjadi hijau kebiruan setelah ditambah pereaksi FeCl_3 . Perubahan warna yang terjadi menunjukkan bahwa ekstrak daun ceremai mengandung tanin. Uji saponin dilakukan dengan metode pengocokan sebab saponin memiliki karakteristik seperti sabun, yaitu mampu membentuk busa. Kondisi awal larutan ekstrak daun ceremai, yaitu tidak berbusa. Setelah dikocok, timbul busa pada larutan ekstrak daun ceremai. Busa tersebut mampu bertahan dalam jangka waktu yang lama, yaitu sekitar 10 menit. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun ceremai mengandung saponin (Lathifah, 2008).

Suhu media selama pengamatan, yaitu 27–28°C dengan pH berkisar 6,2–7. Larva *Ae. aegypti* yang mati berada pada dasar media dalam kondisi bengkok atau memanjang kaku. Persentase mortalitas larva *Ae. aegypti* pada 24, 48, dan 72 jam setelah perlakuan dianalisis menggunakan *Descriptives Statistic* untuk mengetahui nilai mean dan standar deviasi. Uji normalitas Kolmogorov Smirnov menunjukkan bahwa data mortalitas larva *Ae. aegypti* pada 24, 48, dan 72 jam setelah perlakuan terdistribusi normal dengan nilai signifikansi secara berturut-turut $0,435 > 0,05(\alpha)$; $0,399 > 0,05(\alpha)$; dan $0,334 > 0,05(\alpha)$. Data selanjutnya dianalisis menggunakan *One Way ANOVA* yang hasilnya, yaitu $F_{\text{Hitung}} (1,639 \times 10^3) > F_{\text{Tabel}} (2,74)$ untuk mortalitas pada 24 jam setelah perlakuan; $F_{\text{Hitung}} (2,116 \times 10^3) > F_{\text{Tabel}} (2,74)$ untuk mortalitas pada 48 jam setelah perlakuan; dan $F_{\text{Hitung}} (1,256 \times 10^3) > F_{\text{Tabel}} (2,74)$ untuk mortalitas pada 72 jam setelah perlakuan. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun ceremai berpengaruh secara nyata terhadap mortalitas larva *Ae. aegypti*, sehingga perlu dilanjutkan dengan uji Tukey (Tabel 1).

Tabel 1. Efektivitas ekstrak daun ceremai terhadap mortalitas larva *Ae. aegypti* pada 24, 48, dan 72 jam setelah perlakuan

Konsentrasi Ekstrak Daun Ceremai (%)	Rerata ± Standar Deviasi		
	Persentase Mortalitas Larva <i>Ae. aegypti</i> (%)		
	24 Jam Setelah Perlakuan	48 Jam Setelah Perlakuan	72 Jam Setelah Perlakuan
0	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a
0,4	48,75 ± 2,50 ^b	56,25 ± 2,50 ^b	63,75 ± 4,79 ^b
0,6	63,75 ± 2,50 ^c	73,75 ± 4,79 ^c	82,50 ± 2,89 ^c
0,8	77,50 ± 2,89 ^d	90,00 ± 0,00 ^d	93,75 ± 2,50 ^d
1,0	88,75 ± 2,50 ^e	100,00 ± 0,00 ^e	100,00 ± 0,00 ^e
1,2	100,00 ± 0,00 ^f	100,00 ± 0,00 ^e	100,00 ± 0,00 ^e

Keterangan: Hasil uji Tukey dengan taraf ketelitian sebesar 0,05 dinyatakan dengan notasi a, b, c, d, e, dan f. Untuk setiap kolom, notasi a, b, c, d, e, dan f menunjukkan adanya beda nyata pada tiap konsentrasi.

Terdapat perbedaan mortalitas larva pada setiap konsentrasi ekstrak daun ceremai (Tabel 1). Pada 24 jam setelah perlakuan, mortalitas larva *Ae. aegypti* berbeda nyata pada tiap konsentrasi ekstrak daun ceremai. Rerata persentase mortalitas larva meningkat seiring peningkatan konsentrasi ekstrak daun ceremai dengan mortalitas terendah terjadi pada konsentrasi ekstrak daun ceremai sebesar 0,4% dan mortalitas tertinggi terjadi pada konsentrasi ekstrak daun ceremai sebesar 1,2%. Pada 48 dan 72 jam setelah perlakuan, terdapat notasi yang sama pada konsentrasi ekstrak daun ceremai 1,0% dan 1,2%. Hal ini menunjukkan bahwa mortalitas larva *Ae.*

aegypti pada konsentrasi ekstrak daun ceremai sebesar 1,0% tidak berbeda nyata dengan mortalitas larva *Ae. aegypti* pada konsentrasi 1,2%, yaitu menyebabkan mortalitas sebesar 100%.

Lethal concentration yang menyebabkan mortalitas sebesar 50% (LC_{50}) dan 90% (LC_{90}) dapat diketahui dengan analisis probit. Data mortalitas larva *Ae. aegypti* yang mati pada 24, 48, dan 72 jam setelah pemberian ekstrak daun ceremai dianalisis sehingga diperoleh LC_{50} dan LC_{90} .

LC_{50} dan LC_{90} semakin kecil seiring dengan semakin lama waktu perlakuan atau pemaparan,

sebab semakin lama waktu pemaparan maka semakin besar mortalitas larva. LC₅₀ ekstrak daun ceremai pada 24, 48, dan 72 jam setelah perlakuan, yaitu 0,505% > 0,432%, > 0,421%. LC₉₀ pada 24, 48, dan 72 jam setelah perlakuan, yaitu 0,922% > 0,732% > 0,682% (Tabel 2).

Tabel 2. LC₅₀ dan LC₉₀ ekstrak daun ceremai terhadap mortalitas larva *Ae. aegypti* pada 24, 48, dan 72 jam setelah perlakuan

Waktu	Lethal Concentration (LC)	
	Ekstrak Daun Ceremai	
	LC ₅₀	LC ₉₀
24 Jam Setelah Perlakuan	0,505%	0,922%
48 Jam Setelah Perlakuan	0,432%	0,732%
72 Jam Setelah Perlakuan	0,421%	0,682%

Keterangan:

LC₅₀ merupakan konsentrasi ekstrak yang dapat menyebabkan mortalitas larva sebesar 50%, sedangkan LC₉₀ merupakan konsentrasi ekstrak yang dapat menyebabkan mortalitas larva sebesar 90%.

PEMBAHASAN

Hasil uji profil fitokimia ekstrak daun ceremai sesuai menunjukkan bahwa ekstrak daun ceremai mengandung senyawa flavonoid, tanin, dan saponin. Kandungan flavonoid ditunjukkan oleh adanya perubahan warna dari hijau tua menjadi jingga setelah penambahan HCl dan serbuk Mg (Lathifah, 2008). Perubahan warna larutan ekstrak daun ceremai dari hijau tua menjadi hijau kebiruan ketika ditambahkan FeCl₃ menunjukkan adanya senyawa tanin (Lathifah, 2008). Perubahan warna terjadi akibat terbentuknya ikatan kovalen koordinasi antara ion logam dengan nonlogam (Sumadewi, 2011). Senyawa aktif saponin bersifat seperti sabun dan dideteksi berdasarkan kemampuan membentuk busa pada pengocokan. Kemampuan saponin untuk membentuk busa disebabkan oleh kombinasi saponin yang bersifat nonpolar dan air pada rantai samping (Widodo, 2005).

Hasil penelitian Nirmawati (2010) menyatakan bahwa senyawa-senyawa yang terkandung dalam ekstrak daun ceremai bersifat larvasida atau mampu mengakibatkan kematian larva *An. aconitus* yang merupakan satu famili dengan *Ae. aegypti*. Senyawa flavonoid, tanin, dan saponin merupakan metabolit sekunder yang dalam jumlah tertentu memiliki efek toksik

terhadap larva sehingga mengakibatkan kematian.

Berdasarkan hasil pengamatan larva *Ae. aegypti* yang mati, diketahui bahwa sel-sel larva mengalami lisis yang semakin banyak seiring dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak daun ceremai. Flavonoid dan tanin termasuk kelompok senyawa fenolik yang bersifat koagulator protein yang dapat merusak protein dengan cara membentuk kompleks dengan protein sehingga susunan protein berubah (Cowan, 1999). Menurut Robinson (1991) dan Widodo (2005) saponin dapat berikatan dengan protein dan lipid penyusun membran sel yang mengakibatkan struktur protein dan lipid mengalami perubahan. Protein dan lipid merupakan komponen penyusun membran sel, bila salah satu penyusun membran sel rusak maka tegangan permukaan menurun. Hal ini menyebabkan terjadinya osmosis komponen intraseluler sehingga sel mengalami lisis.

Flavonoid, tanin dan saponin juga memengaruhi protein fungsional, yaitu enzim (Robinson, 1991; Cowan, 1999; Widodo, 2005). Inaktivasi kerja enzim dapat mengganggu metabolisme sel yang berpengaruh pada ketersediaan energi tubuh. Apabila kebutuhan energi tubuh larva tidak tercukupi dapat mengakibatkan larva lemas yang lama-kelamaan larva mati karena kehabisan energi. Gejala kekurangan energi pada larva terlihat selama pengamatan. Larva yang hidup pada media larutan ekstrak terlihat lebih pasif dibanding larva yang hidup pada media kontrol atau konsentrasi ekstrak 0%. Larva terlihat lebih banyak mengambang pada dasar media dan gerakannya lebih lambat dibanding larva pada kontrol terutama ketika diberi rangsang berupa sentuhan pada sifon maupun bagian tubuh yang lain. Kondisi larva yang mati, yaitu tenggelam dengan tubuh memanjang kaku atau membengkok.

Pada saat perlakuan, suhu media 27-28 °C dan pH media berkisar 6,2-7. Menurut hasil penelitian Wu dan Nian-Tai (1993) kondisi yang optimal bagi pertumbuhan dan perkembangan larva *Ae. aegypti*, yaitu pada suhu 24-28°C dengan pH 6. Namun larva dapat bertahan pada kondisi pH 5,5-7,0. Hal ini menjadi tolak ukur bahwa perubahan pH sebagai akibat penambahan ekstrak daun ceremai tidak memengaruhi mortalitas larva sebab pH media masih berada pada rentang yang aman bagi kelangsungan hidup larva *Ae. aegypti*.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian tentang efektivitas ekstrak daun ceremai terhadap mortalitas larva *Ae. aegypti* dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun ceremai mengandung senyawa flavonoid, tanin, dan saponin. Ekstrak daun ceremai berpengaruh secara nyata terhadap mortalitas larva *Ae. aegypti* pada 24, 48, dan 72 jam setelah perlakuan, yaitu semakin besar konsentrasi ekstrak daun ceremai, maka semakin besar mortalitas larva *Ae. aegypti*. Konsentrasi ekstrak daun ceremai yang efektif mematikan larva *Ae. aegypti* sebesar 50% (LC₅₀) dan 90% (LC₉₀), yaitu 0,505% dan 0,922% pada 24 jam setelah perlakuan; 0,432% dan 0,732% pada 48 jam setelah perlakuan; 0,421% dan 0,682% pada 72 jam setelah perlakuan.

DAFTAR PUSTAKA

- Cowan MM, 1999. "Plant Products as Antimicrobial Agents". *Clinical Microbiology Review* 12(4): 564.
- Felix, 2008. Ketika Larva dan Nyamuk Dewasa Sudah Kebal terhadap Insektisida. *Farmacia*, Vol.7, No. 7. Web publication http://www.majalah-farmacia.com/rubrik/one_news.asp?IDNews=643. Diunduh tanggal 15 Pebruari 2012.
- Gafur A, Mahrina, Hardiansyah, 2006. Kerentanan Larva *Aedes aegypti* dari Banjar Masin Utara terhadap Temefos. *Bioscientiae*, 3(2): 73-82.
- Lathifah QA, 2008. Uji Efektifitas Ekstrak Kasar Senyawa Antibakteri pada Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dengan Variasi Pelarut. *Skripsi*. Tidak dipublikasikan. Malang: Universitas Islam Negeri Malang.
- Ndione RD, Omar F, Mady N, Abdoulaye D, Jose MA, 2007. Toxic Effects of Neem Products (*Azadirachta indica* A. Juss) on *Aedes aegypti* Linnaeus 1762 Larvae. *African Journal of Biotechnology*, 6(24): 2846-2854.
- Nirmawati K, 2010. Efek Ekstrak Daun Ceremai (*Phyllanthus acidus* [L.] Skeels) terhadap Kematian Larva *Anopheles aconitus* In Vitro. *Skripsi*. Tidak dipublikasikan. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.
- Robinsin T, 1991. *Kandungan organik Tumbuhan Tinggi* (terjemahan oleh Padmawinata K). Bandung: ITB.
- Sumadewi NLU, 2011. Isolasi Senyawa Tanin dan Uji Efek Hipoglikemik Ekstrak Kulit Batang Bungur (*Lagerstroemia speciosa* Pers.) terhadap Darah Mencit yang Diinduksi Aloksan. *Thesis*. Tidak dipublikasikan. Denpasar: Universitas Udayana.
- Supartha IW, 2008. Pengendalian Terpadu Vektor Virus Demam Berdarah Dengue, *Aedes aegypti* (Linn.) dan *Aedes albopictus* (Skuse) (Diptera:Culicidae). *Makalah*. Disampaikan pada Pertemuan Ilmiah Dies Natalis Universitas Udayana, Denpasar 3-6 September 2008.
- WHO. 2005. *Guideline for Laboratory and Field Testing of Mosquito Larvacides*. Web publication http://whqlibdoc.who.int/hq/2005/WHO_CDS_WHPES_GCDPP_2005.13.pdf. Diunduh tanggal 15 Pebruari 2012.
- Widodo W, 2005. *Tanaman Beracun Dalam Kehidupan Ternak*. Malang: Universitas Muhammadiyah Malang Press.
- Wu H, Nian-Tai C, 1993. Influence of Temperature, Water Quality and pH Value on Ingestion and Development of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) Larvae. *Chinese Journal Entomology*, 13:33-34