

**EFEK LARVASIDA EKSTRAK ETANOL DAUN
MAHKOTA DEWA (*Phaleria macrocarpa*)
TERHADAP LARVA *Aedes aegypti*
Hadiyan Adhli M¹⁾, Suri Dwi L²⁾, Wiwik Rahayu W³⁾**

ABSTRACT

Dengue Hemorrhagic Fever (DHF) is a disease caused by type I, II, III and IV dengue virus which is transmitted by Aedes aegypti and Aedes albopictus mosquitos. The effort to control this dengue vector by chemical larvicides still have an adverse impact the population and causing vector's resistance . Botanical larvacides produced from plants material can be used as an alternative to reduce these impacts . Mahkota Dewa (Phaleria macrocarpa) is one of the potential plants as a botanical larvicidal. The aim of this research was to determine the larvacides effect of Phaleria macrocarpa leaves ethanol extract against Aedes aegypti larvae. The design of this research is an experimental includes preliminary test and final test. The final test divided into 7 groups, consists of 0 ppm , 100 ppm , 300 ppm , 500 ppm , 600 ppm , 900 ppm , 1000 ppm. Each group contained 20 larvae in 100 ml extract solution with 3 repetitions. The regression Probit Analysis concluded that the LC₅₀ has 545,3 ppm and LC₉₀ has 859,9 ppm.

Keywords: Larvacides effect, Phaleria macrocarpa, Aedes aegypti

PENDAHULUAN

Demam Berdarah Dengue (DBD) adalah penyakit yang disebabkan oleh virus dengue I, II, III dan IV yang ditularkan oleh nyamuk *Aedes aegypti* sebagai vektor utama dan *Aedes albopictus* sebagai vektor potensial.¹ Penyakit ini ditandai oleh empat manifestasi klinis utama yaitu demam tinggi, fenomena hemoragik, sering dengan hepatomegali dan pada kasus berat ditemukan tanda-tanda kegagalan sirkulasi sehingga pasien dapat mengalami syok hipovolemik yang diakibatkan oleh kebocoran plasma. Syok ini disebut *Dengue Shock Syndrome* (DSS) dan dapat berakibat fatal.²

Berdasarkan data dari *World Health Organisation* (WHO) tahun 2009 untuk wilayah Asia Pasifik terdapat sekitar 1,8 juta penduduk (lebih dari 70%) kini menghadapi resiko dari dengue yang mulai pertama kali dikenali di Filipina pada tahun 1956.³ Negara Indonesia pernah mengalami kasus terbesar DBD (53%) di kawasan Asia Tenggara pada tahun 2005, yaitu 95.270 kasus dan kematian 1.298 orang *Case Fatality Rate* (CFR) 1,36%. Jumlah kasus tersebut meningkat menjadi 17% dan kematian 36% dibanding tahun 2004, selanjutnya sering terjadi kejadian luar biasa (KLB) dan meluas ke seluruh wilayah Republik Indonesia.^{1,2}

¹⁾Penulis untuk korespondensi: Fakultas Kedokteran Universitas Riau, Alamat: Jl.Diponegoro No.1,Pekanbaru, E-mail: boyanadhli@gmail.com

²⁾Bagian Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Riau

³⁾Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Riau

Kota Pekanbaru merupakan salah satu daerah endemis DBD di Provinsi Riau sejak ditemukan pertama kali pada tahun 1973. Sampai saat ini jumlah kasus DBD selalu menunjukkan angka fluktuatif. Data pada tahun 2010 jumlah penderita 202 orang dengan 1 kematian (CFR= 0,49%). Pada tahun 2011 terjadi peningkatan yang signifikan dengan angka kesakitan 426 orang dengan 5 kematian (CFR=1,17%) dan dinyatakan Kejadian Luar Biasa (KLB) DBD. Sedangkan pada tahun 2012 sampai akhir bulan Desember penderita penyakit DBD sebanyak 157 orang dengan kematian 1 orang (CFR= 0,63%). Terdapat 7 kecamatan endemis DBD di Kota Pekanbaru salah satunya Kecamatan Payung Sekaki.⁴

Sampai saat ini belum ditemukan obat khusus untuk pemberantasan DBD, demikian pula vaksin untuk mencegah penyakit ini. Oleh karena itu pemberantasan hanya dapat dilakukan dengan pengendalian vektornya.⁵

Pengendalian vektor dapat dilakukan secara kimia, mekanis dan hayati.⁶ Pengendalian yang paling sering digunakan saat ini adalah pengendalian secara kimiawi dengan menggunakan insektisida karena memiliki efek kerja yang lebih efektif dan hasilnya cepat terlihat jika dibandingkan dengan pengendalian biologis. Salah satu penggunaan insektisida yaitu dengan organofosfat untuk penyemprotan nyamuk dan abate untuk membunuh larva.^{7,8} Berdasarkan penelitian, insektisida memiliki beberapa efek samping, yaitu resistensi pada nyamuk dan larva, resiko kontaminasi air dan makanan, serta menyebabkan akumulasi residu kimia pada flora, fauna, tanah dan lingkungan.⁸

Dalam usaha untuk mengurangi efek samping dari penggunaan insektisida kimia maka perlu dicari alternatif lain yang lebih aman. Salah satu pengembangan insektisida alternatif adalah dengan cara membunuh nyamuk khususnya pada tahap larva dengan menggunakan larvasida alami. Dengan usaha ini diharapkan perkembangan siklus hidupnya akan terhambat atau terputus karena nyamuk tidak dapat berkembang menjadi dewasa. Penelitian terbaru menunjukkan bahwa larvasida yang berasal dari ekstrak tanaman aman untuk lingkungan, dapat didegradasi, dan bersifat spesifik terhadap target.⁹

Larvasida yang berasal dari ekstrak tanaman telah banyak diteliti, salah satunya adalah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) yang merupakan keluarga *Thymelaeaceae* dan berasal dari daerah Papua.¹⁰ Bahan aktif pada tumbuhan merupakan hasil metabolit sekunder dan digunakan sebagai alat pertahanan diri tumbuhan tersebut. Tumbuhan mahkota dewa mengandung senyawa aktif yang terdapat pada daun, buah, kulit buah dan biji.¹¹ Beberapa senyawa aktif yang terkandung dalam daun mahkota dewa berupa *Alkaloid*, *Saponin*, *Flavonoid* dan *Polifenol*. Kandungan senyawa aktif tersebut diketahui merupakan zat yang bersifat insektisidal.¹²

Penelitian daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) sebagai larvasida sebelumnya telah dilakukan oleh Iskandar,dkk yang menggunakan sampel larva *Culex sp.* Data hasil penelitian pengamatan jumlah kematian larva *Culex sp.* didapatkan LC₅₀ sebesar 500 ppm yang berarti pada konsentrasi 500 ppm ekstrak daun mahkota dewa dapat membunuh 50% larva dan diperoleh LC₉₀ sebesar 800

ppm artinya pada konsentrasi 800 ppm ekstrak daun mahkota dewa dapat membunuh 90% larva. Berdasarkan data-data tersebut, peneliti tertarik melakukan uji efek larvasida ekstrak etanol daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap larva *Ae.aegypti*.

TUJUAN PENELITIAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek larvasida ekstrak etanol daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap larva nyamuk *Ae.aegypti*.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini bersifat eksperimental yaitu, melihat daya bunuh ekstrak etanol daun mahkota dewa terhadap larva *Aedes aegypti* sesuai dengan dosis dan waktu yang ditetapkan. Pengujian dilakukan dengan dua tahap yaitu uji pendahuluan dan uji akhir. Uji pendahuluan dilakukan untuk mengetahui kisaran konsentrasi yang akan digunakan pada saat uji akhir. Penelitian dilaksanakan pada bulan November 2013 sampai dengan bulan Februari 2014. Variabel bebas pada penelitian ini adalah ekstrak etanol daun mahkota dewa dalam berbagai konsentrasi. Variabel terikatnya adalah LC_{50} dan LC_{90} larva *Ae.aegypti*.

Alat dan bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah larva instar 3 dan 4 yang diperoleh dari hasil pembiakan di Laboratorium Parasitologi, ekstrak etanol daun mahkota dewa, perangkat pemeliharaan dan pembiakan larva *Ae.aegypti*. Prosedur uji akhir menggunakan gelas plastik sebanyak 7 buah diisi dengan variasi konsentrasi ekstrak etanol daun mahkota dewa yang diperoleh dari hasil uji pendahuluan. Satu gelas plastik sebagai kontrol diisi dengan air hingga mencapai 100 ml. Kemudian larva dimasukkan sebanyak 20 ekor tiap-tiap gelas plastik. Setelah 24 jam, dilakukan penghitungan jumlah larva *Ae.aegypti* yang mati pada masing-masing konsentrasi larutan ekstrak. Larva yang dinyatakan mati adalah larva yang tenggelam atau tidak bergerak setelah digerak-gerakkan dengan batang pengaduk.

HASIL PENELITIAN

Uji Pendahuluan

Data hasil uji pendahuluan ekstrak etanol daun mahkota dewa terhadap larva *Ae.aegypti* diperlihatkan pada tabel 4.1.

No.	Konsentrasi (ppm)	Jumlah larva uji	Pengulangan		Rata-rata kematian larva	Persentase kematian larva (%)
			I	II		
1.	0 ppm	10	0	0	0.00	0
2.	100 ppm	10	1	0	0.05	5
3.	200 ppm	10	2	1	0.15	15
4.	300 ppm	10	3	2	0.25	25
5.	400 ppm	10	3	3	0.30	30
6.	500 ppm	10	5	4	0.45	45

7.	600 ppm	10	5	6	0.55	55
8.	700 ppm	10	7	5	0.60	60
9.	800 ppm	10	8	8	0.80	80
10.	900 ppm	10	10	8	0.90	90
11.	1000 ppm	10	10	10	1.00	100

Tabel 4.1 Jumlah dan persentase larva *Ae.aegypti* yang mati pada berbagai konsentrasi ekstrak etanol daun mahkota dewa pada uji pendahuluan

Hasil uji pendahuluan menunjukkan dengan konsentrasi 100 ppm sudah mampu membunuh larva sebesar 5% dan dengan konsentrasi 1000 ppm dapat membunuh larva 100%. Data ini kemudian dianalisis dengan Probit dan didapatkan LC_{50} sebesar 546 ppm dan LC_{90} sebesar 905,1 ppm. Kemudian data ini menjadi patokan untuk menentukan kisaran konsentrasi pada uji akhir berdasarkan rentang kematian larva 0% sampai dengan 100% dan perkiraan konsentrasi yang menyebabkan kematian larva 50% (LC_{50}) dan kematian larva 90% (LC_{90}) dari jumlah populasi. Didapatkan kisaran konsentrasi untuk uji akhir yaitu 0 ppm, 100 ppm, 300 ppm, 500 ppm, 600 ppm, 900 ppm dan 1000 ppm.

Uji Akhir

Data hasil uji akhir ekstrak etanol daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap larva nyamuk *Ae.aegypti* yang dilakukan di laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Riau pada bulan Februari 2014 diperlihatkan pada tabel 4.2.

No.	Konsentrasi (ppm)	Jumlah larva uji	Pengulangan			Rata-rata kematian larva	Persentase kematian larva (%)
			I	II	III		
1.	0	20	0	0	0	0	0
2.	100	20	1	1	0	0.030	3
3.	300	20	4	5	4	0.216	21.6
4.	500	20	9	9	7	0.417	41.7
5.	600	20	12	11	11	0.570	57
6.	900	20	18	18	17	0.883	88.3
7.	1000	20	20	20	20	1.000	100

Tabel 4.2. Jumlah dan persentase larva *Ae.aegypti* yang mati pada berbagai konsenstrasi ekstrak etanol daun mahkota dewa pada uji akhir

Berdasarkan tabel 4.2 dapat dilihat bahwa pada konsentrasi 1000 ppm ekstrak etanol daun mahkota dewa menunjukkan persentase jumlah kematian larva *Ae.aegypti* yang paling besar yaitu 100% dan konsentrasi 100 ppm menunjukkan persentase paling kecil yaitu 3 %. Kontrol negatif didapatkan nilai sebesar 0 %. LC_{50} dan LC_{90} ekstrak etanol daun mahkota dewa terhadap larva *Ae.aegypti* ditentukan melalui analisis Probit dengan menggunakan LC_{50} terletak pada konsentrasi 545,3 ppm dan LC_{90} pada konsentrasi 859,9 ppm dengan batas kepercayaan (*Confidence limit*) 95% dari bahan uji.

PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh dari uji akhir ,yaitu persentase kematian larva *Ae.aegypti* yang meningkat dengan semakin tingginya konsentrasi ekstrak menunjukkan adanya efek toksik dari ekstrak etanol daun mahkota dewa terhadap larva *Ae.aegypti*. Pada kontrol negatif (0 ppm) tidak terdapat kematian larva. Apabila terdapat kematian pada kontrol negative dan persentase kematian diatas 10%, maka penelitian harus diulangi. Pada penelitian ini tidak menggunakan kontrol positif yaitu salah satunya dengan menggunakan *temephos* (abate) dikarenakan bahan tersebut sudah terbukti dan efektif sebagai larvasida sehingga tidak memerlukan pengujian.¹⁴

Temephos (abate) merupakan larvasida standard WHO yang digunakan di seluruh dunia. Mekanisme kerjanya menembus dinding larva dan menghambat *cholinesterase* sehingga menghambat impuls saraf larva. *Temephos* dapat menimbulkan efek samping terhadap lingkungan dan organisme di sekitarnya. Pada manusia, *temephos* juga dapat menghambat *cholinesterase* dan mengoverstimulasi saraf sehingga menyebabkan mual, pusing, kebingungan, dan pada konsentrasi yang sangat tinggi, dapat menyebabkan paralisis dan kematian.²⁸

Penelitian ini menggunakan larvasida nabati dari ekstrak daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*). Beberapa senyawa aktif dalam daun mahkota dewa yang diperkirakan memiliki efek larvasida terhadap larva *Ae.aegypti* adalah *Alkaloid*, *Saponin*, *Flavonoid* dan *Polifenol*.^{12,13,15} Senyawa *alkaloid* bekerja dengan cara mengganggu sistem kerja saraf (*neuromuscular toxic*) larva, menghambat daya makan larva dan bertindak sebagai racun perut.¹⁶ Senyawa ini bersifat basa dan merupakan senyawa polar.

Menurut Setyaningrum¹⁶, senyawa aktif *saponin* memiliki efek kerja menurunkan tegangan permukaan selaput mukosa traktus digestivus larva sehingga dinding traktus digestivus larva menjadi korosif dan proses metabolisme mengalami gangguan. Senyawa *flavonoid* bekerja dengan cara menghambat makan dan bersifat toksis untuk serangga.¹⁷ Sedangkan senyawa polifenol memiliki efek kerja sebagai inhibitor pencernaan serangga.¹⁶ Timbulnya efek larvasida ekstrak daun mahkota dewa yaitu akibat senyawa-senyawa aktif yang terkandung dalam daun mahkota dewa bekerja secara resultan terhadap larva nyamuk *Ae.aegypti*.¹²

Pada penelitian ini menggunakan pelarut etanol. Berdasarkan penelitian Wullur, dkk¹⁸ menunjukkan bahwa pelarut etanol mampu melarutkan senyawa aktif polar maupun non-polar yang terkandung didalam bagian tanaman contohnya pada bagian daun, batang dan buah. Sehingga pelarut ini dapat digunakan dalam pembuatan ekstrak daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) yaitu pada proses maserasi.

Dalam uji pendahuluan rentang konsentrasi yang digunakan sebanyak 11 konsentrasi sedangkan pada uji akhir peneliti menggunakan 7 konsentrasi. Pemilihan rentang konsentrasi ini berdasarkan jumlah kematian larva 0% sampai dengan 100% dan perkiraan konsentrasi yang menyebabkan kematian larva 50% dan kematian larva 90% dari jumlah populasi.

Melalui analisis Probit uji akhir ekstrak etanol daun mahkota dewa terhadap larva *Ae.egypti* diperoleh LC_{50} dengan konsentrasi 545,3 ppm dan LC_{90} dengan konsentrasi 859,9 ppm. Hasil analisis Probit penelitian ini berbeda dengan penelitian Astuti¹⁹ yang menggunakan ekstrak buah mahkota dewa terhadap larva *Ae.egypti*. Astuti memperoleh hasil LC_{50} dan LC_{90} berturut-turut sebesar 18,364 ppm dan 130,894 ppm. Perbedaan penggunaan rentang konsentrasi ekstrak dikarenakan kandungan senyawa aktif yang terdapat didalam buah dan daun tidak memiliki jumlah dan kadar yang sama.¹⁵

Penelitian yang menggunakan ekstrak mahkota dewa terhadap hewan lain juga telah banyak diteliti. Iskandar, dkk¹² menggunakan ekstrak daun mahkota dewa sebagai uji efek larvasida terhadap larva nyamuk *Culex sp* dan didapatkan melalui hasil analisis Probit konsentrasi kematian larva 50% pada 494,7 ppm dan kematian larva 90% pada 793 ppm. Hasil penelitian tersebut menunjukkan ekstrak daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) memiliki efek larvasida namun pada rentang konsentrasi yang sedikit berbeda. Perbedaan spesies objek penelitian dapat mempengaruhi rentang dosis konsentrasi karena daya racun suatu insektisida umumnya berbeda antara satu spesies dengan spesies lainnya.¹⁹

Perbedaan antara hasil penelitian dengan beberapa penelitian yang telah dilakukan oleh peneliti lain dapat terjadi karena beberapa faktor. Berdasarkan faktor biologi yaitu seperti cara penyimpanan bahan tumbuhan, umur tumbuhan, dan bagian tumbuhan yang digunakan. Selanjutnya juga terdapat faktor kimia yang dapat mempengaruhi diantaranya jenis senyawa aktif, serta kualitas dan kuantitas senyawa aktif yang terkandung di dalam bahan. Selain itu, metode ekstraksi, perbedaan alat yang digunakan, ukuran bahan, kekerasan bahan, kekeringan bahan, pelarut yang digunakan, kandungan logam berat juga dapat mempengaruhi hasil akhir dari pengujian.²⁰

Larva uji *Ae.egypti* yang digunakan dalam penelitian merupakan larva generasi pertama. Penggunaan larva generasi pertama dikarenakan kondisinya yang telah homogen seperti, keadaan lingkungan, makanan, dan bebas dari zat – zat kimia. Larva generasi pertama dibiakkan dari larva yang dikumpulkan dari beberapa TPA di kecamatan Payung Sekaki. Faktor yang mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan larva ialah lingkungan dan kandungan zat makanan. Suhu ruangan berkisar antara 26 – 28 °C diukur dengan termometer. Air yang digunakan diukur dengan kertas lakmus dan didapatkan pH air 7.

Larva yang digunakan dalam penelitian adalah larva instar 3 – 4 . Menurut Kestina²¹, sensitivitas larva instar 2 dan 3 berbeda, diduga karena larva instar 2 mempunyai pertumbuhan dan perkembangan yang belum optimal seperti instar 3, sehingga kemampuan untuk menetralkan senyawa yang bersifat toksik lebih rendah daripada larva instar 3.

Makanan yang diberikan kepada larva berupa pelet ikan yang digerus halus yang diberikan 1 kali sehari. Nyamuk diberi makan air gula yang dimasukkan kedalam gelas plastik yang telah diberi kapas. Protein yang

terkandung di dalam darah diperlukan nyamuk untuk pematangan telur. Karena sifat nyamuk *Ae.aegypti* yang antropofilik, peneliti menjadi media nyamuk untuk dihisap darahnya. Peneliti memasukkan tangan ke dalam kandang nyamuk sesuai dengan pola waktu menggigit nyamuk *Ae.aegypti*.

KESIMPULAN

Simpulan yang diperoleh dari penelitian ini adanya efek larvasida ekstrak etanol daun mahkota dewa terhadap larva nyamuk *Ae.aegypti*. Konsentrasi ekstrak etanol daun mahkota dewa yang diperlukan untuk membunuh 50% dan 90% dari populasi larva uji *Ae.aegypti* (LC₅₀ dan LC₉₀) dalam rentang waktu 24 jam adalah 545,3 ppm dan 859,9 ppm .

SARAN

Perlunya dilakukan isolasi senyawa aktif yang berperan sebagai larvasida pada daun mahkota dewa dan perlunya dilakukan uji toksisitas ekstrak etanol daun mahkota dewa terhadap hewan peliharaan dan terhadap manusia sebelum digunakan secara luas di masyarakat. Perlunya dilakukan penelitian terhadap tanaman – tanaman lain yang diduga berefek larvasida sebagai alternatif larvasida kimiawi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada dr. Suri Dwi Lesmana, M.Biomed dan dr. Wiwik Rahayu Wirasto, M.Kes selaku pembimbing I dan II yang telah meluangkan waktu, pikiran, nasehat serta motivasi kepada penulis demi kesempurnaan penelitian ini. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu dan telah mendoakan suksesnya penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Soegijanto S, Salamun, Yotopranoto S. *Nyamuk Aedes aegypti sebagai vektor penyakit demam berdarah dengue*. Dalam : Soegijanto S. Demam Berdarah Dengue Tinjauan dan Temuan Baru di Era 2003. Jakarta. 2004.
2. World Health Organization. Demam berdarah dengue : *diagnosis, pengobatan, pencegahan dan pengendalian / organisasi kesehatan dunia (WHO)* : Alih bahasa, Ester M. ; editor edisi bahasa Indonesia, Asih Y. Edisi 2. Jakarta : EGC ; 1999
3. Rosario Z. World Health Organisation Dengue Update : *Guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control*. 2009. Diunduh dari : <http://10Lec-Dengue Update WHO2009 Guideline Revised.pdf>
4. Dinas Kesehatan Kota Pekanbaru. *Data demam berdarah dengue tahun 2010-2012 di Kota Pekanbaru*. Pekanbaru :Dinas Kesehatan Kota Pekanbaru; 2012.
5. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Perilaku dan siklus hidup nyamuk aedes aegypti, sangat penting diketahui dalam melakukan

- kegiatan PSN termasuk pemantauan jentik secara berkala. bulletin harian. 2004.
6. Anggarini SD. *STOP Demam Berdarah Dengue*. Jakarta . 2009.
 7. Supartha IW. Pengendalian terpadu vektor virus demam berdarah dengue, *Aedes aegypti* (Linn) dan *Aedes albopictus* (skuse) (Diptera : Culicidae). Denpasar : Fakultas Kedokteran Universitas Udayana ; 2008
 8. Demba R, Faye O, Ndiaye M, Dieye A, Afotou JM. Toxic Effects of Neem Products (*Azadirachta indica* A. Juss) on *Aedes aegypti* Linnaeus 1762 Larvae. African Journal of Biotechnology. 2007.
 9. Kihampa C, Joseph CC, Nkunya MHH, Magesa SM, Hassanali A, Heydenreich M, et al. Larvicidal and IGR Activity of Extract Tanzanian Plants Againsts Dengue Vector Mosquitoes. J Vector Borne Dis. 2009
 10. Winarto WP. *Seri Agri Sehat Mahkota Dewa*. Jakarta: Swadaya. 2007.
 11. Harmanto N. *Mahkota Dewa revisi Obat Pusaka Para Dewa*. Jakarta ; Agro Media Pustaka: 2004.
 12. Iskandar A, Winarsih S, Endarto O. *Uji Efek Larvasida Ekstrak Daun Mahkota Dewa (Phaleria macrocarpa) terhadap Larva Culex sp*. 2006
 13. Widowati L. *Kajian Hasil Penelitian Mahkota Dewa*. Puslitbang Farmasi dan Obat Tradisional. 2005.
 14. EPA. *Temephos Facts*. United States Environmental Protection Agency, Prevention P and Toxic Substances. 2001
 15. Simanjuntak P. *Identifikasi Senyawa kimia Dalam Buah Mahkota Dewa (Phaleria macrocarpa), Thymelaceae*. Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI. Bogor. 2008.
 16. Setyaningrum E, Nariratri AS, Saftarina F, Kurniawan B. *Uji Efektivitas Ekstrak Buah Mahkota Dewa (Phaleria macrocarpa(Scheff.) Boerl) sebagai Larvasida Terhadap Larva Aedes aegypti Instar III*. FK-UNILA. Lampung. 2014.
 17. Gotama IBI, Sugiarto S, Nurhadi M, Widiyastuti Y, Wahyono S, Prapti IJ. *Inventaris tanaman obat Indonesia. Jilid V*. Jakarta: Departemen Kesehatan Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan; 1999.
 18. Wullur AC, Schadow J, Wardhani ANK. *Identifikasi Alkaloid pada Daun Sirsak (Annona muricata L.)*. Manado: Farmasi Poltekes Kemenkes. 2012.

19. Astuti DI. *Pengaruh Pemakaian Berbagai Konsentrasi Ekstrak Buah Mahkota Dewa (Phaleria macrocarpa (scheff.) boerl) sebagai Insektisida Alami terhadap Kematian Larva Nyamuk Aedes aegypti*. Semarang: Poltekkes Depkes Semarang. 2008.
20. Depkes RI, Dirjen POM. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta.2000.
21. Kestina. Daya larvasida getah opatah tulang *Euphorbia tirucalli* L. Terhadap larva nyamuk *Ae.aegypti* dan *Ae.fatigants*. Surabaya : Jurusan Biologi FMIPA Universitas Airlangga ; 1995.