

**IDENTIFIKASI METABOLIT SEKUNDER DAN AKTIVITAS LARVASIDA
DARI DAUN BUNGA MATAHARI (*Helianthus annuus* L.) TERHADAP
LARVA *Aedes Aegypti* sp.**

Ahmad Purnawarman Faisal

Analisis Kesehatan, Poltekkes Kemenkes Kaltim, Jl. Kurnia Makmur No.64

E-mail : purn28@gmail.com

Abstract

Research on Secondary Metabolite Identification and Larvasid Activity of Sunflower Leaves (*Helianthus annuus* L.) on Larva *Aedes Aegypti* sp. has been done. The secondary metabolite identification is done by conducting the extract test and the fraction of sunflower leaf to reagent, while the bioactivity test is done by Brine shrimp Lethality Test (BSLT) method. The sunflower leaf extract has been extracted using methanol solvent and diffracted using n-hexane solvent, ethyl acetate, and n-butanol. The results showed that the yield obtained from crude extract methanol was 6.20%, n-hexane 0.21%, ethyl acetate 0.15%, n-butanol 0.08%. Group of secondary metabolite compounds contained in sunflower leaf extract are alkaloids, flavonoids, saponins, and steroids. And the concentration of extracts that can provide the best larvicidal effect is the fraction of n-butanol with the smallest LC₉₉ value of 36.39 ppm

Keywords: *Helianthus annuus* L., Larvasida, *Aedes aegypti*

ABSTRAK

Penelitian Identifikasi Metabolit Sekunder dan Aktivitas Larvasida dari Daun Bunga Matahari (*Helianthus annuus* L.) terhadap Larva *Aedes Aegypti* sp. telah dilakukan. Identifikasi metabolit sekunder dilakukan dengan melakukan uji ekstrak dan fraksi daun bunga matahari terhadap pereaksi, sedangkan uji bioaktivitas dilakukan dengan metode Brine shrimp Lethality Test (BSLT). Ekstrak daun bunga matahari telah diekstrak menggunakan pelarut metanol dan difraksi menggunakan pelarut n-heksana, etil asetat, dan n-butanol. Hasil penelitian menunjukkan bahwa rendemen yang diperoleh dari ekstrak kasar metanol adalah 6,20%, n-heksana 0,21%, etil asetat 0,15%, n-butanol 0,08%. Golongan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak daun bunga matahari adalah alkaloid, flavonoid, saponin, dan steroid. Dan konsentrasi ekstrak yang dapat memberikan efek larvasida yang paling baik yaitu fraksi n-butanol dengan nilai LC₉₉ yang paling kecil yaitu 36,39 ppm.

Kata kunci: *Helianthus annuus* L., Larvasida, *Aedes aegypti*

PENDAHULUAN

Seluruh wilayah Indonesia mempunyai resiko untuk terjangkau penyakit Demam Berdarah Dengue karena nyamuk penyebab penularan virusnya tersebar luas baik di rumah maupun tempat-tempat umum. Pada tahun 2015 jumlah penderita DBD yang dilaporkan sebanyak 129.650 kasus dengan kematian sebanyak 1.071 orang. Jumlah ini meningkat bila dibandingkan tahun 2014 dengan kasus sebanyak 100.347 kasus. Pada tahun 2016 kasus DBD di Kalimantan Timur sebesar 10.210 kasus dengan kematian sebanyak 103 orang. Di Samarinda sendiri pada tahun 2016 jumlah kasus DBD sebanyak 2387 kasus dengan kematian sebanyak 18 orang. Hal tersebut menunjukkan bahwa DBD masih menjadi masalah kesehatan utama di Indonesia hingga saat ini. (Kemenkes RI, 2016).

Vaksin untuk mencegah penyakit demam berdarah dengue sampai saat ini belum tersedia. Cara yang tepat guna menanggulangi penyakit ini adalah memberantas vektor atau nyamuk penular, yaitu nyamuk *Aedes aegypti* sp. Pemberantasan nyamuk *Aedes aegypti* sp. Dapat dilakukan dengan berbagai cara antara lain penggunaan insektisida seperti *fogging* dan larvasida seperti abate.

Beberapa tanaman memiliki golongan senyawa metabolit sekunder yang dapat memberikan efek sebagai larvasida, antara lain golongan senyawa alkaloid, saponin, tanin, dan flavonoid. Banyak tanaman di Indonesia ini yang memiliki potensi sebagai bahan obat yang berkhasiat, ada juga yang berfungsi sebagai insektisida alami, salah satunya larvasida. Tanaman ini bermacam-macam, salah satunya tanaman bunga matahari. Tanaman bunga matahari (*Helianthus annuus* L.) ini belum ada penelitian dilakukan untuk menguji aktivitas dari tanaman bunga matahari ini, tetapi faktanya daun yang ada pada tanaman bunga matahari ini tidak dimakan oleh hama atau serangga, sehingga diduga buah ini memiliki sifat toksik yang beracun bagi hama atau serangga ini. Sehingga peneliti pun tertarik untuk menguji aktifitas yang terkandung pada ini dengan larva *Aedes aegypti*.

METODE

Tahapan penelitian ini adalah menetapkan kebenaran sampel tumbuhan bunga matahari berkaitan dengan ciri-ciri tumbuhan, Identifikasi tumbuhan dilakukan di Fakultas Kehutanan Universitas Mulawarman.

Tumbuhan bunga matahari yang digunakan adalah daun yang telah kering yang diambil dari Poltekkes Kemenkes Kaltim. Simplisia disimpan dalam wadah kering tertutup rapat yang selanjutnya siap digunakan untuk penelitian.

Ekstrak metanol Daun bunga matahari masing-masing dihitung 34,532 gram. Rancangan golongan metabolit sekunder dalam daun bunga matahari dan ekstrak yang diuji terdiri atas ekstrak kasar metanol dan ekstrak hasil fraksinasi menggunakan pelarut n-butanol, n-heksana, dan etil asetat.

Rancangan pengujian larvasida perlakuan lima konsentrasi ekstrak daun bunga matahari terhadap larva *Aedes aegypti* pada lima replikasi (pengulangan) yang ditransformasikan dari data kematian larva nyamuk *Aedes aegypti* menjadi nilai LC_{99}

Data larvasida ditransformasikan dari data jumlah mati dan hidup larva nyamuk *Aedes aegypti* menjadi nilai LC_{50} dan LC_{99} . Data hasil pengamatan yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan metode *Reed and Muench* untuk mendapatkan nilai LC_{50} dan LC_{99} .

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan hewan uji larva nyamuk *Aedes*

aegypti. Aktivitas larvasida suatu senyawa dapat diketahui dengan menghitung jumlah kematian larva nyamuk *Aedes aegypti* dengan parameter nilai LC_{99} . Digunakan larva nyamuk *Aedes aegypti* untuk masing-masing pengujian ekstrak kasar metanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, fraksi n-butanol daun bunga matahari (*Helianthus annuus* L.) dengan berbagai variasi konsentrasi. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan metode *Reed and Muench* untuk mengetahui nilai LC_{99} . Berdasarkan perbedaan nilai LC_{99} yang diperoleh dari beberapa ekstrak, maka akan disimpulkan ekstrak mana yang memiliki aktivitas lebih baik sebagai larvasida terhadap nyamuk *Aedes aegypti*, dengan kriteria semakin kecil nilai LC_{99} yang diperoleh maka semakin besar daya membunuhnya terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*.

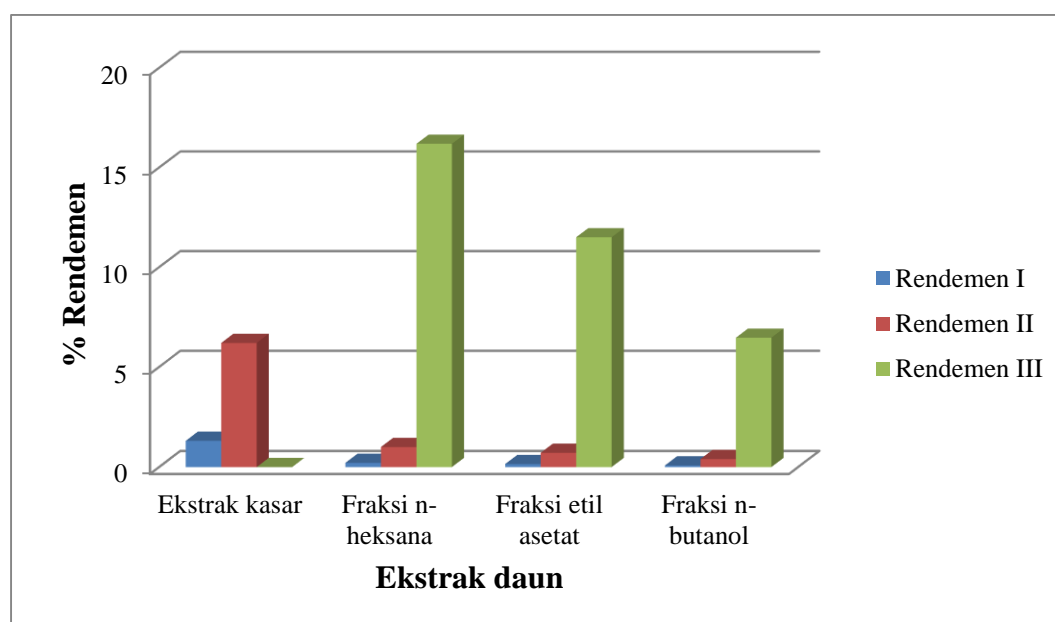
Ekstrak yang diperoleh dari sampel kering sebanyak 638,13 gram atau sampel segar 3014 gram adalah 39,573 gram, sehingga dapat diketahui jumlah rendemen yang diperoleh ialah sebesar 6,20% dari sampel kering dan 1,31% dari sampel segar. Hasil rendemen ekstrak dan fraksi dapat dilihat pada Tabel 5.1, Tabel 5.2 dan Gambar 5.1 berikut ini

Tabel 5.1 Hasil berat ekstrak dan fraksi daun bunga matahari (*Helianthus annuss L.*)

No.	Ekstrak	Berat Ekstrak (g)
1.	Ekstrak Metanol	39,573
2.	Fraksi n-heksana	5,593
3.	Fraksi etil asetat	3,974
4.	Fraksi n-butanol	2,234

Tabel 5.2 Hasil rendemen ekstrak daun bunga matahari (*Helianthus annuss L.*)

No.	Ekstrak	Rendemen I (%)	Rendemen II (%)	Rendemen III (%)
1.	Ekstrak Metanol	1,31	6,20	-
2.	Fraksi n-heksana	0,21	1,00	16,19
3.	Fraksi etil asetat	0,15	0,71	11,50
4.	Fraksi n-butanol	0,08	0,40	6,46



Berdasarkan tabel Tabel 5.1, Tabel 5.2 dan Gambar 5.1 diatas, hasil fraksinasi ekstrak metanol daun bunga matahari(*Helianthus annuss L.*) menggunakan pelarut n-heksana, etil asetat, dan n-butanol diperoleh ekstrak yang banyak tertarik di pelarut n-heksana dengan berat 5,593 gram atau rendemen 1,00% dari sampel kering dan 0,21% dari sampel segar. Dari hasil terebut menunjukkan bahwa

sifat senyawa yang dominan terdapat pada fraksi tersebut dan senyawa yang terkandung pada tanaman daun bunga matahari(*Helianthus annuss L.*) bersifat non polar, ini ditunjukkan dengan jumlah zat yang terekstraksi pelarut n-heksana lebih dominan dibandingkan dengan yang terekstraksi pelarut etil asetat dan n-butanol.

Kandungan Metabolit Sekunder

Dari hasil identifikasi golongan metabolit sekunder terhadap ekstrak metanol dan fraksi daun, diperoleh hasil positif berupa golongan senyawa

alkaloid, flavonoid, saponin, fenol.

Hasil uji identifikasi metabolit sekunder (IMS) dapat dilihat dari Tabel 5.3 berikut ini:

Tabel 5.3 Hasil Uji IMS daun bunga matahari (*Helianthus annuss L.*)

No.	Ekstrak	Metabolit Sekunder				
		Alkaloid	Flavanoid	Steroid	Saponin	Fenol
1.	Ekstrak metanol	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)
2.	n-heksana	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)
3.	etil asetat	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)
4.	n-butanol	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)

Aktivitas larvasida ekstrak terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*.

1. Nilai LC₉₉ Larvasida Ekstrak Kasar Metanol

Hasil pengujian aktivitas larvasida ekstrak kasar metanol daun

bunga matahari (*Helianthus annuss L.*) diperoleh dari 4 variasi konsentrasi dengan 3 kali pengulangan. Hasil uji dapat dilihat dalam Tabel 5.3 dan Gambar 5.4 sebagai berikut:

Tabel 5.4 Hasil uji aktifitas larvasida ekstrak kasar metanol daun bunga matahari (*Helianthus annuss L.*) terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*

Konsentrasi (ppm)	Log konsentrasi (ppm)	Jumlah		Terakumulasi		Rasio mati : Total	Mortalitas (%)
		Mati	Hidup	Mati (x)	Hidup (y)	Terakumulasi x: (x+y)	Rasio x 100
50 ppm	1,698	3	27	3	51	0,055	5,5%
100 ppm	2,000	15	15	18	24	0,428	42,8%
150 ppm	2,176	21	9	39	9	0,812	81,2%
200 ppm	2,301	30	0	69	0	1,000	100%

Pada Tabel 5.4 di atas menunjukkan hasil pengujian ekstrak kasar metanol, dimana pada konsentrasi rendah 50 ppm sudah memberikan efek membunuh yang menunjukkan tingkat kematian larva nyamuk mencapai 5,5% dengan jumlah larva nyamuk yang mati dari 3

replikasi pengujian yaitu 3 ekor. Pada konsentrasi tinggi 200 ppm tingkat kematian larva nyamuk *Aedes aegypti* memberikan efek membunuh semua hewan uji, ini ditunjukkan dengan jumlah kematian dari 3 replikasi uji yaitu 30 ekor larva nyamuk atau tingkat kematian larva yang mencapai

100%. Hal ini sesuai dengan Harbone (1987) yang menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi yang diberikan, maka semakin tinggi tingkat kematian bioindikator.

Hasil analisis uji menggunakan metode *Reed and Muench* diperoleh nilai LC_{99} 197 ppm. Ini juga terlihat pada Gambar 5.4 bahwa kematian 99% larva nyamuk *Aedes aegypti* berada diantara konsentrasi 150 ppm dengan 200 ppm.

2. Nilai LC_{99} Ekstrak Fraksi n-heksana daun bunga matahari (*Helianthus annuss L.*).

Tabel 5.5 Hasil uji aktifitas larvasida ekstrak fraksi n-heksana daun bunga matahari (*Helianthus annuss L.*) terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*

Konsentrasi (ppm)	Log konsentrasi (ppm)	Jumlah		Terakumulasi		Rasio mati : Total	Mortalitas (%)
		Mati	Hidup	Mati (x)	Hidup (y)	Terakumulasi x: (x+y)	Rasio x 100
10 ppm	1,000	12	18	12	39	0,235	23,5%
20 ppm	1,301	18	12	30	21	0,588	58,8%
30 ppm	1,477	21	9	51	9	0,850	85%
40 ppm	1,602	30	0	81	0	1,000	100%

Hasil analisis uji menggunakan metode *Reed and Muench* diperoleh nilai LC_{99} 36,55 ppm. Ini juga terlihat pada Gambar 5.5 bahwa kematian 99% larva nyamuk *Aedes aegypti* berada diantara konsentrasi 30 ppm dengan 40 ppm.

3. Nilai LC_{99} Ekstrak Fraksi Etil Asetat daun bunga matahari (*Helianthus annuss L.*)

Ekstrak fraksi n-heksana diperoleh dari fraksinasi ekstrak kasar metanol dengan pelarut n-heksana. Pengujian aktivitas ekstrak fraksi n-heksana daun bunga matahari (*Helianthus annuss L.*) dilakukan dengan menggunakan 4 variasi konsentrasi dan 3 kali replikasi pengujian dimana variasi konsentrasi mulai dari 10 ppm hingga 40 ppm. Hasil uji dapat dilihat dalam Tabel 5.5 dan Gambar 5.5 berikut ini:

Ekstrak fraksi etil asetat diperoleh dari fraksinasi ekstrak kasar metanol dengan pelarut etil asetat. Pengujian aktivitas ekstrak fraksi etil asetat daun bunga matahari (*Helianthus annuss L.*) dilakukan dengan menggunakan 4 variasi konsentrasi dan 3 kali replikasi pengujian dimana variasi konsentrasi mulai dari 10 ppm hingga 40 ppm. Hasil uji dapat dilihat dalam Tabel 5.5 dan Gambar 5.6 berikut ini:

Tabel 5.6 Hasil uji aktifitas larvasida ekstrak fraksi etil asetat daun bunga matahari (*Helianthus annuss L.*) terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*

Konsentrasi (ppm)	Log konsentrasi (ppm)	Jumlah		Terakumulasi		Rasio mati : Total	Mortalitas (%)
		Mati	Hidup	Mati (x)	Hidup (y)	Terakumulasi x: (x+y)	Rasio x 100
10 ppm	1,000	6	24	6	51	0,105	10,5%
20 ppm	1,301	12	18	18	27	0,400	40%
30 ppm	1,477	21	9	39	9	0,812	81,2%
40 ppm	1,602	30	0	69	0	1,000	100%

Hasil analisis uji menggunakan metode *Reed and Muench* diperoleh nilai LC_{99} 36,55 ppm. Ini juga terlihat pada Gambar 5.6 bahwa kematian 99% larva nyamuk *Aedes aegypti* berada diantara konsentrasi 30 ppm dengan 40 ppm.

4. Nilai LC_{99} Ekstrak Fraksi n-butanol daun bunga matahari (*Helianthus annuss L.*).

Ekstrak fraksi n-butanol diperoleh dari fraksinasi ekstrak kasar metanol dengan pelarut n-butanol. Pengujian aktivitas ekstrak fraksi n-butanol daun bunga matahari (*Helianthus annuss L.*) dilakukan dengan menggunakan 4 variasi konsentrasi dan 3 kali replikasi pengujian dimana variasi konsentrasi mulai dari 10 ppm hingga 40 ppm. Hasil uji dapat dilihat dalam Tabel 5.6 dan Gambar 5.7 berikut ini:

Tabel 5.7 Hasil uji aktifitas larvasida ekstrak fraksi n-butanol daun bunga matahari (*Helianthus annuss L.*) terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*

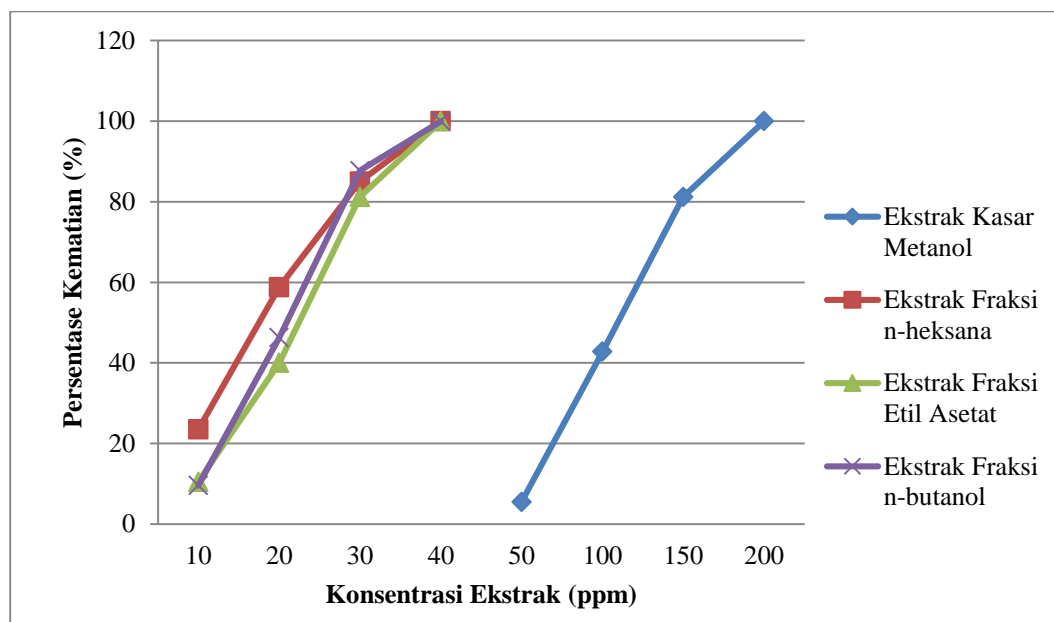
Konsentrasi (ppm)	Log konsentrasi (ppm)	Jumlah		Terakumulasi		Rasio mati : Total	Mortalitas (%)
		Mati	Hidup	Mati (x)	Hidup (y)	Terakumulasi x: (x+y)	Rasio x 100
10 ppm	1,000	5	25	5	47	0,096	9,6%
20 ppm	1,301	14	16	19	22	0,463	46,3%
30 ppm	1,477	24	6	43	6	0,877	87,7%
40 ppm	1,602	30	0	73	0	1,000	100%

Hasil analisis uji menggunakan metode *Reed and Muench* diperoleh nilai LC_{99} 36,39 ppm. Ini juga terlihat pada Gambar 5.7 bahwa kematian 99% larva nyamuk *Aedes aegypti* berada diantara konsentrasi 30 ppm dengan 40 ppm.

Adapun nilai LC_{99} ekstrak dan beberapa fraksi daun bunga matahari (*Helianthus annuss L.*) terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* dapat dilihat pada Tabel 5.7 dan Gambar 5.8 berikut ini:

Tabel 5.8 Nilai LC₉₉ uji aktivitas larvasida ekstrak dan beberapa fraksi daun bunga matahari (*Helianthus annuss L.*) terhadap nyamuk *Aedes aegypti*.

No.	Ekstrak	Nilai LC ₉₉ (%)
1.	Metanol (ekstrak kasar)	197 ppm
2.	Fraksi n-heksana	36,55ppm
3.	Fraksi etil asetat	36,55ppm
4.	Fraksi n-butanol	36,39ppm



Gambar 5.8 Nilai LC₉₉ uji aktivitas larvasida ekstrak dan beberapa fraksi daun bunga matahari (*Helianthus annuss L.*) terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*

Berdasarkan Tabel 5.8 dan Gambar 5.8 di atas menunjukkan bahwa ekstrak fraksi n-butanol memiliki aktivitas paling besar sebagai larvasida larva nyamuk *Aedes aegypti* dengan nilai LC₉₉ paling kecil yaitu 36,39 ppm. Dari nilai LC₉₉ yang diperoleh maka dapat diketahui bahwa semakin kecil nilai konsentrasi yang diperoleh maka semakin besar aktivitas dalam membunuh nyamuk larva *Aedes aegypti*. Ekstrak fraksi n-heksana dan etil asetat juga memberikan efek aktivitas membunuh dengan nilai LC₉₉

yang tidak jauh berbeda dibandingkan dengan n-butanol.

Pengujian ekstrak kasar metanol memberikan aktivitas larvasida yang kurang efektif dalam membunuh larva nyamuk *Aedes aegypti* bila dibandingkan ekstrak fraksi daun bunga matahari (*Helianthus annuss L.*). Hal ini dikarenakan ekstrak kasar metanol belum dipisahkan berdasarkan tingkat kepolarannya, dimana masih tercampur antara senyawa polar dan non polar sehingga aktivitas senyawanya belum mampu membunuh larva nyamuk

Aedes aegypti secara maksimal. Berdasarkan hasil uji fitokimia ekstrak metanol daun bunga matahari (*Helianthus annuus* L.) mengandung alkaloid dan flavonoid yang memiliki aktivitas sebagai larvasida. Namun kemungkinan senyawa tersebut memiliki aktivitas yang lemah didalam ekstrak metanol. Aktivitas larvasida yang lemah disebabkan banyaknya senyawa dalam ekstrak metanol yang menutupi aktivitas larvasida dari alkaloid sehingga aktivitas larvasida ekstrak metanol daun bunga matahari (*Helianthus annuus* L.) tidak maksimal.

Berdasarkan uraian tersebut, dapat diketahui bahwa ekstrak kasar metanol dan ketiga fraksi yang diuji memiliki aktivitas larvasida, hal ini sesuai dengan kehidupan nyata bahwa daun bunga matahari ini faktanya tidak dimakan oleh serangga/hama yang ada pada tanaman ini. Ekstrak dan fraksi daun bunga matahari (*Helianthus annuus* L.) memiliki tingkat aktivitas larvasida yang berbeda-beda, terjadinya perbedaan aktivitas larvasida dari ekstrak daun dan beberapa fraksi menyebabkan proses fraksinasi dimana golongan senyawa yang terdapat dalam ekstrak tersebut terjadi pemisahan kimia berdasarkan tingkat kepolarannya sehingga

memberikan aktivitas larvasida yang berbeda pula.

Fungsi senyawa alkaloid, flavonoid, dan saponin dalam daun bunga matahari (*Helianthus annuus* L.) dapat menghambat daya makan larva (*antifedant*). Cara kerja senyawa-senyawa tersebut adalah dengan bertindak sebagai *stomach poisoning* atau racun perut. Karena itu, bila senyawa-senyawa ini masuk dalam tubuh larva, alat pencernaannya akan terganggu. Selain itu, senyawa ini menghambat reseptor perasa pada daerah mulut larva. Hal ini mengakibatkan larva gagal mendapatkan stimulus rasa sehingga tidak mampu mengenali makanannya. Akibatnya, larva mati kelaparan (Cahyadi, 2009).

Saponin mempunyai kemampuan untuk merusak membran. Tarumingkeng (1992) menyatakan bahwa saponin dapat meningkatkan penetrasi senyawa toksik karena dapat melarutkan bahan-bahan lipofilik dengan air. Saponin tidak hanya mengganggu lapisan lipoid tetapi juga mengganggu lapisan protein membran dari tubuh larva sehingga berakibat senyawa toksik dapat masuk dengan mudah ke dalam tubuh larva nyamuk. Saponin juga bersifat menghancurkan butir darah merah

lewat reaksi hemolisis bagi hewan berdarah dingin. Nyamuk merupakan hewan berdarah dingin dan hal ini dapat diketahui pada stadium larva nyamuk pertanamannya yang banyak dipengaruhi suhu lingkungan. Saponin juga dapat mengikat serol bebas pada larva sehingga mengganggu aktivitas hormon ecdison. Hal tersebut mengakibatkan proses moulting terganggu dan larva gagal untuk berkembang dan berakhir dengan kematian.

SIMPULAN

1. Rendemen ekstrak daun bunga matahari berturut-turut diperoleh ekstrak yang banyak tertarik di pelarut n-heksana dengan berat 5,593 gram atau rendemen 1,00% dari sampel kering dan 0,21% dari sampel segar.
2. Kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada daun bunga matahari yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, steroid.
3. Seluruh ekstrak dan fraksi memiliki aktivitas larvasida. Ekstrak yang memiliki aktivitas paling besar yaitu fraksi n-butanol.
4. Konsentrasi ekstrak yang dapat memberikan efek larvasida yang paling baik yaitu fraksi n-butanol

dengan nilai LC₉₉ yang paling kecil 36,39 ppm.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih saya ucapkan untuk semua anggota yang telah membantu keterlaksanaan penelitian ini.

DAFTAR RUJUKAN

- Cahyadi, Robby. 2009. *Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Buah Pare (Memordica charantina L.) Terhadap Larva Artemia salina Leach dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*. [Skripsi]. Universitas Diponegoro. Semarang
- Colagate, S.M dan Russel, J.M. 1993. *Bioactive Natural Products*. CRC press. London
- Departemen Farmakologi Terapeutik. 2000. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi 5. Gaya Baru. Jakarta
- Ditjen P2M & PL Depkes RI. 2004. *Perilaku dan Siklus Hidup Nyamuk Aedes aegypti*, Buletin Harian Tim Penanggulangan DBD DepKes RI. Ditjen P2M & PL DepKes RI; Jakarta
- Fanani R, 2009, *Penelitian Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Daun Dewandaru (Eugenia uniflora L.) Peroral Pada Tikus Galur Sprague Dawley*, Fakultas Kedokteran, Jurusan Kedokteran Universitas Negeri Surakarta; Surakarta.

Gillet, J.D. 1972. *The Mosquito: Its Life, Activities and Impact on Human Affairs*. Doubleday, Garden City, NY.

Harbourne, J.B. 1984. *Physichemical Methods*. Diterjemahkan oleh K. Padmawinata dan I. Soediro. 1996. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tanaman*. Bandung: ITB.