

LARVICIDAL ACTIVITY OF ETHANOL EXTRACT, N-HEXANE FRACTION, ETHYL ACETATE, AND METHANOL EXTRACT FROM STINKVINE LEAF (*Paederia foetida* L.) AGAINST LARVAE OF *Aedes aegypti* AND *Anopheles* INSTAR III

AKTIVITAS LARVASIDA EKSTRAK ETANOL, FRAKSI N-HEKSAN, ETIL ASETAT, DAN METANOL DAUN SEMBUKAN TERHADAP LARVA NYAMUK *Aedes aegypti* DAN *ANOPHELES* INSTAR III

Rollando¹ and Maywan Hariono²

¹Program of Pharmacy, Faculty of Science and Technology, Ma Chung University, Malang 65151, Indonesia

²Faculty of Pharmacy, Sanata Dharma University, Maguwoharjo, Sleman, Yogyakarta 55282, Indonesia

ABSTRACT

Stinkvine (*Paederia foetida* L.) is known as a plant that has many properties that are empirically used in traditional medicine. However, information of utilization of Stinkvine leaf outside as a traditional medicine has not been discovered yet. This research aims to determine the potential larvicidal extracts and fractions of stinkvine leaf. The ethanol extract of stinkvine leaf fractionated using column chromatography with n-hexane, ethyl acetate, and methanol. Larvicidal activity test against *Aedes aegypti* and *Anopheles* III instar was done using 25 larvae for each treatment extracts and fractions in 5 series of concentration, and left exposed for 24 hours. Total mortality of larvae is calculated and analyzed using a modified Finney probit to determine the LC_{50} and LC_{90} values. The results showed larvicidal activity on larvae of *Aedes aegypti* mosquitoes with LC_{50} and LC_{90} value of n-hexane, ethyl acetate, and methanol fraction respectively 67,89 ; 10,92 ; 30,98 $\mu\text{g/mL}$ and 114,11 ; 18,80 ; 54,12 $\mu\text{g/mL}$. Larvicidal activity on larvae of *Anopheles* mosquitoes with LC_{50} and LC_{90} value of n-hexane, ethyl acetate, and methanol fraction respectively 50,76 ; 14,96 ; 60,82 $\mu\text{g/mL}$ and 87,23 ; 25,65 ; 90,92 $\mu\text{g/mL}$. Ethyl acetate fraction of ethanol extract of stinkvine leaf (*Paederia foetida* L.) shows to have highest larvicidal activity against the mosquito larvae of *Aedes aegypti* and *Anopheles*. The results of GC-MS analysis of the ethyl acetate fraction showed there are 15 compounds, a constituent component consisting of lupeol (20,32 %), gamma-sitosterol (12,22 %), cyclohexanecarboxamide (11,82 %), campesterol (11,45 %), 3-butenol, 4- (2,6,6-trimethyl-1-siklohekseni) (7,98 %), siklolanos-24-en-3-ol (7,87%), and there are 9 other components with a percentage amount of 0,18 to 5,86 %.

Keywords: Stinkvine leaf, ethyl acetate fraction, larvicides, *Aedes aegypti*, *Anopheles*

ABSTRAK

Sembukan (*Paederia foetida* L.) dikenal sebagai tanaman yang memiliki banyak khasiat yang secara empiris digunakan dalam pengobatan tradisional. Namun demikian, informasi pemanfaatan daun sembukan diluar sebagai obat tradisional belum di publikasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi larvasida ekstrak dan fraksi dari daun sembukan. Ekstrak etanol daun sembukan difraksinasi menggunakan metode kromatografi kolom menggunakan pelarut n-heksana, etil asetat, dan metanol. Uji aktivitas larvasida terhadap nyamuk *Aedes aegypti* dan *Anopheles* instar III dilakukan dengan menggunakan 25 ekor larva untuk masing-masing perlakuan ekstrak dan fraksi dalam 5 seri konsentrasi, dan terpapar selama 24 jam. Jumlah kematian larva dihitung dan dianalisis dengan analisis probit modifikasi Finney untuk menentukan nilai LC_{50} dan LC_{90} . Hasil penelitian menunjukkan aktivitas larvasida pada larva nyamuk *Aedes aegypti* dengan nilai LC_{50} dan LC_{90} pada fraksi n-heksana, etil asetat, dan metanol masing-masing sebesar 67,89; 10,92 ; 30,98 $\mu\text{g/mL}$ dan 114,11 ; 18,80 ; 54,12 $\mu\text{g/mL}$. Aktivitas larvasida pada larva nyamuk *Anopheles* dengan nilai LC_{50} dan LC_{90} pada fraksi n-heksana, etil asetat, dan metanol masing-masing sebesar 50,76 ; 14,96 ; 60,82 $\mu\text{g/mL}$ dan 87,23 ; 25,65 ; 90,92 $\mu\text{g/mL}$. Fraksi etil asetat dari ekstrak etanol daun sembukan (*Paederia foetida* L.) terbukti mempunyai aktivitas larvasida yang paling tinggi terhadap larva nyamuk

Corresponding Author : Rollando
Email: rollando2008@gmail.com

Aedes aegypti dan *Anopheles*. Hasil analisis GC-MS pada fraksi etil asetat menunjukkan terdapat 15 senyawa, komponen penyusun terdiri dari lupeol (20,32 %), gama sitosterol (12,22 %), sikloheksanekarbosamid (11,82%), kampesterol (11,45%), 3-butenol, 4-(2,6,6-trimetil-1-sikloheksenil) (7,98%), siklolanos-24-en-3-ol (7,87%), dan terdapat 9 komponen lain dengan persentase jumlah dari 0,18 - 5,86%.

Kata kunci: Daun sembukan, fraksi etil asetat, larvasida, *Aedes aegypti*, *Anopheles*

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang beriklim tropis terdapat berbagai macam spesies nyamuk. Jenis nyamuk yang banyak di jumpai di Indonesia adalah *Aedes aegypti* dan *Anopheles* sp. Nyamuk *Aedes aegypti* atau *Aedes albopictus* yang merupakan vektor utama dan vektor sekunder DBD (Demam Berdarah Dengue) di Indonesia. Demam berdarah adalah jenis penyakit yang disebabkan oleh salah satu virus dari genus *Flavivirus* yang penyebarannya kepada manusia terjadi melalui gigitan nyamuk *Aedes aegypti* (WHO, 2009). DBD dilaporkan pertama kali di Surabaya dan Jakarta tahun 1968, jumlah kasus sebanyak 58 orang anak di Surabaya (Sumarmo, 1989). Pada tahun 2015, angka kesakitan (*incidence rate*) DBD sebesar 67,87 per 100.000 penduduk dengan angka kematian (CFR) sebesar 0,98 % (Kementerian Kesehatan, 2016). DBD yang disebabkan oleh virus *Dengue* telah terjadi di daerah perkotaan, daerah pedesaan dan telah menyebar ke seluruh provinsi di Indonesia.

Genus *Anopheles* sp. adalah nyamuk penular penyakit malaria. Di Indonesia terdapat sekitar 80 spesies *Anopheles* sp. sedangkan yang dinyatakan sebagai vektor malaria adalah sebanyak 22 spesies dengan lingkungan hidup yang berbeda (Arsunan, 2012). Penyakit malaria disebabkan oleh parasit protozoa yang terdapat didalam tubuh dan disebarkan oleh nyamuk *Anopheles* betina. Protozoa yang menyebabkan parasit malaria tergolong ke dalam kelompok sporozoa, genus *Plasmodium* yang menginfeksi hati dan sel-sel darah merah (Mavundza, dkk., 2016). *Plasmodium* yang menyebabkan penyakit malaria pada manusia terdiri dari 4 spesies yaitu *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium ovale*, dan *Plasmodium malariae*. *Plasmodium falciparum* dan *Plasmodium Vivax* merupakan spesies ini paling umum menyebabkan infeksi (Senthil Nathan, dkk., 2006).

Pada saat ini upaya pengendalian nyamuk yang terkenal adalah pengendalian nyamuk *Aedes aegypti* menggunakan sistem pengasapan, pengabutan dan gerakan 3M (menutup, menguras dan menimbun), sedangkan untuk nyamuk *Anopheles* dengan sistem penyemprotan rumah dengan menggunakan bahan aktif insektisida organofosfat, karbamat, dan organoklorin (Tarumingkeng, 1989). Pemberantasan nyamuk dapat dilakukan terhadap nyamuk dewasa atau

jentiknya. Pemberantasan terhadap jentik dilakukan dengan cara kimia, biologi, dan fisik. Pemberantasan cara kimia dilakukan dengan cara larvasida yang dikenal dengan istilah abatisasi.

Penggunaan insektisida dari bahan kimia menimbulkan masalah baru diantaranya adalah pencemaran lingkungan seperti pencemaran air dan resistensi serangga terhadap insektisida sehingga perlu adanya insektisida yang lebih aman bagi lingkungan. Untuk mengurangi dampak negatif dari penggunaan insektisida kimia maka perlu dicari alternatif lain yang lebih aman. Salah satunya adalah dengan menggunakan insektisida alami dengan cara mengekstrak tanaman dan mengujinya pada larva *Aedes aegypti* dan *Anopheles*. Dengan usaha ini diharapkan perkembangan siklus hidupnya akan terhambat sehingga tidak dapat berkembang sampai dewasa. Penelitian bertujuan membandingkan toksisitas ekstrak dan fraksi tanaman terhadap larva *Aedes aegypti* dan *anopheles* serta mengetahui kandungan bahan aktif dominan pada ekstrak atau fraksi yang aktif.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain oven (Mettler Oven 53L Excelent), mesin penyerbuk (Waring Blender), tabung gelas kaca (Duran), *Vacuum rotary evaporator* (Ika RV 10), *waterbath* (Thermo Fisher Scientific), kolom kromatografi (Pyrex), neraca analitik (ML54T), corong buchner, kertas saring, lempeng silika gel GF (Merck), Silika Gel untuk kromatografi kolom (Merck), chamber (Camag), Alat-alat kaca (Duran), sendok larva, paper cup, TLC scanner (Camag), GC-MS (Agilent GC 6890N 5975B MSD).

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain daun sembukan yang diperoleh dari Balai Materia Medica, Batu, Malang dan telah dideterminasi. Pelarut etanol, etil asetat, n-heksana, dan metanol (Merck), Larva nyamuk *Aedes aegypti* dan *anopheles* instar III diperoleh dari Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Vektor dan Reservoir Penyakit, Salatiga, Jawa Tengah. Larva berumur 5-7 hari, panjang tubuh \pm 4 mm hingga 6 mm, dan larva bergerak aktif.

Sampling bahan dan determinasi

Daun sembukan diperoleh dari kebun obat Balai Materia Medica, Batu, Malang, Jawa timur.

Pengumpulan pada bulan Maret. Determinasi tanaman semburan dilakukan di laboratorium Farmakognosi Balai Materia Medica. Pemanenan dilakukan pada tanaman yang sebelum berbunga saat pagi hari.

Ekstraksi

Daun semburan dipilih yang berkualitas baik, dicuci bersih, dioven pada suhu 50° C selama 68 jam, diblender, dan diayak dengan mesh no. 40. Serbuk diambil 1 kg dan dimaserasi dengan etanol 96 % dengan perbandingan 1:3 selama 1 hari, dan dilakukan remaserasi dengan perbandingan yang sama selama 3 hari. Dilakukan penyaringan dan ekstrak etanol dipekatkan hingga kental. Ekstrak kental dihilangkan pelarutnya menggunakan *waterbath*.

Fraksinasi

Ekstrak difraksinasi dengan n-heksana, etil asetat dan metanol dengan menggunakan kromatografi kolom. 300 mg ekstrak dilarutkan dengan 20 ml etanol, kemudian dimasukkan kedalam kolom kromatografi yang telah diisi dengan silika. Dimasukkan ke dalam kolom 200 ml n-heksana, cairan yang keluar ditampung kedalam botol. Penampungan cairan n-heksana dihentikan ketika cairan n-heksana yang keluar dari kolom sudah terlihat bening. Fraksinasi menggunakan etil asetat dan metanol juga dilakukan dengan cara yang sama seperti fraksinasi menggunakan n-heksana. Fraksi n-heksana, etil asetat, dan metanol diuapkan dengan *waterbath* pada suhu ± 50° C.

Uji Terhadap Larva Nyamuk

Pengujian aktivitas larvasida dari ekstrak dan fraksi dari daun semburan merujuk pada penelitian yang dilakukan oleh Liu, dkk., (2014) yang dimodifikasi. Jumlah larva *Aedes aegypti* dan *anopheles* instar III masing-masing sebanyak 25 ekor dengan pengulangan uji sebanyak tiga kali. Konsentrasi yang digunakan 150, 75, 37,5, 18,5, dan 9 µg/ml. Kontrol negatif yang digunakan berupa 20 ml akuades, dan kontrol positif menggunakan insektisida komersial Abate dengan bahan aktif Temephos 1% setara konsentrasi yang sama dengan perlakuan ekstrak dan fraksi daun semburan. Wadah diisi dengan 100 mL larutan ekstrak, fraksi, kontrol negatif, dan kontrol positif sesuai dengan konsentrasi perlakuan. Pengamatan dilakukan terhadap banyaknya larva yang pingsan (ciri-ciri: pergerakan larva pasif bila disinari dengan cahaya) selama satu jam dan selama 24 jam untuk mengetahui larva mati (ciri-ciri: larva tidak bergerak dan berada didasar wadah) setelah diperoleh data konsentrasi ekstrak dan fraksi dengan kematian 100 % (WHO, 1981).

Analisis Data

Data kematian larva yang diperoleh diolah dan dianalisis probit data kematian larva dengan *software* SPSS 20 (Finney, 1971)

Analisis Fraksi Aktif menggunakan GC-MS

Fraksi yang paling aktif (etil asetat) dilakukan analisis senyawa kimia dengan menggunakan metode GC-MS. 1mg ekstrak dilarutkan menggunakan diklorometan. Kolom yang digunakan jenis Rtx®-50 column (30 m × 250 µm × 0.25 µm). Gas helium digunakan sebagai gas pembawa dengan laju alir 1 mL/min dan tekanan kolom 9.00 psi. Temperatur awal oven 60° C dan temperatur akhir oven 300° C. Laju kenaikan temperatur sebesar 10° C/min selama 15 menit. Bank data GC-MS menggunakan *Wiley 7 Nist 05 library*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel I menunjukkan aktivitas larvasida perlakuan ekstrak dan fraksi terhadap larva *Aedes aegypti*, hasil uji menunjukkan bahwa fraksi etil asetat mempunyai aktivitas larvasida yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak etanol, fraksi n-heksana dan fraksi metanol dengan nilai LC₅₀ sebesar 10,92 µg/mL dan LC₉₀ sebesar 18,80 µg/mL. Tamephos 1 % yang merupakan larvasida komersial mempunyai LC₅₀ terhadap larva *Aedes aegypti* sebesar 2,87 µg/mL, mempunyai efek 4 kali lebih besar daripada fraksi etil asetat.

Tabel II menunjukkan hasil aktivitas larvasida ekstrak dan fraksi terhadap larva *Anopheles*. Fraksi etil asetat mempunyai efek larvasida yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak etanol, fraksi n-heksana, dan fraksi metanol. Nilai LC₅₀ fraksi etil asetat yaitu 14,96 µg/mL dan LC₉₀ sebesar 25,65 µg/mL. Tamephos 1 % mempunyai LC₅₀ sebesar 5,87 µg/mL, mempunyai efek 3 kali lebih besar daripada fraksi etil asetat.

Data pada tabel 1 dan 2 menunjukkan hasil uji yang linier pada fraksi etil asetat, yaitu mempunyai efek yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak dan fraksi lainnya terhadap larva *Aedes aegypti* dan *Anopheles*. Nilai LC₅₀ larvasida dari fraksi etil esetat masuk dalam standar larvasida nabati menurut Geris, dkk (2008), yaitu LC₅₀ berkisar 0,1 - 49 µg/mL. Sebab itu untuk mengetahui senyawa yang mempunyai aktivitas larvasida dilakukan analisis GC-MS pada fraksi etil asetat.

Hasil pemeriksaan komponen penyusun fraksi etil asetat menggunakan GC-MS menunjukkan terdapat total 15 senyawa yang terdeteksi dengan jumlah 97,04 % total fraksi.

Tabel I. Data LC₅₀ dan LC₉₀ ekstrak dan fraksi terhadap larva *Aedes aegypti*

Perlakuan	LC ₅₀ (µg/mL)	LC ₉₀ (µg/mL)	Nilai <i>Chi Square</i>
Ekstrak etanol	50,67 (48,98 - 52,67)	98,87 (96,66 - 99,94)	6,21*
Fraksi n-heksana	67,89 (64,11 - 69,54)	114,11 (111,02 - 116,63)	5,83*
Fraksi etil asetat	10,92 (9,53 - 11,62)	18,80 (17,42 - 20,46)	7,76*
Fraksi metanol	30,98 (26,72 - 32,54)	54,12 (52,88 - 56,72)	9,28*
Temephos 1%	2,87 (1,23 - 4,65)	3,34 (1,82 - 4,64)	2,02*

*Signifikan pada level P < 0,05

Tabel II. Data LC₅₀ dan LC₉₀ ekstrak dan fraksi terhadap larva *Anopheles*

Perlakuan	LC ₅₀ (µg/mL)	LC ₉₀ (µg/mL)	Nilai <i>Chi Square</i>
Ekstrak etanol	90,99 (88,98 - 93,43)	145,87 (141,82 - 147,84)	9,92*
Fraksi n-heksana	50,76 (48,74 - 52,72)	87,23 (86,14 - 89,93)	3,65*
Fraksi etil asetat	14,96 (13,75 - 15,73)	25,65 (23,75 - 26,98)	9,87*
Fraksi metanol	60,82 (58,86 - 62,75)	90,92 (87,83 - 92,76)	3,54*
Temephos 1%	5,87 (2,76 - 7,23)	7,22 (4,73 - 8,83)	2,23*

*Signifikan pada level P < 0,05

Tabel III. Data senyawa kimia hasil identifikasi GC-MS fraksi etil asetat

Nomor Puncak	Senyawa	Jumlah Senyawa (%)	<i>Similarity Index (%)</i>
1	Alpa pinen	0,18	95
2	Sabinen	2,87	87
3	Beta pinen	1,98	96
4	1,6-oktadien, 7-metil-3-metilen	3,76	80
5	4-Oktan-1-ol, 7-metil-asetat	2,38	91
6	Cis-dihidrokarvon	3,17	91
7	Beta-bourbonen	3,92	98
8	1,5-Siklodekadien	1,26	80
9	Siklopropana naftalen	5,86	87
10	3-butenol, 4-(2,6,6-trimetil-1-sikloheksenil)	7,98	99
11	Kampesterol	11,45	98
12	Gama sitosterol	12,22	91
13	Lupeol	20,32	96
14	Siklolanos-24-en-3-ol	7,87	80
15	Sikloheksanekarbosamid	11,82	94

Komponen penyusun yang paling besar adalah lupeol (20,32 %), gama sitosterol (12,22 %), sikloheksanekarbosamid (11,82 %), kampesterol (11,45 %), 3-butenol, 4-(2,6,6-trimetil-1-sikloheksenil) (7,98 %), siklolanos-24-en-3-ol (7,87 %), dan terdapat 9 komponen lain dengan persentase jumlah dari 0,18 - 5,86 %.

Tumbuhan semburan dilaporkan secara kualitatif mempunyai senyawa alkaloid, tanin, saponin, terpenoid, flavonoid, fenol, dan antraknon pada ekstrak etanol 80% (Upadhyaya, 2013). Lupeol, gama sitosterol dan kampesterol merupakan senyawa golongan terpenoid. Lupeol merupakan senyawa dengan jumlah terbanyak didalam fraksi etil asetat memiliki banyak

aktivitas farmakologi yaitu antiprotozoa, antiinflamasi, antikanker, agen kemoeventif, hepatoprotektif, dan antibakteri (Gallo, dkk., 2009). Gama sitosterol dilaporkan memiliki aktivitas antidiabetes (Balamurugan, dkk., 2011) dan antikanker (Sundarraaj, dkk., 2012). Kampesterol memiliki aktivitas antikanker (O'Callaghan, dkk., 2013) dan kardioprotektif (Saeed, dkk., 2015).

Senyawa terpenoid yang merupakan senyawa nonpolar yang banyak ditemukan dalam fraksi etil asetat dimungkinkan mempunyai aktivitas larvasida yang tinggi, karena senyawa lipofilik mudah mengalami tranportasi melalui dinding sel dan selaput sitoplasma larva (Mann

dan Kaufman, 2012). Senyawa golongan steroid sitosterol dan stigma sterol dilaporkan mempunyai aktivitas larvasida pada larva nyamuk *A.aegypti*, *A.stephensi* dan *C.quinquefasciatus* dengan nilai LC₅₀ sebesar 11,5, 3,5 dan 26,7 ppm (Ghosh, 2013). Kolesterol merupakan nutrisi yang sangat diperlukan untuk proses perkembangan dan metamorfosis larva *A.aegypti*. Protein AeSCP-2 pada larva *A.aegypti* merupakan protein yang bertanggung jawab untuk mentranspor kolesterol, sehingga inaktivasi protein AeSCP-2 akan membunuh larva (Kumar, dkk., 2010). Senyawa triterpenoid seperti luteol, beta sitosterol dan kampesterol dievaluasi aktivitasnya secara biokomputasi menunjukkan hasil bahwa luteol dan kampesterol mempunyai aktivitas inaktivasi yang tinggi terhadap protein AeSCP-2 (Kumar, 2011).

Senyawa triterpenoid dari ekstrak etanol *B.pennata* dilaporkan juga mempunyai aktivitas merusak dan menyusutkan kutikula pada papila anal dan stigmal larva nyamuk *A.aegypti* (Yu, dkk., 2015). Kerusakan papila anal menyebabkan regulasi ion terganggu sehingga terjadi ketidakseimbangan homeostatis pada larva. Kerusakan pada stigmal akan menyebabkan air dari media akan masuk pada batang trakea dari spirakel larva, sehingga sistem pernapasan larva akan gagal berfungsi dan akan berkontribusi pada kematian larva (Wigglesworth, 1930).

Senyawa alpa pinen, sabinen, beta pinen, cis-dihidrokarvon, dan beta bourbonen merupakan senyawa golongan monoterpenoid. Senyawa golongan triterpenoid dan monoterpenoid mempunyai peran yang signifikan dalam aktivitas larvasida *Anopheles* (Gbolade, 2000). Perumalsamy, dkk (2009) melaporkan aktivitas larvasida dari monoterpen kamfen, fechon, tripinolen, γ -terpinen, β -pinen, α -pinen, α -tripeol, sabinen, dan karvon terhadap tiga jenis larva *Culex pipiens pallens*, *Anopheles sp.* *Aedes aegypti* dan *Ochlerotatus togoi*. Tabanca, dkk (2015) menemukan bahwa (-)-alkohol perillil, (-)-perilla aldehida, (-)-asam perillik dan (-)-limonen memiliki toksisitas yang tinggi terhadap larva *Anopheles* dengan LC₅₀ yaitu 39,1, 35,3, 56,5 dan 29,1 mg/L pada masing-masing senyawa.

Nilai *lethal concentration* dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain: Jumlah senyawa didalam ekstrak dan fraksi dan perbedaan interval konsentrasi pengujian yang berpengaruh terhadap hasil pengujian yaitu semakin kecil interval dan semakin banyak variabel konsentrasi yang digunakan dalam pengujian akan semakin teliti hasil analisis probit untuk nilai LC₅₀ dan LC₉₀. Namun, senyawa dalam bentuk kombinasi memiliki keuntungan diantaranya dapat memberikan efek sinergis dan mengurangi

kemungkinan terjadinya resistensi jika senyawa tersebut memiliki mekanisme aksi yang berbeda (Li dan Tang, 2004).

KESIMPULAN

Fraksi etil asetat mempunyai aktivitas larvasida yang paling tinggi pada larva nyamuk *Aedes aegypti* dengan nilai LC₅₀ yaitu 10,92 μ g/mL dan LC₉₀ sebesar 18,80 μ g/mL dan pada larva nyamuk *Anopheles* dengan nilai LC₅₀ yaitu 14,96 μ g/mL dan LC₉₀ sebesar 25,65 μ g/mL.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat Universitas Ma Chung yang mendanai penelitian ini melalui Penelitian Dosen Pemula Universitas tahun 2016.

DAFTAR PUSTAKA

- Arsunan, A.A. 2012. Malaria di Indonesia Tinjauan Aspek Epidemiologi, Masagena Press. Makassar.
- Balamurugan, R., Duraipandiyam, V., Ignacimuthu, S., 2011. Antidiabetic activity of γ -sitosterol isolated from *Lippia nodiflora* L. in streptozotocin induced diabetic rats. *Eur. J. Pharmacol.* DOI:10.1016/j.ejphar.2011.05.025
- Finney, D. J. 1971. *Probit Analysis*, 3 ed. Cambridge University Press, Great Britain. pp 333-340.
- Gallo, M.B.C., Miranda, B., Sarachine, J., 2009. Biological Activities of Lupeol. *Int. J. Res. Pharm. Biomed. Sci.* 3: 46-66.
- Gbolade, A., 2000. Plant derived insecticides in the control of malaria vector. In: Adewunmi, C.O., Adesina, S.K. (Eds.), *Phyto-medicines in Malaria and Sexually Transmitted Diseases: Challenges for new Millennium*, Drug research and Production Unit, Faculty of Pharmacy. Obafemi, Awolowo University, Ile-fe, Nigeria, pp. 48-50.
- Geris R, Rodriguez E, Da Silva HHG, Da Silva IG. 2008. Larvicidal effects of Fungal Meroterpenoids in the Control of *Aedes aegypti* L. in the Main Vector of Dengue and Yellow Fever. *Chem. Biodiv.* 5: 341-345.
- Ghosh, A., 2013. Efficacy of phytosterol as mosquito larvicide. *Asian Pac. J. Trop.* DOI. 10.1016/S2222-1808(13)60050-X
- Kementrian Kesehatan. Evaluasi Pengendalian Vektor Demam Berdarah Dengue. Medikakom. Edisi 53. Januari 2016. Hal.4.
- Kumar, R.B., 2011. A search for mosquito larvicidal compounds by blocking the sterol carrying protein, AeSCP-2, through computational screening and docking strategies. *Pharmacogn. Res.* DOI. 10.4103/0974-8490.89749

- Kumar, R.B., Shanmugapriya, B., Thiyagesan, K., Kumar, S.R., Xavier, S.M., 2010. A search for mosquito larvicidal compounds by blocking the sterol carrying protein, AeSCP-2, through computational screening and docking strategies. *Pharmacogn. Res.* DOI.10.4103/0974-8490.69126
- Larvicidal Activity of Compounds Isolated From *Asarum heterotropoides* Against *Culex pipiens pallens*, *Aedes aegypti*, and *Ochlerotatus togoi* (Diptera: Culicidae) | *Journal of Medical Entomology* [WWW Document], n.d. URL <http://jme.oxfordjournals.org/content/46/6/1420>
- Li, R.C., and Tang, M.C. 2004. Post antibiotic effect induced by an antibiotic combination influence of mode, sequence and interval of exposure. *J. Antimicrob. Chemother.* 54: 904-908.
- Liu, X.C., Liu, Q., Zhou, L., Liu, Z.L., 2014. Evaluation of larvicidal activity of the essential oil of *Allium macrostemon* Bunge and its selected major constituent compounds against *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). *Parasit. Vectors.* 7, 184. DOI. 10.1186/1756-3305-7-184
- Mavundza, E.J., Chukwujekwu, J.C., Maharaj, R., Finnie, J.F., Van Heerden, F.R., Van Staden, J., 2016. Identification of compounds in *Olax dissitiflora* with larvicidal effect against *Anopheles arabiensis*. *South Afr. J. Bot.* 102, 1-3. DOI. 10.1016/j.sajb.2015.06.013
- O'Callaghan, Y., Kenny, O., O'Connell, N.M., Maguire, A.R., McCarthy, F.O., O'Brien, N.M., 2013. Synthesis and assessment of the relative toxicity of the oxidised derivatives of campesterol and dihydrobrassicasterol in U937 and HepG2 cells. *Biochimie, Oxysterols and Related Sterols in Chemistry, Biology and Medicine* 95, 496-503. DOI. 10.1016/j.biochi.2012.04.019
- Pelczar. 1988. Malaria yang disebabkan oleh nyamuk *Anopheles betina*. 9:17 Pusat data dan informasi PERSI. 2003.
- Perumalsamy H, Kim N.J, Ahn Y.J., 2009. Larvicidal activity of compounds isolated from *Asarum heterotropoides* against *Culex pipiens pallens*, *Aedes aegypti*, and *Ochlerotatus togoi* (Diptera: Culicidae). *J Med Entomol*; 46: 14-20.
- Saeed, A.A., Genové, G., Li, T., Hülshorst, F., Betsholtz, C., Björkhem, I., Lütjohann, D., 2015. Increased flux of the plant sterols campesterol and sitosterol across a disrupted blood brain barrier. *Steroids, Oxysterols and Related Sterols: Chemical, Biochemical and Biological aspects* 99, Part B, 183-188. DOI. 10.1016/j.steroids. 2015 .02.005
- Mann, S, Kaufman, P., 2012. Natural Product Pesticides: Their Development, Delivery and Use Against Insect Vectors. *Mini-Rev. Org. Chem.* 9, 185-202. DOI. 10.2174/157019312800604733
- Senthil Nathan, S., Kalaivani, K., Sehoon, K., 2006. Effects of *Dysoxylum malabaricum* Bedd. (Meliaceae) extract on the malarial vector *Anopheles stephensi* Liston (Diptera: Culicidae). *Bioresour. Technol.* 97, 2077-2083. DOI. 10.1016/j.biortech.2005.09.034
- Sundarraaj, S., Thangam, R., Sreevani, V., Kaveri, K., Gunasekaran, P., Achiraman, S., Kannan, S., 2012. γ -Sitosterol from *Acacia nilotica* L. induces G2/M cell cycle arrest and apoptosis through c-Myc suppression in MCF-7 and A549 cells. *J. Ethnopharmacol.* 141, 803-809. DOI. 10.1016/j.jep.2012.03.014
- Tabanca N, Demirci B, Ali A, Ali Z, Blythe, E.K, Khan, I.A., 2015. Essential oils of green and red *Perilla frutescens* as potential sources of compounds for mosquito management. *Ind Crops Prod*, 65: 36-44.
- Upadhyaya, S., 2013. Screening of phytochemicals, nutritional status, antioxidant and antimicrobial activity of *Paederia foetida* Linn. from different localities of Assam, *India. J. Pharm. Res.* 7, 139-141. DOI. 10.1016/j.jopr.2013.01.015
- Wigglesworth, V.B., 1930. A Theory of Tracheal Respiration in Insects. *Proc. R. Soc. Lond. Ser. B Contain. Pap. Biol. Character* 106, 229-250.
- Yu, K.-X., Wong, C.-L., Ahmad, R., Jantan, I., 2015. Larvicidal activity, inhibition effect on development, histopathological alteration and morphological aberration induced by seaweed extracts in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Asian Pac. J. Trop. Med.* 8, 1006-1012. DOI. 10.1016/j.apjtm.2015.11.011
- World Health Organization. Instruction for determining the susceptibility or resistance of mosquito larvae to insecticide. Geneva: World Health Organization; 1981. WHO/VBC/81.80, <http://www.who.int/iris/handle/10665/69619>.
- World Health Organization. 2009. Dengue and dengue haemorrhagic fever. Fact sheet N117 March 2009. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs117/en/>.