

**EKSPLORASI BAHAN AKTIF RUMPUT LAUT COKLAT (Phaeophyceae)
SEBAGAI BIOLARVASIDA *Aedes aegypti***

**EXPLORATION OF BROWN SEAWEED (Phaeophyceae) ACTIVE SUBSTANCE AS *Aedes aegypti*
BIOLARVICIDES**

Ike Nur Firdhayani, Moch. Amin Alamsjah dan Sri Subekti

Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga
Kampus C Mulyorejo - Surabaya, 60115 Telp. 031-5911451

Abstract

Exploration of seaweed on pharmacy has been developed. The recent studies found its capacity as biolarvicidal. The expert cited Manilal *et al.*, (2010) explained that seaweed secondary metabolites has a complex chemical structures with a different bioactivity capabilities. It also has varied capabilities, for pharmacy field, ecologic and as a toxic source.

This study aim are to determined the capabilities of brown seaweed extracts *P. gymnospora*, *S. filipendula*, *S. duplicatum*, and *S. polycystum* as an *Ae. aegypti* larvicides and optimum dose for 50% mortality (LC₅₀) of *Ae. aegypti* larvae. The research methods is experimental with 50% *Ae. aegypti* larvae mortality (LC₅₀) or probit analyzis. The treatment research are *P. gymnospora* as E1, *S. filipendula* as E2, *S. duplicatum* E3, and *S. polycystum* as E4. The concentration of each 20 ppm (D1), 40 ppm (D2), 60 ppm (D3), 80 ppm (D4) and 100 ppm (D5). Repetitions of each treatment three times.

The results showed that extracting of *P. gymnospora*, *S. filipendula*, *S. duplicatum*, and *S. polycystum* have capability as *Ae. aegypti* larvicide. The optimum dose of the extract with the number of deaths is 50 % or LC₅₀ *P. gymnospora* (40.19 ppm ± 0.21), *S. duplicatum*, *S. Fillipendula*, *S. Polycystum* more than 100 ppm. The discussion about active substance of brown seaweed, *saponins*, *terpenoids*, *flavonoids* and *polivenol* showed positive result and its dominance founded in *P. gymnospora* extract that is the best efficiency of LC₅₀

Keywords : Extract, *Padina gymnospora*, *Sargassum filipendula*, *Sargassum duplicatum*, *Sargassum polycystum*, Biolarvicides, *Aedes aegypti*

Pendahuluan

Eksplorasi terhadap kemampuan dan kegunaan rumput laut telah banyak dilaporkan. Chanda *et al.*, (2010) menyebutkan beberapa jenis rumput laut telah banyak dilaporkan berdasarkan kemampuannya sebagai antibakteri dan manfaat yang dikandungnya sebagai produk kefarmasian. Salah satu penemuan terbaru adalah kemampuan sebagai biolarvasida. Biolarvasida adalah suatu bahan yang memiliki kemampuan baik secara biologi maupun kimiawi, mengontrol perkembangan larva insekta dengan cara membunuhnya (EPA, 2010). Panghiyngani *et al.*, (2012) menyebutkan penggunaan larvasida telah banyak menyebabkan polutan yaitu pencemaran terhadap lingkungan dan kontaminasi yang menimbulkan resistensi pada larva nyamuk. Penggunaan biolarvasida alami yang mudah didapat, aman bagi manusia serta lingkungan digunakan. Biolarvasida aman digunakan karena mudah terdegradasi di

lingkungan (Sari, 2012). Penggunaan sumberdaya kelautan sebagai bahan larvasida juga telah banyak dilaporkan. Ali *et al.*,(2013) menyebutkan rumput laut coklat (Phaeophyceae) *Caulerpa racemosa* dengan senyawa metabolit sekunder yang dikandung saponin dan terpenoid secara signifikan dapat berperan sebagai larvasida nyamuk *Ae. aegypti*, *Culex quinquefasciatus* dan *Anopheles stephensi*. Berdasarkan latar belakang tersebut mendasari indikasi bahwa senyawa biolarvasida pada rumput laut coklat berbeda jenis dapat dimanfaatkan sebagai larvasida *Ae. aegypti*, vektor utama penyakit Demam Berdarah Dengue (DBD).

Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui kemampuan larvasida *Ae. aegypti* dari ekstrak rumput laut coklat (Phaeophyceae) yaitu *Padina gymnospora*, *Sargassum filipendula*, *Sargassum duplicatum*, dan *Sargassum polycystum* serta mengetahui dosis optimum ekstrak rumput laut coklat (Phaeophyceae) sebagai larvasida *Ae. aegypti*. Hasil penelitian ini diharapkan dapat

memberikan informasi tentang sumber bahan alami baru larvasida yang aman bagi lingkungan serta referensi di bidang kesehatan guna pengembangan ilmu pengetahuan.

Materi dan Metode

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Airlangga, Surabaya. Ekstraksi minyak atsiri daun bandotan dilakukan di Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Surabaya. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober-November 2013.

Metode Penelitian

Penelitian menggunakan metode eksperimental. Perlakuan penelitian adalah Ekstrak ke-1 ekstrak etanol rumput laut coklat *P. gymnospora* (E1), ekstrak ke-2 ekstrak *S. filipendula* (E2), ekstrak ke-3 ekstrak *S. duplicatum* (E3), dan ekstrak ke-4 ekstrak *S. polycystum* (E4). Konsentrasi setiap ekstrak adalah 20 mg/ml (D1), 40 mg/ml (D2), 60 mg/ml (D3), 80 mg/ml (D4) dan 100 mg/ml (D5). Replikasi setiap konsentrasi ekstrak sebanyak tiga kali.

Prosedur Kerja

Persiapan Alat dan Bahan

Persiapan alat adalah kegiatan persiapan meliputi pencucian bersih terhadap alat yang dibutuhkan. Persiapan bahan meliputi pembuatan simplisia dan ekstraksi.

Pembuatan Simplisia

Simplisia adalah produk pertanian yang setelah melalui proses panen dan pasca panen menjadi sediaan produk kefarmasian yang siap pakai atau proses lebih lanjut (Manalu, 2011). Pada tahapan ini keempat spesies rumput laut dicuci terlebih dahulu menggunakan air tawar sampai bersih. Pencucian bertujuan untuk menghilangkan kotoran dan kontaminan jenis lain. Rumput laut yang telah dicuci dikeringkan dengan ditata di atas waring dan diangin-anginkan dengan kisaran suhu ruang. Suhu pengeringan yang tinggi akan menyebabkan zat aktif dalam bahan berkurang bahkan hilang. Farmakope Herbal Indonesia menyatakan pengeringan sebaiknya dilakukan pada suhu kurang dari 60°C (Depkes, 2008 dalam Manalu, 2011).

Ekstraksi Bahan

Menurut Harboune (1984), senyawa kimia alam yang terkandung di dalam

tumbuhan berupa senyawa metabolit sekunder triterpen atau steroid, flavonoid, tanin, saponin, kumarin, alkaloid, dan glikosida. Senyawa flavonoid dan tanin dapat larut dalam pelarut polar seperti metanol, etanol, atau etilasetat.

Sampel dimaserasi menggunakan pelarut polar etanol dengan perbandingan bahan ekstrak dan pelarut 1:3 selama 24 jam kemudian disaring. Hasil akhir berupa ampas dan filtrat dipekatkan dengan *rotary vacum evaporator* pada suhu 30° C sampai diperoleh ekstrak pekat etanol. Ekstrak yang telah dipekatkan selanjutnya dilakukan pengujian potensi larvasida.

Pembuatan Konsentrasi Larutan

Konsentrasi larutan diperoleh dengan cara melarutkan ekstrak rumput laut coklat (*Paeophyceae*) pada 100 ml air, dengan konsentrasi masing-masing ekstrak 20 mg/ml, 40 mg/ml, 60 mg/ml, 80 mg/ml dan 100 mg/ml (ppm). Setiap konsentrasi kemudian direplikasi sebanyak tiga kali.

Metode Larvasida

Pada tahapan ini larva dipindahkan dan dimasukkan (*dropping*) kedalam tiap kontainer berukuran 240 ml yang telah berisi 100 ml larutan uji. Pengamatan akan kematian larva menurut Manilal, *et al.*, (2011) adalah dengan mengamati kebiasaan gerak larva. Larva yang mati akan tenggelam ke dasar kontainer, tidak bergerak dan tidak memiliki respon terhadap rangsang.

Analisis Skrining Fitokimia

Metode uji skrining fitokimia menurut Marlina (2005) dibagi berdasarkan penggolongan struktur kimia yang ada pada tumbuhan. Skrining fitokimia kemudian dibagi berdasar pengamatan uji, yaitu uji alkaloid, tannin, saponin (steroid dan terpenoid), dan flavonoid. Uji skrining kemudian dilanjutkan dengan pengamatan kromatografi lapis tipis (KLT).

Analisa Data

Efektivitas ekstrak terhadap larva nyamuk *A. aegypti* dinyatakan dalam LC50 (ppm) enam belas jam pencatatan berdasarkan hasil pengamatan pada penelitian pendahuluan. Ali *et al.*, (2013) menyebutkan, data rata-rata kematian larva menjadi sasaran analisis probit untuk menghitung LC50, LC90 dengan selang kepercayaan 95% dan mengetahui batas atas kepercayaan atau *upper concentration level* (UCL) dan batas bawah kepercayaan atau *lower concentration level* (LCL).

Hasil dan Pembahasan

Hasil Kematian Larva *Ae. aegypti*

Pengamatan kematian larva *Ae. aegypti* dilakukan selama 16 jam. Pengamatan kematian dilakukan terhadap kebiasaan gerak larva *Ae. aegypti*. Larva yang mengalami kematian akan tenggelam dan berada di dasar kontainer, tidak bergerak atau tidak menunjukkan respon saat dilakukan perangsangan. Grafik total kematian larva *Ae. aegypti* pada empat ekstrak rumput laut yang berbeda ditunjukkan pada Gambar 1.

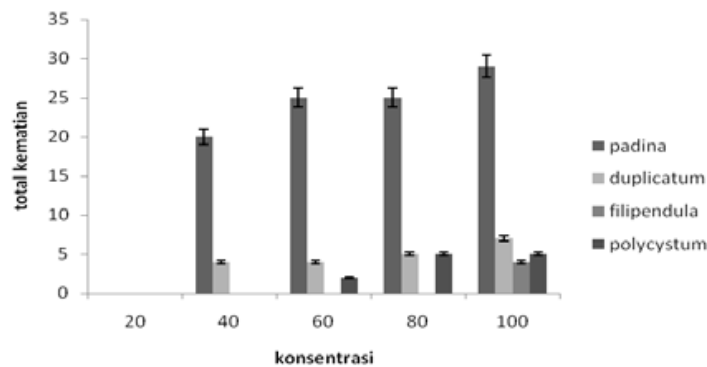
Berdasarkan data primer kematian larva data selanjutnya diolah untuk mengetahui probit kematian dari empat ekstrak rumput laut coklat (Phaeophyceae) yang berbeda. Probit kematian larva dengan *lethal concentration* 50% atau LC50, menggunakan program SPSS ver. 16 for windows. Tabel kematian 50% atau LC50, pada empat ekstrak rumput laut coklat (Phaeophyceae) yang berbeda ditunjukkan pada Tabel 1.

Berdasarkan hasil probit analisis *lethal concentration* 50% atau LC50 dengan selang kepercayaan 95% terhadap empat ekstrak rumput laut coklat (Phaeophyceae) yang berbeda tersebut, dapat dianalisis bahwa empat ekstrak rumput laut coklat (Phaeophyceae) yaitu *P. gymnospora*, *S. duplicatum*, *S.*

fillipendula dan *S. polycystum* memiliki kemampuan sebagai larvasida *Ae. aegypti*. Ekstrak dengan efisiensi konsentrasi terbaik adalah ekstrak *P. gymnospora* sebesar 40, 19 ppm ± 0,21. Ekstrak *S. duplicatum*, *S. fillipendula* dan *S. polycystum* memiliki kemampuan sebagai larvasida dengan rentangan peningkatan konsentrasi LC50 cukup tinggi, yaitu berturut - turut *S. duplicatum* sebesar 110,71 ppm ± 0,29, *S. fillipendula* 150,92 ppm ± 0,39 dan *S. polycystum* sebesar 125,73 ppm ± 0,32. Pengaruh empat estrak terhadap probit kematian LC50 menunjukkan signifikansi sebesar P < 0,01 atau berbeda nyata.

Kualitas Air

Pengukuran kualitas air dilakukan terhadap suhu dan pH media. Pengukuran dilakukan selama 16 jam. Pengukuran suhu dan pH dilakukan pada dua puluh perlakuan ekstrak rumput laut coklat (Phaeophyceae) *P. gymnospora*, *S. duplicatum*, *S. fillipendula*, dan *S. polycystum*. Kisaran data kualitas air selama penelitian ditunjukkan pada Tabel 2.



Gambar 1. Grafik Kematian Larva *Ae. aegypti* pada ke-empat Ekstrak Rumput Laut Coklat (Phaeophyceae) yang Berbeda.

Tabel 1. LC50 ± SD pada ke-empat ekstrak rumput laut coklat (Phaeophyceae) yang berbeda.

No.	Ekstrak rumput laut coklat (Phaeophyceae)	LC50 (ppm)
1.	<i>Padina gymnospora</i>	40, 19
2.	<i>Sargassum duplicatum</i>	> 100
3.	<i>Sargassum fillipendula</i>	> 100
4.	<i>Sargassum polycystum</i>	> 100

Tabel 2. Kisaran Pengukuran Parameter Kualitas Air Selama Penelitian.

Parameter	Kisaran
Suhu(°C)	29-31
pH	7,5-8,3

Hasil kisaran suhu yaitu 29-31°C terjadi konstan tanpa peningkatan suhu yang berarti selama 16 jam pengamatan. Peliza, *et al.*, (2007) menyebutkan bahwa dalam sebuah kejadian infeksius oleh *Leptolegnia chapmanii* pada larva *Ae.aegypti*, larva yang terinfeksi *L. chapmanii* menunjukkan penurunan kematian pada stadium instar IV sebesar 35,6% pada rentang suhu $\geq 35^\circ\text{C}$ dengan rentang pH 4-10. Kisaran suhu hasil pengamatan yang menunjukkan 29-31°C dan nilai kisaran pH sebesar 7,5-8,3. Kisaran nilai suhu dan pH tersebut menunjukkan bahwa media bahan ekstrak pada kondisi yang optimum.

Senyawa Metabolit Sekunder

Skrining fitokimia dilakukan pada ekstrak *P. gymnospora* sebagai ekstrak dengan efisiensi konsentrasi terbaik. Uji fitokimia dilakukan secara kualitatif di Unit Layanan Pengujian Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga. Hasil uji skrining fitokimia *P. gymnospora* terdapat pada Tabel 3.

Uji skrining fitokimia pada terpenoid, flavonoid dan polivenol secara kromatografi lapis tipis menggunakan Kiesel gel GF: 254 sebagai media baca fase diam dengan penambahan n-heksan-etil asetat pada fase gerak uji terpenoid, kloroform-aseton-asam formiat pada fase gerak uji flavonoid, dan etil asetat- methanol-asam formiat pada fase gerak uji polifenol atau tannin. Penampak noda pada uji terpenoid menggunakan anisaldehyda asam sulfat, uap ammonia untuk uji flavonoid dan pereaksi FeCl₃ sebagai penampak noda dalam uji polivenol atau tannin.

Tabel 3. Hasil uji skrining fitokimia secara kromatografi lapis tipis (KLT) pada sampel ekstrak rumput laut coklat *Padina gymnospora*.

No.	Sampel	Pengujian			
		Saponin	Terpenoid	Flavonoid	Polivenol
1.	Ekstrak <i>P. gymnospora</i>	++	++	+	++

Keterangan: (++) dominansi kandungan kuat. (+) dominansi kandungan lemah.

Hasil penampak noda pada uji terpenoid ekstrak *P. gymnospora* menunjukkan adanya noda berwarna ungu kehitaman. Noda ungu menunjukkan adanya kandungan senyawa metabolit sekunder terpenoid, sedangkan dominasi kandungan yang tinggi ditunjukkan dengan adanya kepekatan warna yaitu ungu kehitaman.

Pada uji flavonoid, kenampakan noda yang ditunjukkan adalah adanya warna kuning berpenjar pada Kiesel gel GF: 254 saat dilakukan penguapan oleh uap ammonia. Berdasarkan hasil uji penampak noda, noda kuning berpenjar terlihat saat dilakukan penguapan, namun noda kuning berpenjar tidak berlangsung lama, sehingga dominasi keberadaan senyawa metabolit sekunder flavonoid pada ekstrak *P. gymnospora* tergolong dalam rendah. Uji kandungan saponin menggunakan uji buih atau metode *forth*. Menurut Marliana, dkk. (2005) metode *forth* adalah memasukkan 2 ml sampel ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 10 ml aquades lalu dikocok selama 30 detik. Perubahan yang terjadi adalah terbentuknya busa yang bertahan selama 30 detik dan dilanjutkan dengan uji penegasan. Pada uji ini busa atau buih timbul saat dilakukan pengocokan selama 30 detik dan bertahan selama lebih dari 30 menit dengan tinggi buih tiga sampai lima sentimeter. Uji penegasan dilakukan dengan menambahkan asam klorida 2N sebanyak dua tetes. Buih tetap bertahan dengan ketinggian yang sama.

Keberadaan beragam senyawa metabolit sekunder pada beberapa jenis tumbuhan, dewasa ini telah banyak dilaporkan sebagai sumber bahan larvasida alami (Rai and Carpinella, 2006). Terpenoid pada tumbuhan memiliki kemampuan *neurotoxicity* dengan senyawa primernya monoterponoid. Senyawa monoterpenoid carveol, menthol, gerniol, carvachrol, thymol dan thujon merupakan senyawa turunan yang secara khusus memiliki kemampuan sebagai larvasida

dengan mekanisme kerja toksik. Mekanisme kerja toksik secara langsung (*direct toxicity mechanism*) oleh senyawa monoterpenoid tersebut yang selanjutnya menyebabkan gangguan membran sel dan jaringan (Kuo and Gardner 2002).

Kandungan lain yang dominan dan berperan sebagai larvasida pada tumbuhan adalah saponin. Menurut Cheeke (1989), alfalfa saponin memiliki kemampuan inhibit enzimatis dan metabolisme. Secara langsung alfalfa saponin menunjukkan kemampuan inhibit pada proses enzimatis *in vivo* yaitu saponin pada ginseng yang secara jelas menghambat Na^+ , K^+ -ATPase pada cardiac sarcolemma yang kemudian berinteraksi dengan *membrane-bone enzyme*. Pada larva kemampuan saponin ditunjukkan dengan proses penghambatan enzim asetilkolinesterase yang menyebabkan kelayuan otot atau paralysis.

Tanin atau asam tanin adalah senyawa metabolit sekunder pada tumbuhan yang telah lama diketahui kemampuannya sebagai larvasida. Menurut Shin *et al.* (2005) asam tanin memiliki kemampuan dalam menghambat perkembangan morfologi larva *Ae. albopictus* dan dalam keadaan konsentrasi tinggi asam tannin dapat mengakibatkan hambatan perkembangan stadium larva yang dapat berujung pada kematian. Kemampuan asam tannin dalam menghambat perkembangan larva menurut Rai and Carpinella (2006) disebabkan adanya modifikasi pada asam tannin yang terekstrak oleh etanol, menyebabkan teroksidasinya senyawa quinon sebagai turunan pertama hasil oksidatif ekstrak etanol asam tannin. Quinon menyebabkan terjadinya *depletion of cytoplasmic* atau penipisan sitoplasma dan glutation pada mitokondria yang berfungsi mengeliminasi proses *reacting oxygen species* (ROS). Penipisan sitoplasma menjadi sebuah interaksi langsung antara enonemoety dengan kelompok sulfhydryl glutathione atau asam benzonc 2,4- asam dyhydroxybenzonc (β -asam resorcylic). Keadaan tersebut menyebabkan penghambatan pada pertumbuhan larva (Elliger *et al.*, 1980 *dalam* Rai and Carpinella 2006).

Senyawa metabolit sekunder lain yang banyak dilaporkan berperan sebagai larvasida adalah flavonoid. Golongan flavonoid memiliki kemampuan sebagai sumber bahan toksik alami. Kelompok flavonoid dengan kemampuan toksik adalah isoflavonoid. Isoflavonoid menghambat proses penyerapan oksigen atau respirasi sel oleh mitokondria

yaitu dehidrogenase NADH-dependent (Rosental and Barenbeum, 1991). Kemampuan toksisitas yang dimiliki flavonoid disebabkan oleh kemampuan *cytoprotective* yang juga dimilikinya. Anzenbacher and Zanger (2012) menyebutkan flavonoid dapat dimanfaatkan sebagai sumber antioxidant karena kemampuannya dalam menjaga proses respirasi sel oleh mitokondria pada dosis tertentu. Pada dosis tinggi kemampuan tersebut berganti menjadi *cytotoxic*. Kelompok flavonoid quercetin sebagai sitotoksik melibatkan proses produksi oksigen secara radikal pada dosis yang tinggi atau dikenal dengan *auto-oxydation*. *Auto-oxydation* menyebabkan kerusakan sel dan berakibat pada kematian larva. Beragam fakta tersebut memperjelas bahwa senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, phenol, saponin, titerpenoid dan tanin apabila bekerja secara bersamaan dapat berperan sebagai *larvicidal*, *insecticidal* dan *insect repellent* atau obat nyamuk (Ravikumar *et al.*, 2012). Berbagai fakta tersebut juga menjelaskan bahwa saat ini insektisida atau larvasida berbahan dasar alami merupakan sumber alami baru yang modern untuk mengatasi permasalahan lingkungan yaitu pencemaran dan resistensi terhadap larvasida kimiawi yang telah banyak digunakan (Rai and Carpinella, 2006).

Kesimpulan

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini adalah ekstrak rumput laut coklat (Phaeophyceae) *P. gymnospora*, *S. filipendula*, *S. duplicatum*, dan *S. polycystum* memiliki kemampuan sebagai larvasida *Ae. aegypti* dan dosis optimum ekstrak rumput laut coklat (Phaeophyceae) sebagai larvasida *Ae. aegypti* dengan jumlah kematian 50% atau LC50, ekstrak *Padina gymnospora* sebesar 40, 19 ppm ekstrak *S. duplicatum*, ekstrak *S. fillipendula* dan ekstrak *S. polycystum* secara berturut-turut dosis optimum dengan jumlah kematian 50% atau LC50 adalah >100 ppm.

Perlu adanya penelitian lebih lanjut terkait isolatif komponen bahan aktif atau senyawa metabolit sekunder alami lainnya yang memiliki potensi sebagai biolarvasida, serta kemampuan rumput laut jenis lain yaitu rumput laut hijau (Chlorophyceae), rumput laut merah (Rhodophyceae) dan rumput laut hijau biru (Cyanophyceae).

Daftar Pustaka

Ali, M. Y. S., S. Ravikumar dan J. M. Beula. 2013. Mosquito Larvicidal Activity of Seaweeds Extracts Against *Anopheles*

- Stephensi*, *Aedes aegyptii*, dan *Culex quinquefasciatus*. Asian Pac J Trop Dis, 3 (3): 196-201.
- Anzenbacher, B. and U. M. Zanger. 2012. Metabolism of Drugs and Other Xenobiotics. Wiley-VCH & Co. Bochester, Germany. pp. 121-126.
- Chanda, S., R. Dave, M. Kaneria and K. Nagani. 2010. Seaweeds: A Novel, Untapped Source of Drugs From Sea to Combat Infectious Diseases. Department of Biosciences, Saurashtra University. India. 8 p. (*unpublished*).
- Cheeke, P. R. 1989. Toxicants of Plant Origin Volume II: Glycocides. CRC Pers, Inc. Boca Roton, Florida. pp. 234-239
- Environmental Protection Agency (EPA). 2010. For Your Information Larvicides for Mosquito Control. Environmental Protection Agency. United States. pp. 1-8
- Harborne, J. B. 1984. Phytochemical Methods. 2nd Edition. *Terjemahan*: Kosasih Padmawinata. ITB Press. Bandung.
- Kuo, T. M. and H. W. Gardner. 2002. Lipid Biotechnology. 1st Edition. Marcell Decker, Inc. New York. pp. 86-88
- Manalu, L. P. 2011. Optimasi Pengeringan Lapisan Tipis Simplisia Temu Putih dan Temulawak Berdasarkan Analisis Eksergi. Skripsi. Institut Pertanian Bogor, Bogor
- Manilal, A., N. Thajuddin, J. Selvin, A. Idhayadhulla, R. S. Khumar, and S. Sujith. 2011. In Vitro Mosquito Larvicidal Activity of Marine Algae Against The Human Vectors, *Culex quinquefasciatus* and *Aedes aegypti*. Int. J. Zool. Res., 7(3): 272-278.
- Marliana, S.D. V. Suryanti dan Suyono. 2005. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Buah Kimia Buah Labu Siam (*Sechuem edule Jacq. Swartz*) Dalam Ekstrak Etanol. Biofarmasi 3 (I): 26-31
- Panghiyangan, R., L. Marlinae dan F. Rahman. 2012. Potential of Tumeric Rhizome Essential Oils Against *Aedes aegyptii* Larvae. Univ Med, 31 (I):1-7
- Pelizza, S. A., C. C. Lastra, J. J. Becnel, V. Bisaro and J. J. Garcia. 2007. Effect of Temperature, pH and Salinity on the Infection of *Leptolegnia chapmanii* Seymour (Peronosporomycetes) in Mosquito Larvae. I. J. Invertebrata Pathology, 96: 133-137
- Rai, S. and M. C. Carpinella. 2006. Naturally Occuring Bioactive Compounds. 1st Edition. Elsevier. Oxford, UK. pp. 360-369
- Ravikumar, S., S. J. Ibaneson dan P. Suganthi. 2012. In Vitro Antiplasmodial of Ethanolic Extracts of South Indian Medicinal Plants Against Plasmodium falciparum. Asian Pasific J Trop Dis., 180-183.
- Rosenthal, G. A., and M. R. Barenbaum. 1991. Herbivores Their Interactions with Secondary Plant Metabolites. 2nd Edition. Academic, Pers Inc. San Diego, California. pp. 306-401.
- Sari, Y. D. A. 2012. Efektifitas Ekstrak Biji Bengkuang (*Pachyrrhizus erosus*. Urb.) Sebagai Larvasida Nyamuk *Aedes aegyptii* L. Instar III. Skripsi. UIN Sunan Kalijaga, Yogyakarta