

UJI DAYA BUNUH EKSTRAK ETANOL 70% KELAKAI (*Stenochlaena palustris* (Burm. F.) Bedd) TERHADAP LARVA INSTAR III *Aedes aegypti*

BIOKONTROL APPROACH FOR CONTROLLING THE AEADES AEGYPTI LARVA USING ETHANOL EXTRACT 70% KELAKAI (*STENOCHLAENA PALUSTRIS* (BURM. F.) BEDD)

Lucya Suling¹, Indria Augustina², Fatmaria³

Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Palangkaraya,

Palangkaraya, Indonesia

Email: Sulinglucya@gmail.com

ABSTRAK

Latar Belakang : Demam Berdarah Dengue (DBD) adalah infeksi yang disebabkan oleh virus dengue. Tinggi rendahnya angka kematian karena penyakit DBD berhubungan dengan tinggi rendahnya populasi nyamuk *Aedes aegypti* Tujuan : Mengetahui pengaruh ekstrak etanol 70% kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.f.) Bedd.) sebagai larvasida. Metode : Penelitian ini menggunakan jenis penelitian True experimental dengan metode Posttest Only Control Group Design. Larva *Aedes aegypti* dibagi menjadi 7 kelompok yaitu kelompok uji kontrol (-), kelompok uji ekstrak 0.1%; 0.25%;0.5%; 0.75%; 1% serta kelompok uji kontrol (+) Hasil: Didapatkan rata-rata kematian larva berjumlah dibawah 50% dengan nilai LC50 sebesar 1.554% dan LC90 sebesar 5.992% yang melebihi nilai standar kriteria larvasida yaitu <1000 ppm atau <1%. Kesimpulan: Ekstrak etanol 70% Kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.f.) Bedd) tidak mempunyai efek larvasida terhadap Larva Instar III *Aedes aegypti*.

Kata Kunci: Kelakai, Larva *Aedes aegypti*, Daya bunuh.

ABSTRACT

Background: Dengue fever (DBD) is an infection caused by dengue virus. High low mortality rate due to DBD disease is associated with high low mosquito population *Aedes aegypti*. Objective: To determine the effect of ethanol extract 70% Kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm. F.) Bedd.) as Larvacide. Method: True experimental type of research with Posttest Only Control Group Design method. The Larva *Aedes aegypti* is divided into 7 groups i.e. the Test control group (-), test group of 0.1%;0.25%; 0.5%; 0.75%; 1% as well as the control test group (+). Result: The average larva death rate is below 50% with a LC50 value of 1.554% and a LC90 of 5.992% exceeding the standard value of the Larvacide criteria i.e. < 1000 ppm or < 1%. Conclusions: Ethanol extract 70% Kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm. F.) Bedd) has no larvacide effect on Larva instar III *Aedes aegypti*.

Keyword: Kelakai, larvae *Aedes aegypti*, kill power.

PENDAHULUAN

Demam Berdarah Dengue (DBD) adalah infeksi yang disebabkan oleh virus dengue. Menurut data WHO Indonesia dilaporkan sebagai negara ke-2 dengan kasus DBD terbesar diantara 30 wilayah endemis.¹ Pada tahun di 2017 di Provinsi Kalimantan Tengah dilaporkan terdapat 894 kasus DBD, lebih sedikit bila dibandingkan dengan jumlah kasus DBD pada tahun 2016 sebanyak 1762 kasus DBD, dengan jumlah kematian sebanyak 18 orang lebih sedikit

dibandingkan jumlah kematian pada tahun 2016 yang berjumlah 24 orang.² Tinggi rendahnya angka kematian karena penyakit DBD ini berhubungan dengan tinggi rendahnya populasi nyamuk *Aedes*. Semakin tinggi populasi nyamuk maka memungkinkan jumlah penderita makin banyak.³

Pemberantasan nyamuk *Aedes aegypti* merupakan cara yang paling utama untuk memberantas penyakit DBD. Pengendalian yang paling sering dilakukan saat ini adalah pengendalian secara kimiawi dengan membunuh larva dari vektor untuk memutus rantai

penularannya menggunakan abate (temephos).^{4,5} Penggunaan abate (temephos) di Indonesia sudah sejak tahun 1976. Empat tahun kemudian yakni tahun 1980, abate (temephos) ditetapkan sebagai bagian dari program pemberantasan massal *Aedes aegypti* di Indonesia. Bisa dikatakan abate (temephos) sudah digunakan lebih dari 30 tahun. Tidak menutup kemungkinan, penggunaan abate (temephos) yang lebih dari 30 tahun di Indonesia mampu menimbulkan resistensi. Laporan resistensi larva *Aedes aegypti* terhadap abate (temephos) sudah ditemukan di beberapa negara seperti Brazil, Bolivia, Argentina, Kuba, Karibia, dan Thailand.⁶

Menurut Cavalcanti (2004), temephos diduga beracun karena dapat menyebabkan sakit kepala, iritasi, dan hilang ingatan. Selain itu temefos juga bersifat racun terhadap beberapa senyawa air.⁷ Menurut laporan oleh Braga (2004), penggunaan insektisida sintetik untuk pengendalian nyamuk dapat bermanfaat bila digunakan dalam keadaan tepat. Tapi, bila digunakan dalam skala yang luas, terus-menerus dalam jangka panjang, dan dengan frekuensi yang tinggi, dapat menimbulkan penurunan kerentanan.⁸

Untuk itu maka perlu alternatif lain dalam pengendalian nyamuk vektor yang aman bagi manusia dan lingkungan tetapi efektif dalam menekan dan mengendalikan populasi nyamuk vektornya. Tindakan pengontrolan terhadap nyamuk ditujukan pada larva dan nyamuk dewasa. Tindakan yang ditujukan pada larva mencakup menyingkirkan atau memodifikasi habitat-habitat larva.⁹ Insektisida alami berbahan dasar dari tumbuhan yang mengandung senyawa bioaktif yang toksik bagi serangga serta berasal dari bahan tumbuhan alami mudah terurai (*biodegradable*). Tumbuhan yang dapat dijadikan sebagai bahan pembuatan insektisida alami memiliki kandungan diantaranya yaitu tanin, saponin, alkaloid dan flavonoid, dan steroid.^{10,11}

Kalimantan merupakan pulau di Indonesia yang terkenal dengan kekayaan keanekaragaman hayatinya. Salah satu tumbuhan khas Kalimantan yang berkhasiat sebagai obat tradisional adalah Kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm. f.) Bedd.).¹² Hasil skrining fitokimia kelakai memiliki senyawa aktif seperti alkaloid dan steroid. Informasi ilmiah lainnya adalah terdapatnya potongan metabolit primer (lemak, protein) dan metabolit sekunder (flavonoid, steroid dan alkaloid) didalam jaringan komponen tumbuhan kelakai.¹³

Uji toksisitas merupakan salah satu uji aktivitas biologi terhadap ekstrak tanaman dengan mengamati respon kematian pada hewan percobaan. Hewan percobaan untuk uji toksisitas biasanya menggunakan ikan, larva nyamuk dan larva udang. Kematian dari hewan percobaan dianggap sebagai respon terhadap pengaruh senyawa tertentu. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Anggraeni (2015) diperoleh bahwa ekstrak etanol kelakai memiliki toksisitas tinggi dengan hasil uji LC₅₀ mortalitas larva udang BSLT

(*Brine Shrimp Lethaly Test*) didapatkan nilai 760,099 ppm. Berdasarkan studi yang dilakukan Meyer, senyawa kimia dikatakan berpotensi aktif bila mempunyai LC₅₀ kurang dari 1000 ppm.¹⁴

Berdasarkan penjelasan diatas serta pemanfaatan senyawa aktif yang terkandung dalam kelakai sebagai larvasida alami masih terbatas dan hingga saat ini belum terdapat penelitian kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.f.) Bedd.) sebagai larvasida, maka perlu dilakukan penelitian uji daya bunuh ekstrak etanol 70% kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.f.) Bedd.) terhadap larva instar III *Aedes aegypti* sebagai insektisida alami dan mengetahui kemampuan kelakai untuk membunuh larva nyamuk *Aedes aegypti* selama 24 jam.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian *True experimental* dengan metode *Posttest Only Control Group Design*. Sampel yang digunakan adalah larva *Aedes aegypti* instar III. Larva nyamuk ini diperoleh dari Lokasi Balai Penelitian dan Pengembangan Pengendalian Penyakit bersumber Binatang (P2B2) Tanah Bumbu-Kalimantan Selatan. Cara pengambilan sampel pada penelitian ini adalah dengan *Purposive Sampling*, yaitu metode pemilihan subjek berdasarkan atas ciri-ciri atau sifat tertentu yang berkaitan dengan karakteristik sampel.

Berdasarkan acuan Guideline WHO (2005) bahwa besar sampel dalam penelitian larvasida adalah 20-30 ekor larva *Aedes aegypti* instar III untuk masing-masing perlakuan dengan pengulangan sebanyak 4 kali untuk setiap perlakuan.⁸⁸ Pada penelitian ini besar sampel yang digunakan adalah 25 ekor larva yang merupakan angka median atau nilai tengah dari acuan pedoman uji larvasida.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Pengamatan Larva *Aedes aegypti*

Pada gambar 1 merupakan gambaran dari Larva *Aedes aegypti* yang masih sehat dan utuh. Morfologi tubuh dari larva ini terlihat jelas, pada bagian kaput terdapat antenna. Thoraks memiliki rambut-rambut di kedua sisi, abdomen terutama saluran pencernaan terlihat utuh dan posterior tubuh terdapat siphon berbentuk bulat pendek berwarna coklat kehitaman yang merupakan khas dari larva *Aedes aegypti*.



Gambar 1. Larva *Aedes aegypti* yang sehat

Berbeda pada gambar 2 merupakan gambaran dari Larva *Aedes aegypti* yang sudah mati. Bentuk morfologi tubuh dari larva ini telah mengalami perubahan. Antena tidak terlihat jelas, thoraks berubah ukuran menjadi lebih kecil dibandingkan dengan thoraks pada larva yang sehat (gambar 5.1), abdomen terutama pada saluran pencernaan telah terjadi kerusakan dan siphon mengalami perubahan warna menjadi lebih muda dan agak transparan.



Gambar 2. Larva *Aedes aegypti* yang Sudah Mati dengan keadaan Saluran Pencernaan Rusak dan Perubahan Warna Pada Tubuh Larva Menjadi Lebih Transparan Akibat Terpapar Larutan Ekstrak

Pada gambar. 3 merupakan gambaran dari Larva *Aedes aegypti* yang mati dan telah mengalami lisis pada tubuhnya. Morfologi tubuh dari larva ini mengalami perubahan yang signifikan. Antena tidak terlihat jelas. Thoraks dan abdomen terutama pada saluran pencernaan mengalami lisis total dan posterior tubuh masih terdapat siphon namun telah mengalami perubahan warna menjadi sangat muda. Ukuran larva ini juga telah mengalami penyusutan dan larva menjadi transparan dan sangat rapuh. Kondisi larva seperti ini paling banyak ditemukan pada pengamatan ke 24 jam.



Gambar 3. Larva *Aedes aegypti* dengan Kondisi Tubuh Larva yang lisis Akibat Terpapar Larutan Ekstrak

Hasil Pengamatan Efek Pemberian Ekstrak Etanol 70% Kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.f.) Bedd.) Terhadap Larva Instar III *Aedes aegypti*

Adapun kematian larva *Aedes aegypti* yang diberikan perlakuan dengan ekstrak etanol 70% Kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.f.) Bedd.) dalam masing-masing waktu pengamatannya

Tabel 1. Tabel Kematian Larva *Aedes aegypti* dalam pengamatan 4 jam

| Konsentrasi | Kematian larva setelah 4 jam | |
|-------------|------------------------------|---|
| | \bar{x} | % |
| Akuades | 0,25 | 1 |
| 0,1% | - | 0 |
| 0,25% | 0,25 | 1 |
| 0,5% | 0,25 | 1 |
| 0,75% | - | 0 |
| 1% | - | 0 |
| Abate | 0,5 | 2 |

Tabel 2. Tabel Kematian Larva *Aedes aegypti* dalam pengamatan 8 jam

| Konsentrasi | Kematian larva setelah 8 jam | |
|-------------|------------------------------|-----|
| | \bar{x} | % |
| Akuades | 0,25 | 1 |
| 0,1% | 0,25 | 1 |
| 0,25% | 0,75 | 3 |
| 0,5% | 0,25 | 1 |
| 0,75% | 1,75 | 7 |
| 1% | - | 0 |
| Abate | 25 | 100 |

Tabel 3. Tabel Kematian Larva *Aedes aegypti* dalam pengamatan 12 jam

| Konsentrasi | Kematian larva setelah 12 jam | |
|-------------|-------------------------------|-----|
| | \bar{x} | % |
| Akuades | 0,25 | 1 |
| 0,1% | 2,25 | 9 |
| 0,25% | 1,25 | 5 |
| 0,5% | 1,25 | 5 |
| 0,75% | 2,25 | 9 |
| 1% | 1,75 | 7 |
| Abate | 25 | 100 |

Tabel 4. Tabel Kematian Larva *Aedes aegypti* dalam pengamatan 24 jam

| Konsentrasi | Kematian larva setelah 24 jam | |
|-------------|-------------------------------|-----|
| | \bar{x} | % |
| Akuades | 0,75 | 3 |
| 0,1% | 6,5 | 26 |
| 0,25% | 7 | 28 |
| 0,5% | 10,75 | 43 |
| 0,75% | 9,25 | 37 |
| 1% | 5,75 | 23 |
| Abate | 25 | 100 |

Pada tabel 4 didapatkan bahwa persentase kematian larva pada konsentrasi 0,1% adalah 26% (26 ekor) larva yang mati. Pada konsentrasi 0,25% adalah 28% (28 ekor) larva yang mati. Pada konsentrasi 0,5% adalah 43% (43 ekor) larva yang mati. Pada konsentrasi 0,75% adalah 37% (37 ekor) larva yang mati. Pada konsentrasi 1% adalah 23% (23 ekor) larva

yang mati. Pada akuades adalah 1% (1 ekor) larva yang mati dan pada abate 1% adalah 100% (100 ekor) larva yang mati.

Persentase kematian larva tiap pengamatan cenderung meningkat. Jumlah kematian larva yang tertinggi didapatkan pada konsentrasi 0.5%.

PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan bahan uji berupa ekstrak etanol dari tumbuhan kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.f.) Bedd) yang telah diidentifikasi di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Purwodadi. Hasil identifikasi dibuktikan dengan sertifikat hasil uji nomor : 1192/IPH.06/HM/XI/2019, hal ini dilakukan untuk menghindari kesalahan dalam pemilihan spesies tumbuhan sehingga dapat dipertanggungjawabkan. Melalui proses pengeringan dan penghalusan bahan, didapatkan sebanyak 500g bubuk kelakai (simplisia). Simplisia kelakai tersebut dimaserasi dan didapatkan ekstrak kental berwarna coklat pekat kemerahan sebanyak 20 gram. Penelitian ini menggunakan akuades sebagai kontrol negatif, konsentrasi ekstrak 0.1%, 0.25%, 0.5%, 0.75% dan 1% serta abate 1% sebagai kontrol positif yang dipaparkan pada Larva *Aedes aegypti*. Penelitian dilakukan selama 24 jam, dengan pengamatan pada aktivitas larva sebanyak 4 kali.

Hasil pemeriksaan fitokimia menunjukkan kandungan senyawa pada Kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.f.) Bedd) mengandung senyawa aktif yang berperan sebagai larvasida yaitu : saponin, alkaloid, flavonoid, tanin dan steroid yang merupakan kandungan senyawa yang toksik bagi larva. Dalam pengamatan didapati perubahan gerak pada larva dan juga didapati larva yang mati. Hal ini dikarenakan paparan senyawa bioaktif yang terkandung dalam ekstrak kelakai merupakan penyebab kematian larva karena senyawa bioaktif tersebut dapat berperan sebagai toksikan.⁴

Berdasarkan kepolaran dan kelarutan, senyawa yang bersifat polar akan mudah larut dalam pelarut polar, sedangkan senyawa nonpolar akan mudah larut dalam pelarut nonpolar. Pelarut etanol memiliki gugus hidroksil yang dapat mengikat senyawa-senyawa polar seperti flavonoid dan alkaloid. Saponin pada umumnya berada dalam bentuk glikosida sehingga cenderung bersifat polar, sama halnya dengan steroid. Golongan tanin yang merupakan senyawa fenolik cenderung larut dalam air sehingga cenderung bersifat polar.¹⁶

Menurut Cania (2013), menyatakan bahwa alkaloid dan saponin memiliki cara kerja sebagai racun perut dan racun kontak dengan cara menghambat kerja enzim kolinesterase pada larva. Dapat dilihat morfologi larva pada saat masih utuh dan sehat (Gambar 1) dan dibandingkan pada larva yang telah mati yaitu terjadi perubahan warna pada tubuhnya menjadi lebih transparan dan terdapat kerusakan pada saluran pencernaan larva (Gambar 2) dan gerakan tubuh larva

yang melambat bila dirangsang sentuhan serta selalu membengkokkan badan disebabkan oleh senyawa alkaloid. Selain itu saponin juga mempunyai kemampuan untuk mendegradasi membran, terlihat pada kondisi larva yang mengalami lisis akibat reaksi dari saponin yang kuat (Gambar 3).

Flavonoid berperan sebagai racun pernapasan, beberapa larva yang mati akibat flavonoid akan mati mengapung di permukaan air dikarenakan larva berusaha untuk mengambil oksigen.¹⁶ Beberapa larva dalam penelitian juga menunjukkan hal yang sama. Menurut Haditomo (2010), tanin dapat menurunkan kemampuan mencerna makanan dengan cara menurunkan aktivitas enzim pencernaan (protease dan amilase). Tanin memiliki efek sebagai racun perut dan steroid dapat mengganggu struktur octopamine, yaitu suatu struktur pada otak yang menempatkan serangga dalam keadaan waspada dan mengatur aktivitas motorik larva.¹⁷

Berdasarkan standar Menurut WHO *Guideline For Laboratory and Field Testing of Mosquitos Larvacide* telah menerbitkan pedoman laboratorium pada tahun 2005 yang ditujukan untuk bidang pengujian larvasida dengan membuat prosedur mekanisme pengujian larvasida yang baku. Konsentrasi larvasida apabila dapat menyebabkan kematian larva uji antara 10-95% selanjutnya digunakan untuk mencari lethal concentration. Nilai LC yang dipilih dalam penelitian ini adalah LC₅₀ dan LC₉₀.¹⁸

Pada analisis statistik uji normalitas menunjukkan bahwa sebaran data tidak terdistribusi normal, lalu pada uji hipotesis dilakukan dengan menggunakan uji non-parametrik Kruskal-Wallis yang hasilnya didapatkan p value = 0.925 (p>0.05). Maka berdasarkan analisis statistika hipotesis didapatkan H₁ ditolak dan H₀ diterima. Pada penelitian uji daya bunuh ekstrak etanol kelakai yang diujikan pada konsentrasi 0,5% dalam waktu perlakuan 24 jam didapatkan hasil tertinggi sebesar 43% kematian dari total jumlah larva. Selanjutnya dilakukan analisis untuk mencari *lethal concentration*.

Untuk menentukan ketepatan konsentrasi pada uji toksisitas yang dapat membunuh 50% dan 90% larva nyamuk *Aedes aegypti*, dilakukan pengujian statistik dengan analisis probit. Hasil analisis probit nilai LC₅₀ didapatkan pada konsentrasi sebesar 1.554% dan LC₉₀ didapatkan pada konsentrasi sebesar 5.992%. Berdasarkan studi yang dilakukan oleh Meyer, senyawa kimia yang mempunyai nilai LC₅₀ kurang dari 1000 ppm atau 1% dikatakan memiliki potensi toksik. Maka dapat ekstrak kelakai belum bisa menjadi kandidat larvasida karena memiliki daya bunuh kurang dari batasan kriteria yang seharusnya.¹⁹

Larvasida abate mempunyai daya bunuh yang paling tinggi dibanding ekstrak kelakai karena bahan aktif yang terdapat pada abate yaitu temephos yang teruji lebih efektif dibanding kandungan senyawa-senyawa alami yang terdapat pada larvasida nabati

dalam membunuh larva *Aedes aegypti*. Bahan aktif temephos memiliki kandungan Tetramethyl Thiodi, P-Phenylene, Phosphorothioate 1% dan inert ingredient 99% yang dapat bersifat racun. Temephos langsung bekerja ketika tertelan atau berkontak dengan serangga²⁰ Hal ini dibuktikan dengan jumlah rata-rata kematian larva *Aedes aegypti* pada gelas yang berisi abate yaitu 25 ekor (100%) dalam pengamatan 8 jam (tabel 2). Selain itu juga dibuktikan oleh Hidayatulloh (2017) pada pengujian ekstrak etanol 70% akar kecombrang (*Etilingera elatior*) terhadap larva instar III *Aedes aegypti*, didapatkan bahwa abate juga membunuh 100% dari jumlah sampel larva.

Temephos merupakan salah satu pestisida golongan senyawa fosfat organik. Golongan pestisida ini mempunyai cara kerja menghambat enzim cholinesterase, sehingga menimbulkan gangguan pada aktivitas syaraf karena tertimbunnya acetylcholine pada ujung syaraf. Fungsi dari enzim cholinesterase adalah menghidrolisa acetylcholine menjadi kolin dan asam cuka, sehingga bila enzim tersebut dihambat maka hidrolisa acetylcholine tidak terjadi sehingga otot akan tetap berkontraksi dalam waktu lama maka akan terjadi kekejangan.⁹⁶

Pada ujung saraf dari sistem saraf serangga akan dihasilkan acetylcholine apabila saraf tersebut mendapatkan stimulasi atau rangsangan. Acetylcholine ini berfungsi sebagai mediator atau perantara, antara saraf dan otot daging sehingga memungkinkan impuls listrik yang merangsang otot daging untuk berkontraksi. Setelah periode kontraksi selesai, maka acetylcholine akan dihancurkan oleh enzim acetylcholinesterase menjadi kolin, laktat dan air. Bila acetylcholine tidak segera dihancurkan maka otot akan tetap berkontraksi dalam waktu lama sehingga akan terjadi kekejangan atau konvulsi. Dengan menggunakan abate yang merupakan salah satu dari golongan pestisida organophosphat maka enzim cholinesterase akan diikat atau dihancurkan sehingga terjadi kekejangan otot secara terus menerus, dan serangga akhirnya akan mati. Jadi seperti halnya senyawa organophosphat lainnya abate juga bersifat anti cholinesterase.²¹

Adanya faktor-faktor yang mungkin mempengaruhi kekuatan daya bunuh ekstrak terhadap larva yaitu dapat disebabkan oleh pemberian makan selama pengujian durasi 24 jam, dimana berdasarkan Pedoman Uji Larvasida yang dikatakan dalam WHO *Guideline For Laboratory and Field Testing of Mosquitos Larvacides* seharusnya tidak dilakukan pemberian makanan pada pengujian dalam durasi 24 jam. Namun apabila pengujian dilakukan lebih dari 24 jam (48-72 jam) maka dapat dilakukan pemberian makanan.¹⁸ Serta Faktor-faktor diluar kontrol peneliti yang mempengaruhi sehingga pengujian tersebut tidak efektif yaitu faktor lingkungan seperti suhu, kelembapan serta intensitas cahaya.

KESIMPULAN

Ekstrak etanol 70% Kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.f.) Bedd tidak memiliki efek larvasida terhadap Larva Instar III *Aedes aegypti*. Dengan nilai *Lethal Concentration* (LC₅₀) sebesar 1.554% dan *Lethal Concentration* (LC₉₀) memiliki pada konsentrasi 5.992% dalam waktu pengamatan 24 jam. Nilai tersebut berada di atas nilai standar WHO (konsentrasi 1%). Nilai tersebut merupakan batas standar konsentrasi larvasida yang dapat digunakan sehingga ekstrak kelakai belum bisa menjadi kandidat larvasida karena memiliki daya bunuh kurang dari batasan kriteria yang seharusnya

DAFTAR PUSTAKA

1. Infodatin Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI. 2018. Situasi Penyakit DBD di Indonesia tahun 2017.
2. Kemenkes RI. 2018. Profil Kesehatan Provinsi Kalimantan Tengah Tahun 2017.
3. Departemen Kesehatan RI. 2003. Survey DBD. DepKes RI.
4. Yunita, E., Suprapti, N., dan Hidayat, J.. 2009. Pengaruh Ekstrak Daun Teklan (*Eupatorium riparium*) terhadap Mortalitas dan Perkembangan Larva *Aedes aegypti*. Bioma, Juni 2009. Vol. 11, No. 1, Hal. 11-17 ISSN: 1410-8801
5. Atmosoehardjo, S. 1991. Suatu Upaya Pengendalian Penggunaan Pestisida Melalui pendekatan Ilmu pengetahuan dan Teknologi, Surabaya : FK Unair.
6. Felix. 2008. Ketika Larva dan Nyamuk Dewasa Sudah Kebal Terhadap Insektisida. FARMACIA, 7(7)
7. Cavalcanti ESB, Morais SM, Lima MA, Santana EWP. 2004. *Larvacidal Activity of Essential Oils from Brazilian Plants Against Aedes aegypti L*. Mem inst Oswaldo Cruz 99:541-544.
8. Braga IA et al. 2004. *Aedes aegypti Resistance to Temephos during 2001 in several Municipalities in the States of Rio de Janeiro, Sergipe, and Alagoas, Brazil*. Mem inst Oswaldo Cruz 99:199-203.
9. Chosta, H. 1981. *Selection and Use Larviforous Fish in Mosquito Control and Prosedure for Their Fieldy Evaluation. Work and Regional Man Power Requirement in Entomologycal Aspect of Malaria Control Programers. Colombo. Srilanka*. 8 pp
10. Moehammadi N. 2005. Potensi biolarvasida ekstrak herba *Ageratum conyzoides* Linn. dan daun *Saccopetalum horsfieldii* Benn. terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* L. Jurnal Berk Penelitian Hayati 10: 14.
10. Sunaryo., Astuti, P., & Widiastuti, D. 2015. Gambaran Pemakaian Insektisida Rumah Tangga di

- Daerah Endemis DBD Kabupaten Grobogan Tahun 2013. Jurnal BALLABA, 11(01), 9-14.
11. Handayani,R., Fahruni, dan Novaryatiin, S. 2016. "Potensi Tumbuhan Kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm. f.) Bedd.) Sebagai Afrodisiaka". Palangka Raya: Laporan Penelitian Dosen Pemula Universitas Muhammadiyah Palangkaraya.
 12. Maharani, D.M., Siti, N.H., dan Haiyinah. 2005. "Studi Potensi Kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.f) Bedd), Sebagai Pangan Fungsional". PKM Penelitian. Jurusan Budidaya Pertanian. Banjarbaru: Univ Lambung Mangkurat. 13 (1). Hal: 1-13
 13. Anggraeni, D.S., dan Erwin. 2016. "Chemical Analysis and Antibacterial Activity of the Ethanolic Extract of *Stenochlaena palustris*,8(1), 233-236
 14. Anggraeni, D.S., dan Erwin. 2015. "Uji Fitokimia dan Uji Toksisitas (Brine Shrimp Lethality Test) Ekstrak Daun Kelakai (*Stenochlaena palustris*)". Prosiding Seminar Tugas Akhir. Hal: 71-75.
 15. Syulasm, A., Hamdiyati, Y. Dan Kusnadi. 2005. Petunjuk Praktikum Mikrobiologi. Fakultas MIPA. Universitas Pendidikan Indonesia. Bandung
 16. Harborne, J.B. 1987. Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Penerbit ITB. Bandung.
 17. Haditomo, I. 2010. Efek Larvasida Ekstrak Daun Cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) Terhadap *Aedes aegypti* L. Skripsi Surakarta Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret.
 18. World Health Organization. 2005. Guidelines for Laboratory and Field Testing of Mosquito Larvicides. Geneva
 19. Meyer B, Ferrigni N, Putnam J, Jacobsen L, Nichols D, McLaughlin J. 1982. *Brine shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents*. J Med Plant Res.;45:31-34
 20. Ndione RD, Faye O, Ndiaye M, Dieye A., and Afoutou JM. 2007. *Toxic effects of neem products (Azadirachta indica A. Juss) on Aedes aegypti Linnaeus 1762 larvae*. In African Journal of Biotechnology, 6(24): 2846-2854
 21. Perumalsam, Haribalan. 2009. *Larvicidal Activity of Compounds Isolated from Asarum heterotropoides Against Culex Pipiens Pallens, Aedes aegypti, and Ochlerotatus togoi (Diptera: Culicidae)*. Journal of Medical Entomology, 46(6):1420-1423