

DAYA BUNUH EKSTRAK KULIT DUKU (*Lansium Domesticum* Corr) TERHADAP KEMATIAN LARVA *Aedes aegypti*

Deni Febe Fidiana¹, Mifbakhuddin¹, Ulfa Nurullita¹

¹Fakultas Kesehatan Masyarakat, Universitas Muhammadiyah Semarang

Abstrak

Latar Belakang : Demam Berdarah Dengue (DBD) merupakan penyakit infeksi yang masih menjadi masalah kesehatan. Penyakit DBD cenderung meningkat setiap tahunnya. Upaya pemberantasan yang telah dilakukan yaitu dengan pengendalian vektor secara kimia maupun hayati. Salah satu pengendalian vektor adalah dengan menggunakan insektisida nabati ekstrak kulit duku (*Lansium Domesticum* Corr). **Tujuan :** untuk mengetahui Daya Bunuh Ekstrak Kulit Duku sebagai larvasida *Aedes aegypti*. **Metode :** Jenis penelitian ini adalah quasy-eksperimen dengan after only control group design. **Hasil :** Kematian larva *Aedes aegypti* terdapat pada semua kelompok perlakuan, sedangkan pada kelompok kontrol tidak terdapat kematian larva *Aedes aegypti*. Konsentrasi yang efektif adalah konsentrasi 7% karena dapat membunuh > 90% larva *Aedes aegypti* selama 24 jam waktu perlakuan. **Simpulan :** Ada perbedaan yang bermakna rata-rata kematian larva *Aedes aegypti* pada berbagai konsentrasi ekstrak kulit duku p value = 0,000 ($\alpha < 0,05$).

Kata Kunci : Larva *Aedes aegypti*, ekstrak kulit duku

POWER KILL THE SKIN EXTRACT Duku (*Lansium domesticum* Corr) ON DEATH LARVA *Aedes aegypti*

Abstract

Background : Dengue Hemorrhagic Fever (DHF) is an infectious disease remains a health concern. Dengue hemorrhagic Fever is likely to increase every year. Eradication effort has been done by vector control of chemically and biologically. One of the vector control is use plant-based insecticide the duku skin extracts. **Objectives :** to know the killing power of the skin extract duku as aedes aegypti larvasida. **Methods :** The study was quasy-experimental with afteronly control group design. **Results :** *Aedes aegypti* larvae mortality occurred at all exposure concentration and no deaths occurred in the control of *Aedes aegypti* larvae. Effective concentrations is the concentrations of 7 % as it can kill > 90% of *Aedes aegypti* larvae for 24 hours of treatment time. **Conclusion:** There was significant difference in average mortality *Aedes aegypti* larvae at different concentrations of skin duku extract p value = 0.000 ($\alpha < 0,05$). **Keywords :** Larvae of *Aedes aegypti*, the skin duku extract.

PENDAHULUAN

Demam Berdarah Dengue (DBD) merupakan penyakit infeksi yang masih menjadi masalah kesehatan di negara yang sedang berkembang, khususnya Indonesia.¹

Data dari World Health Organization (WHO) menunjukkan bahwa kasus DBD di Indonesia antara tahun 2006-2008 kasus DBD tertinggi pada tahun 2007 mencapai 188.115 kasus, sedangkan kasus terendah pada tahun 2008 yaitu 101.656 kasus DBD. Dapat dilihat juga angka kematian tertinggi terjadi pada tahun 2007 mencapai 1599 kematian. Angka kesakitan tertinggi di Jawa Tengah terjadi pada tahun 2007 sebesar 6,35/10.000 penduduk dan angka kematian / Case Fatality Rate (CFR) di Jawa Tengah pada tahun 2008 sebesar 1,19% mengalami penurunan dibandingkan dengan CFR tahun 2007 sebesar 1,6%. Di Jawa Tengah yang memiliki angka kesakitan/ Incidence Rate (IR) tertinggi adalah kota Semarang di mana angka kesakitannya mencapai 34,73/10.000 penduduk.^{2,3,4}

Upaya untuk mengendalikan vektor tersebut bisa dilakukan secara kimia, biologi dan pengendalian genetika. Pengendalian vektor dengan cara kimia misalnya pengasapan atau fogging untuk membunuh nyamuk dewasa sedangkan untuk pemberantasan larva dapat digunakan abate. Pemberantasan secara kimiawi dapat dilakukan dengan cara pemberantasan sarang nyamuk yang ada pada dasarnya adalah memberantas jentik atau mencegah agar nyamuk tidak dapat berkembang biak. Cara ini dilakukan dengan menghilangkan atau mengurangi tempat-tempat perindukannya.⁵

Penggunaan insektisida yang berlebihan dan berulang-ulang dapat menimbulkan dampak pencemaran lingkungan, dan nyamuk akan resisten. maka salah satu cara untuk mendapatkan bahan kimia yang ramah lingkungan adalah memanfaatkan potensi alam yaitu tanaman yang mengandung bioinsektisida.⁶ Tanaman duku (*Lansium Domesticum* Corr) mempunyai kelebihan yaitu buahnya dikonsumsi karena segar, manis rasanya, dan kandungan gizi yang cukup tinggi terutama kandungan vitamin C. Biji buah duku (*Lansium Domesticum* Corr) mengandung

alkaloid berkhasiat sebagai obat cacing, obat demam, dan obat diare. Kulit kayunya digunakan untuk mengobati disentri dan malaria. Kulit buah duku yang kering dibakar dengan sedikit gula jawa menyebabkan bau harum yang menyenangkan, dapat juga untuk mengusir nyamuk dan dapat dimanfaatkan sebagai obat diare serta digunakan sebagai panah insektisida.⁷

Berdasarkan penelitian sebelumnya Kadar Bunuh Minimum (KBM) ekstrak etanol, kulit buah duku tersebut terhadap *Staphylococcus aureus* adalah sebesar 10,5% b/v dan terhadap *Escherichia coli* adalah sebesar 12% b/v. Konsentrasi ekstrak etanol kulit buah duku yang digunakan untuk penelitian ini adalah 11%; 10,5%; 10%; 9,5%; 9% dan 8,5% b/v untuk *Staphylococcus aureus*, dan 12,5%; 12%; 11,5%; 11%; 10,5% dan 10% untuk *Escherichia coli*. Hasil uji kromatografi lapis tipis menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit buah duku mengandung flavonoid dan saponin.⁸

Penelitian lain yang dilakukan dengan menggunakan ekstrak daun kemangi pada konsentrasi 1000 µg/ml (1%) menyebabkan kematian larva *Artemia salina* Leach tertinggi yaitu rata-rata kematian 8,8 dan presentase kematian 88%. Sedangkan pada konsentrasi 1200 µg/ml (0,12%) menyebabkan kematian dengan rata-rata kematian larva *Artemia salina* Leach terendah yaitu 1 dan presentase kematian 10%.⁹

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian ini adalah *quasy-eksperimen* dengan *desain after only control group design* yaitu mengamati variabel hasil pada saat yang sama terhadap kelompok perlakuan dan kelompok kontrol, setelah perlakuan diberikan kepada kelompok perlakuan.^{10,11} Banyaknya perlakuan dalam kelompok ini adalah 4 perlakuan yaitu perlakuan dengan konsentrasi 1%, 3%, 5%, 7%. Subjek penelitian ini adalah larva *Aedes aegypti* instar III, dengan pertimbangan dalam instra tersebut larva nyamuk sudah lengkap terbentuk alat-alat organ tubuh dan relatif stabil terhadap pengaruh lingkungan.

Besar sampel dalam penelitian ini adalah 25 ekor setiap unit perlakuan, pada masing-masing perlakuan 6 kali ulangan, sedangkan jumlah perlakuan setelah ulangan adalah 24 kali. Jumlah larva yang dibutuhkan pada tiap-tiap perlakuan adalah 25 ekor larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III dengan perhitungan: 25 ekor x jumlah konsentrasi yang digunakan x jumlah pengulangan = $25 \times 4 \times 6 = 600$ ekor, ditambah 150 ekor untuk kontrol dan 25 ekor untuk persediaan jika larva *Aedes aegypti* instar III sebagai bahan uji mati. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak kulit duku (*Lansium domesticum* Corr) dalam berbagai konsentrasi (1%, 3%, 5%, 7%). Variabel terikat, kematian larva *Aedes aegypti* dan variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah pH air, suhu air, volume air.

Lokasi penelitian Laboratorium Kimia Universitas Diponegoro Semarang dan untuk penelitian larva nyamuk *Aedes aegypti* yang sudah dikembangbiakkan dari laboratorium B2P2VRP dalam 1 kali perlakuan dibutuhkan 25 ekor larva *Aedes aegypti* instar III. Data yang digunakan adalah data primer dan sekunder. Data yang diperoleh dengan menghitung jumlah larva *Aedes aegypti* yang mati setelah diberi ekstrak kulit duku.

Data yang diperoleh dari studi pustaka yang berasal dari buku-buku, jurnal ilmiah, internet, dan hasil penelitian sebelumnya yang mendukung.

Analisis data yaitu univariat dan bivariat. Analisis univariat yaitu analisa yang menjelaskan atau mendeskripsikan data

masing-masing variable dengan menggunakan table distribusi frekuensi, rata-rata (mean), minimum dan maksimum serta standar deviasi. Analisis bivariat menggunakan uji *One Way Anova* jika memenuhi asumsi : data berdistribusi normal yang diuji dengan menggunakan uji *Kolmogorof-Smirnov*, data berdistribusi normal dan homogeny yang diuji dengan uji Homogenitas, jika tidak memenuhi asumsi diatas, maka menggunakan uji *Kruskal Wallis*, *LSD (Least Significance Different)*, *LSD* digunakan untuk menguji pasangan nilai mean dengan taraf signifikansi 95% pada pengujian one way anova.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Analisis Univariat

a. Distribusi Frekuensi Kematian Larva *Aedes aegypti*

Pada penelitian yang dilakukan perhitungan jumlah larva *Aedes aegypti* yang mati pada berbagai konsentrasi ekstrak kulit duku yaitu 1%, 3%, 5%, 7% dengan total jumlah pengulangan sebanyak 24 kali dengan pengamatan selama 24 jam didapat kan hasil bahwa jumlah kematian larva *Aedes aegypti* terendah terdapat pada konsentrasi 1% berkisar antara 6 sampai dengan 15 ekor larva dengan rata-rata 11,00 ekor dan standar deviasi 3,098 ekor. Konsentrasi 7% merupakan konsentrasi yang mempunyai kematian tertinggi yaitu 25 ekor larva dengan rata-rata 25,00 ekor larva dan standar deviasi 0,000 ekor (larva uji telah mati semua).

Tabel 1. Hasil Analisis Deskriptif Kematian Larva *Aedes aegypti* selama 24 jam Berdasarkan Konsentrasi Ekstrak Kulit Duku

Konsentrasi (%)	Replikasi	Minimum	Maximum	Rata-rata	Standar Deviasi
1	6	6	15	11,00	3,098
3	6	17	20	18,50	1,378
5	6	18	23	20,50	1,871
7	6	25	25	25,00	0,000
Total	24	6	25	18,75	5,471

b. Persentase Kematian Larva *Aedes aegypti*

Hasil pemberian ekstrak kulit duku terhadap larva *Aedes aegypti* dihasilkan

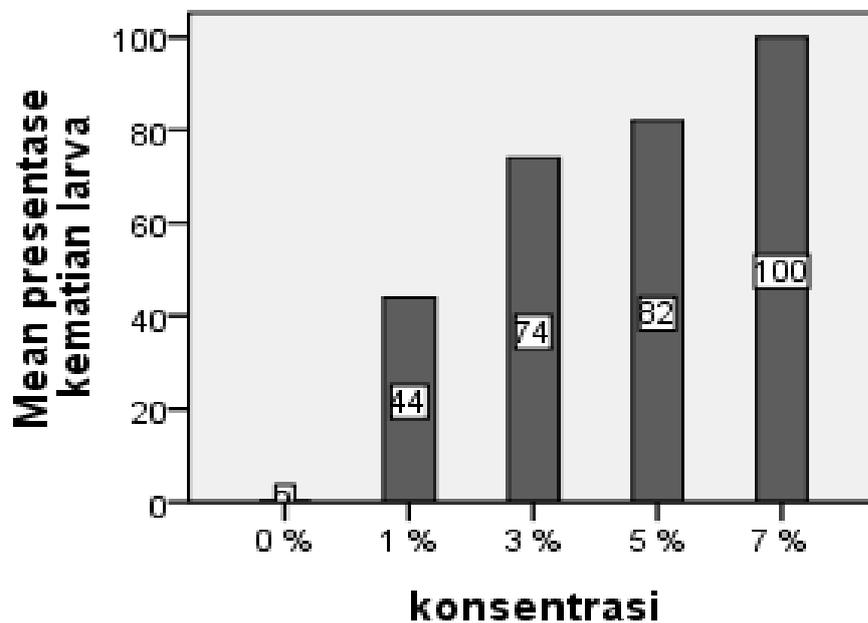
jumlah rata-rata dan presentase kematian larva *Aedes aegypti*, dapat dilihat pada table 2:

Tabel 2 Persentase Rata-rata Kematian Larva *Aedes aegypti* dalam berbagai konsentrasi ekstrak kulit duku setelah pemaparan selama 24jam

Kontrol (%)	Jumlah larva Uji (ekor)	Jumlah Kematian Larva	
		Rata-rata (ekor)	Persentase (%)
0	25	0	0
1	25	11,0	44,0
3	25	18,5	74,0
5	25	20,5	82,0
7	25	25,0	100

Berdasarkan tabel 2 dapat diketahui bahwa kematian terendah terdapat pada konsentrasi 1% yaitu, 11,0 ekor larva (44%) dan kematian tertinggi terdapat pada konsentrasi 7% dengan kematian 25,0 ekor larva (100%). Pada kontrol tidak menunjukkan adanya kematian larva *Aedes*

aegypti. Konsentrasi yang paling efektif untuk kematian larva *Aedes aegypti* adalah konsentrasi 7%. Hal ini dikarenakan pada konsentrasi tersebut sudah dapat membunuh larva *Aedes aegypti* > 90%, hasil selengkapnya dapat dilihat pada grafik 1:



Grafik 1. Presentase Konsentrasi Efektif (LD90) Ekstrak Kulit Duku dalam Membunuh Larva *Aedes aegypti*

Berdasarkan dari Grafik 1 dapat dilihat bahwa konsentrasi 7% sangat efektif membunuh larva *Aedes aegypti*. Hal ini dikarenakan dapat membunuh larva *Aedes aegypti* $\geq 90\%$ (LD90) selama 24 jam.¹²

Pengamatan kematian larva *Aedes aegypti* dilakukan pada 0,5 jam, 1 jam, 2 jam, 4 jam, 6 jam dan 24 jam setelah pemaparan ekstrak kulit duku, dapat dilihat pada tabel 3:

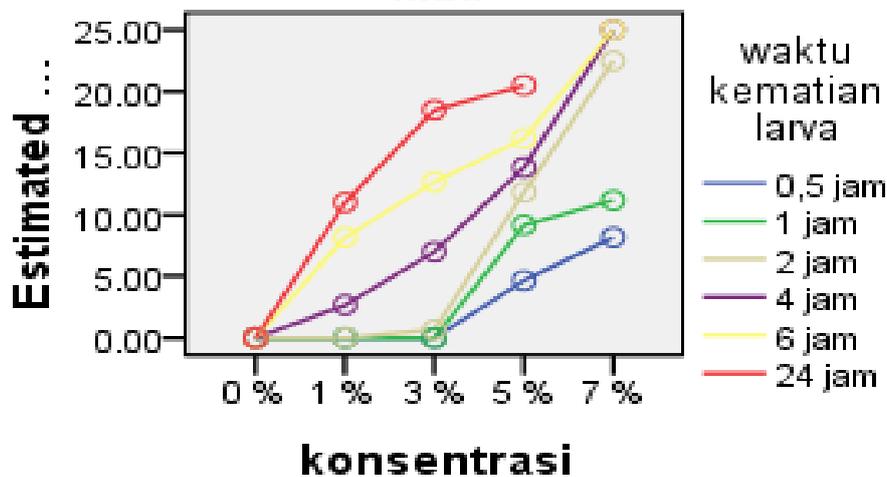
Tabel 3. Waktu kematian larva *Aedes aegypti* pada tiap-tiap konsentrasi ekstrak kulit duku

No.	Konsentrasi (%)	Rata-rata kematian larva pada waktu pengamatan jam					
		0,5	1	2	4	6	24
1	0 (control)	0	0	0	0	0	0
2	1	0	0	0	2,67	8,17	11,00
3	3	0	0	0,67	7,00	12,67	18,50
4	5	4,67	9,17	11,83	13,83	16,17	20,50
5	7	8,17	11,17	22,50	25,00	25,00	25,00

Berdasarkan tabel 3 dapat diketahui bahwa rata-rata kematian larva *Aedes aegypti* tercepat terjadi pada 0,5 jam setelah pemaparan pada konsentrasi 5% yaitu 4,67 ekor (18,67%) dan pada konsentrasi 7% yaitu 11,67 ekor (32,67%). Kematian larva berbanding lurus dengan

lama waktu dan besarnya konsentrasi yang diberikan yaitu semakin lama waktu kontak larva *Aedes aegypti* dengan ekstrak kulit duku maka kematian larva *Aedes aegypti* semakin meningkat dan semakin tinggi konsentrasi maka cepat terjadinya kematian larva *Aedes aegypti*.

Estimated Marginal Means of jumlah larva mati



Non-estimable means are not plotted

Grafik 2. Presentase rata-rata kematian larva *Aedes aegypti*

Dari grafik 2 diatas menunjukkan bahwa garis kurva pada masing-masing konsentrasi terlihat naik yang berarti bahwa semakin lama waktu pemaparan dari ekstrak kulit duku terhadap larva *Aedes aegypti*, maka kematian larva *Aedes aegypti* juga akan semakin tinggi.

2. Analisis Bivariat

a. Uji Normalitas Data

Berdasarkan hasil uji normalitas data menggunakan uji *Kolmogorof Smirnov Lillifors Significance Correction* menunjukkan bahwa nilai p value = 0,836 ($p > 0.05$) artinya distribusi kematian larva

Aedes aegypti normal sehingga dapat dilanjutkan ke uji selanjutnya.

b. Uji Homogenitas

Berdasarkan uji homogenitas menunjukkan bahwa nilai $p = 0,007 (> 0,05)$ sehingga memenuhi syarat untuk uji *one way anova*.

c. Uji Anova

Daya bunuh ekstrak kulit duku terhadap kematian larva *Aedes aegypti* menunjukkan bahwa berdasarkan hasil uji analisis *oneway anova* menunjukkan bahwa $p = 0,000 (< 0,05)$ artinya ada perbedaan jumlah larva *Aedes aegypti* yang mati pada

beberapa tingkat konsentrasi ekstrak kulit duku.

d. Uji LSD (*Least Significance Different*)

Setelah diketahui bahwa rata-rata antar kelompok data konsentrasi ekstrak kulit duku berbeda secara nyata, kemudian dilakukan uji selanjutnya dengan menggunakan uji LSD (*Least Significance Different*) untuk mengetahui pasangan masing-masing kelompok data konsentrasi ekstrak kulit duku yang berbeda secara nyata tersebut. Hasil pengujian data dapat diamati pada tabel 4:

Tabel 4. beda rata-rata Kematian Larva *Aedes aegypti* berbagai konsentrasi

Pasangan Konsentrasi Ekstrak Kulit Duku (%)	Signifikansi
1% - 3%	0,000
1% - 5%	0,000
1% - 7%	0,000
3% - 5%	0,89
3% - 7%	0,000
5% - 7%	0,001

Berdasarkan tabel 4 dapat diketahui hasil analisis LSD. Disimpulkan bahwa pasangan dengan nilai konsentrasi 3% dan 5% mempunyai nilai $p \text{ value} = 0,89 (> 0,05)$ yang berarti tidak ada perbedaan yang signifikan rata-rata kematian larva *Aedes aegypti*. Sedangkan pada pasangan konsentrasi yang lain mempunyai perbedaan yang bermakna.

3. Pembahasan

Berdasarkan hasil analisis varian dengan menggunakan *anova* didapatkan hasil $p \text{ value} = 0,000 (\alpha < 0,05)$, maka dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan yang bermakna rata-rata kematian larva *Aedes aegypti* pada pemaparan ekstrak kulit duku dalam berbagai konsentrasi. Kematian larva *Aedes aegypti* terdapat pada semua kelompok perlakuan, sedangkan pada kelompok kontrol tidak terdapat kematian larva *Aedes aegypti*. Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa kematian terendah pada konsentrasi 1% yaitu rata-rata 11ekor (44%) dan kematian tertinggi

pada konsentrasi 7% dengan rata-rata 25 ekor (100%). Konsentrasi yang efektif adalah konsentrasi 7% karena dapat membunuh $> 90\%$ larva *Aedes aegypti* selama 24 jam waktu perlakuan. Hal ini menunjukkan semakin besar konsentrasi yang diberikan maka kematian larva *Aedes aegypti* semakin besar.

Terjadinya kematian larva *Aedes aegypti* pada berbagai konsentrasi disebabkan oleh senyawa aktif saponin, flavonoid, alkaloid dan terpenoid.⁷

Saponin membentuk busa pada air dan mengganggu fungsi sistem pernafasan dan mengiritasi selaput mukosa traktus digestivus sehingga menjadi korosif dan dinding traktus digestivus akan hancur.⁸

Flavonoid mempunyai sistem kerja masuk melalui sistem pernafasan larva kemudian akan bereaksi merusak sistem pernafasan yang akan menyebabkan larva tidak bisa bernafas dan mati, kemudian juga merusak sel saraf sehingga menyebabkan kelumpuhan dan kematian pada larva.¹³

Alkaloid merupakan racun perut atau stomach poison. Mekanisme teracuninya larva *Aedes aegypti* oleh alkaloid adalah melalui makan dan minuman yang sudah terkontaminasi oleh senyawa kimia yang terdapat dalam ekstrak kulit duku yang termakan oleh larva, kemudian masuk ke dalam peredaran darah selanjutnya masuk ke dalam metabolisme sel yang akan menghambat sistem metabolisme sel yaitu dengan menghambat transport elektron dalam mitokondria sehingga pembentukan energi dari makanan sebagai sumber energi dalam sel tidak bereaksi dan sel tidak dapat beraktifitas seperti biasanya. Alkaloid juga menghambat 3 hormon pertumbuhan serangga yaitu hormon otak (brain hormone), hormon edikson, dan hormon pertumbuhan (juvenile hormone). Tidak berkembangnya ketiga hormon tersebut dapat menyebabkan metamorphosis gagal.⁷

Terpenoid dan turunannya merupakan kelompok besar senyawa yang tersebar luas dalam tumbuhan. Terpena merupakan hidrokarbon murni sedangkan terpenoid mengandung gugus fungsional seperti OH, C=O dan COOH.⁷ Senyawa terpenoid yang banyak terdapat dalam bentuk essential oil apabila masuk ke dalam tubuh larva akan mempengaruhi sistem pernafasan larva, sehingga larva mengalami kesulitan bernafas dalam pengambilan oksigen. Dari sifat senyawa terpenoid tersebut dapat mempengaruhi aktivitas larva dalam pengambilan oksigen.⁷

Berdasarkan pengamatan subjektif peneliti, larva *Aedes aegypti* yang dipaparkan selama 24 jam pada media ekstrak kulit duku mengalami perubahan tingkah laku. Gerakan yang sebelumnya aktif maka akan menjadi lamban dan larva tidak muncul lagi ke permukaan dan tubuhnya terlihat pucat.

Dalam penelitian yang telah dilakukan tentang sitotoksik konsentrasi ekstrak aseton terhadap larva udang *Artemia salina* Leach, pada LC50 fraksi aseton 5,74 ppm yang menunjukkan sebagai sitotoksik.⁷ Sedangkan pada penelitian yang terakhir dilakukan dengan ekstrak daun

kemangi terhadap larva *Artemia salina* Leach digunakan konsentrasi 1% dapat mematikan sebanyak 88% larva.⁹

KESIMPULAN DAN SARAN

Rata-rata kematian larva *Aedes aegypti* yang terendah terdapat pada konsentrasi 1% yaitu 11,00 ekor (44%) dan kematian tertinggi terjadi pada konsentrasi 7% dengan rata-rata 25,00 ekor (100%). Pada kontrol tidak terjadi kematian larva *Aedes aegypti*. Ada perbedaan bermakna rata-rata kematian larva *Aedes aegypti* pada berbagai konsentrasi ekstrak kulit duku $p \text{ value} = 0,000$ ($\alpha < 0,05$). Semua konsentrasi dapat membunuh larva *Aedes aegypti*, tetapi paling efektif pada konsentrasi 7%.

Saran kepada Masyarakat diharapkan masyarakat dapat menggunakan ekstrak kulit duku sebagai larvasida dengan konsentrasi 7% yaitu dengan cara melarutkan dalam perangkap larva yang ada diluar rumah. Kepada Peneliti Lain: perlu dilakukan penelitian mengenai zat yang paling efektif dalam membunuh larva *Aedes aegypti* dari ekstrak kulit duku, perlu dilakukan penelitian ekstrak kulit duku dalam bentuk repellent terhadap kematian larva *Aedes aegypti*.

REFERENSI

1. Rampengan T.H, Laurentz. I. R. Penyakit Tropik Anak. EGC. Jakarta. 1993.
2. World Health Organization. Dengue and Dengue Haemorrhagic fever, Revised May 2008. From URL: <http://www.who.int/mediacentre/factsheet/fs117/en/htm>. diakses 17 maret 2012
3. WHO. Dengue Status In South East Asia Region, An Epidemiological Perspective. 2008. <http://www.int/mediacentre/factsheets/fs117/en/htm>. diakses tanggal 17 maret 2012
4. Dinas kesehatan Provinsi Jawa Tengah. Profil Kesehatan Provinsi Jawa Tengah. 2008. <http://www.dinkesjategprov.go.id/dokumen/profil/2008>. diakses 17 maret 2012.
5. World Health Organization. Demam Berdarah Dengue Diagnosis pengobatan Pencegahan dan pengendalian. Edisi 2.

- Alih bahasa: Manied ester. Jakarta. Penerbit Buku Kedokteran EGC.2005.
6. Kardinan A. Tanaman Pengusir dan pemabsmi Nyamuk. Argomedia pustaka. Jakarta. 2003.
 7. Yanieta Arbiastutie dan Mufilihati. Isolasi dan Uji Aktifitas Kandungan Kimia Bioaktif dari Biji Duku (*Lansium Domesticum* Corr). Jurnal: VolumeX.UniversitasTanjungpura.2008.<http://jurnal.pdii.lipi.go.id/admin/jurnal/10287086.pdf>. diakses 17 Januari 2012.
 8. Diah Oktavianti. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Kulit Buah duku (*Lansium Domesticum* Corr) Terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 35218 beserta Profil Kromatografinya. UNAD. 2009.
 9. Anindita Rosenda Eka Hendrawati. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun kewangi (*Ocimum sanctum* Linn) terhadap Larva *Artemia salina* Leach dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BST). UNDIP. 2009.
 10. Hanafiah K. A. Rancangan Percobaan, Teori dan Aplikasi, edisi ketiga. Jakarta: PT. Raja Grafindo Persada. 2003
 11. Murti. B. Prinsip dan Metode Riset Epidemiologi, Edisi kedua, Jilid Pertama. Yogyakarta : gajah Mada Universitas press. 2003
 12. WHO. Instruction for Determining The Susceptibility or Resistance of Mosquito Larvae to Insecticides. WHO. 2000.
 13. Komisi Pestisida. Metode Standar Pengujian Efikasi Pestisida. Bandung. Komisi Pestisida Bandung. 2000
 14. Robinson T. Kandungan Organik Tumuhan Tinggi. Bandung. ITB PRESS. 2000.