

Toxistas temephos, minyak atsiri jahe (*Zingiber officinale Roxb*), dan *Bacillus thuringiensis ssp. israelensis* (Bti) terhadap larva nyamuk *Ae. aegypti* dari Sumatra Utara

Toxicities of temephos, essential oil of ginger (Zingiber officinale Roxb), and Bacillus thuringiensis ssp. israelensis (Bti) against Ae. aegypti larvae from North Sumatra

Horas Sihotang¹ & Sitti Rahmah Umniyati²

Dikirim: 27 September 2017
Diterbitkan: 15 Maret 2018

Abstract

Purpose: The purpose of this study was to confirm the resistance status and resistance ratio (RR) of *Ae. aegypti* larvae to temephos as well as to determine the effectiveness of a liquid solution of Bti H-14 and the essential oil of ginger (*Zingiber officinale roxb*) against *Ae. aegypti* larvae from Deli Serdang, North Sumatra. **Method:** A randomized post-test only control group was conducted using 3rd instar larvae of *Ae. aegypti* as the subjects of this study. Larval mortality was recorded after 24 hours of exposure with diagnostic dose of temephos (0.02ppm) to determine the resistance status. Probit analysis was conducted to determine median lethal time (LT50) and the RR. The concentration of Bti toxicity test was 0.01, 0.013, 0.017, 0.02, 0.03 and 0.04 mL/L and the concentration of toxicity essential oil of ginger test was 66.6, 99.9, 133.2, 166.5, 199.8 and 266.4 ppm. **Results:** *Ae. aegypti* larvae were resistant to temephos (0.02ppm) with RR $1.9 < 5$. The value of LC50 and LC90 of Bti were 0.014; 0.024 mL/L respectively. The value of LC50 and LC90 of essential oil of ginger solution were 65.6ppm and 129.1ppm respectively. **Conclusion:** Larvae are resistant to temephos with low resistance criteria. Bti and essential oil of ginger are toxic to *Ae. aegypti* larvae.

Keywords: Bti; DHF; essential oils of ginger; temephos

¹Departemen Perilaku Kesehatan, Lingkungan dan Kedokteran Sosial, Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat, dan Keperawatan Universitas Gadjah Mada (Email: horas.mhs@gmail.com)

²Departemen Parasitologi, Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat dan Keperawatan Universitas Gadjah Mada

PENDAHULUAN

Penyakit demam berdarah adalah salah satu penyakit yang penyebarannya paling cepat di dunia yang disebabkan oleh virus dengue pada nyamuk *Ae. aegypti*. Diperkirakan 50 juta infeksi dengue terjadi setiap tahun dan sekitar 2,5 miliar orang di negara endemik menderita dengue. Penyakit Demam Berdarah Dengue (DBD) di Indonesia dikenal sejak tahun 1968 dan pertama kali ditemukan di Surabaya dan Jakarta dengan jumlah kasus yang tercatat sebanyak 58 kasus dengan 24 kematian, setelah itu jumlah kasus DBD terus bertambah seiring dengan semakin meluasnya daerah endemis DBD (1,2).

Jumlah penderita DBD di Indonesia yang dilaporkan tahun 2014 sebanyak 100.347 kasus dengan jumlah kematian sebanyak 907 orang, lebih rendah dibandingkan tahun 2013 dengan jumlah penderita sebanyak 112.511 kasus dan jumlah meninggal sebanyak 871 orang. Namun demikian, jumlah kabupaten/kota terjangkit DBD pada tahun 2014 justru mengalami peningkatan dari 412 (82,9%) pada tahun 2013 menjadi 433 kabupaten/kota (84,74%) pada tahun 2014 (3).

Berbagai upaya untuk mencegah penularan virus dengue telah banyak dilakukan baik secara lokal, regional maupun global yang bertujuan untuk mencegah kontak antara nyamuk dan manusia. Salah satu metode yang sering dilakukan di Indonesia, baik secara nasional maupun lokal adalah larvasida menggunakan bubuk abate dengan bahan aktif *temephos* 1% yang dimulai sejak tahun 1976 dan sejak tahun 1980 menjadi program nasional dalam pengendalian vektor nyamuk *Ae. aegypti*. Penggunaan *temephos* yang terus menerus dan dalam jangka waktu yang panjang sering menyebabkan resistensi, di Indonesia telah digunakan lebih dari 30 tahun serta dicurigai menimbulkan resistensi pada vektor (4–7).

Hasil penelitian terdahulu menunjukkan bahwa larva nyamuk *Ae. aegypti* telah resisten terhadap *temephos* (6,8–12). *Bacillus thuringiensis ssp. israelensis* (*Bti*) dinilai efektif dalam membunuh larva nyamuk *Ae. aegypti*. Bakteri *Bti* adalah bakteri Gram positif, berbentuk batang dan bersporulasi dari genus *Bacillus* yang dapat diisolasi dari berbagai sumber ekosistem dan bersifat selektif dan tidak beracun bagi hewan lain atau manusia serta ramah lingkungan. Bakteri *Bti* dapat digunakan sebagai larvasida pada area yang luas dan tempat-tempat penampungan air dan umumnya akan memberikan efek pada larva nyamuk mulai dari 1 jam setelah perlakuan (13–16).

Senyawa yang terkandung dalam tumbuhan dan diduga berfungsi sebagai insektisida diantaranya tana-

man yang mengandung sianida, saponin, tanin, flavonoid, alkaloid, steroid dan minyak atsiri. Salah satu tumbuhan yang banyak terdapat di Indonesia dan dimanfaatkan sebagai bahan alami adalah tumbuhan jahe (*Zingiber officinale*) dengan senyawa kimia aktif seperti minyak atsiri (*volatile oil: sesquiterpene dan monoterpene*) dan *non-volatile oil (oleoresin)* (17–19). Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan status dan rasio resistensi (RR) larva *Ae. aegypti* terhadap *temephos* dan juga menguji toksisitas bakteri *Bti* H-14 serta minyak atsiri jahe (*Zingiber officinale roxb*) terhadap larva *Ae. aegypti*.

METODE

Jenis penelitian adalah eksperimen murni laboratorium dengan rancangan *randomized post-test only control group design*. Sampel larva bersumber dari Kabupaten Deli Serdang (Desa Buntu Bedimbar dan Telaga Sari) yang dikumpulkan dengan *ovitrap* dan diabaikan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran UGM. Larva nyamuk yang diuji dalam penelitian adalah larva nyamuk *Ae. aegypti* instar III. Besar sampel dalam penelitian ini adalah 25 larva untuk uji kerentanan terhadap *temephos* dengan volume uji 250 mL dan 10 larva untuk uji efektivitas *Bti* dan minyak atsiri jahe dengan volume uji 100 mL (22). Total sampel dalam penelitian adalah sebanyak 1.640 larva.

Variabel bebas yaitu konsentrasi *temephos*, *Bacillus thuringiensis ssp. israelensis* (*Bti*), minyak atsiri jahe (*Zingiber officinale roxb*) dan larva nyamuk *Ae. aegypti* instar III dan variabel terikat yaitu kematian (*mortalitas*) larva nyamuk *Ae. aegypti* instar III pada level konsentrasi yang telah ditentukan dengan nilai $LC_{50,90}$ dan $LT_{50,90}$.

Prosedur uji kerentanan larva dengan insektisida sesuai dengan rekomendasi WHO (23). Pengamatan dilakukan setelah 24 jam paparan dan untuk menentukan $LT_{50,90}$ dilakukan pengamatan dalam menit. Dihitung larva yang mati dan yang hampir mati untuk menghitung persentase mortalitas. Perhitungan persentase mortalitas larva dengan rumus: % mortalitas larva uji = jumlah larva uji yang mati / total larva uji x 100%. Pengulangan dilakukan empat kali untuk masing-masing konsentrasi dengan jumlah larva yang sama dan kontrol disiapkan dengan jumlah larva yang sama dengan menambahkan 1 mL alkohol.

Jika terdapat lebih dari 10% larva kontrol berubah menjadi pupa selama uji berlangsung maka uji harus diulang. Kriteria resistensi nyamuk dievaluasi sesuai kriteria WHO sebagai berikut: apabila mortalitas larva $\geq 98\%$ larva masih rentan; apabila mortalitas larva

sekitar 80%-97% larva masih toleran; dan apabila mortalitas larva < 80% larva telah resisten (24).

Jika terdapat mortalitas larva antara 5% dan 20 % pada larva kontrol, maka dilakukan koreksi mortalitas larva pada kelompok perlakuan dengan menggunakan Formulasi *Abbott* dengan rumus: koreksi mortalitas = % mortalitas larva uji - % mortalitas larva kontrol / 100 - % mortalitas larva kontrol x 100%.

Rasio Resistensi (RR) dihitung untuk memantau evolusi resistensi insektisida pada populasi lapangan. Interpretasi RR adalah jika $RR < 5$ maka larva resisten rendah; jika $RR 5 - 10$ maka larva resisten sedang; dan jika $RR > 10$ maka larva resisten tinggi (23). Nilai RR dihitung dengan membandingkan LT_{50} larva uji lapangan dan LT_{50} larva uji rentan.

Bahan-bahan dalam penelitian adalah larva uji nyamuk *Ae. aegypti* instar III generasi F_1-F_2 yang diperoleh dari hasil penetasan telur nyamuk lapangan dan larva laboratorium sebagai kontrol rentan; Bahan perlakuan terdiri dari *Granular Insecticide Abate® 1 SG for Control of Mosquito and Midge Larvae* dengan bahan aktif *Temephos* 1% W/W dan *Inert ingredient* 99% produk Brazil; Larutan cair biolarvasida *Bactivec®SL* dengan bahan aktif *Bacillus thuringiensis var. is. type H-14* 0,6% dan *Inert ingredient* 99,4% yang diproduksi oleh Shandong Lukang Shelile Pharmaceutical Co. Ltd China, pemegang pendaftaran PT. Mahakam Beta Farma (No. Reg: RI. 06090120083248; No. Batch: 1607047; Exp. Date: 20180824) berdasarkan lisensi dari Labiofam, Cuba dan minyak atsiri jahe (*Zingiber officinale roxb*) yang diperoleh dengan cara penyulingan.

Konsentrasi diagnostik *temephos* pada uji kerentanan larva nyamuk sesuai dengan anjuran WHO sebesar 0,02 ppm (22). Larvisida *Bti* yang digunakan dalam penelitian adalah berbentuk larutan cair yaitu *Bti type H-14* dengan dosis perlakuan anjuran WHO pada kontainer kecil sebesar 0,5-2 mL/50liter air atau 0,01-0,04mL/L (25). *Stock solution Bti* mengacu pada dosis pada kemasan, sedangkan untuk menentukan dosis minyak atsiri jahe diadopsi dari penelitian Kalaivani *et al.*, 2012 sebesar 85,53ppm (26).

Untuk mendapatkan konsentrasi yang akan digunakan pada perlakuan, dilakukan perhitungan dengan rumus sebagai berikut: $V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$. Kriteria minimal rangkaian konsentrasi dan pengulangan yang akan diuji untuk tiap-tiap bahan uji, dapat diketahui dengan rumus sebagai berikut: $(R - 1) (T - 1) \geq 15$ (27).

HASIL

Persentase mortalitas larva nyamuk *Ae. aegypti* perlakuan *temephos* konsentrasi 0,02 ppm di Desa Buntu Bedimbar 46% dan di Desa Telaga Sari 55% (Tabel 1). Tidak ditemukan kematian larva kontrol negatif dengan perlakuan alkohol 70% konsentrasi 250 μ L, dengan demikian tidak perlu dilakukan koreksi mortalitas larva dengan formula *Abbott*.

Tabel 1 menampilkan status resistensi larva, dimana diketahui persentasi mortalitas larva pada lokasi penelitian <80%, sehingga dapat disimpulkan larva telah resisten terhadap *temephos* konsentrasi 0,02 ppm.

Tabel 1. Status Resistensi, *Lethal Time* ($LT_{50,90}$) dan Nilai Rasio Resistensi Larva Nyamuk *Ae. aegypti* Terhadap Perlakuan *Temephos* 1% Konsentrasi 0,02 dan 1 ppm

Sumber Larva	Jumlah Larva Uji	% Larva Mati	Bahan Uji: <i>Temephos</i> 1%						
			Konsentrasi 0,02 ppm	Konsentrasi 1 ppm		RR ₅₀	RR ₉₀	Kriteria Resistensi	Persamaan Regresi
Status Resistensi	LT_{50} (CI 95%) Satuan: menit	LT_{90} (CI 95%) Satuan: menit							
Deli Serdang				125,2 (119,8-130,1)	1,9	192,0 (179,0-206,0)	1,9	Rendah	$Y = (-9,485) + 6,905x$
Buntu Bedimbar	100	46	Resisten	-	-	-	-	-	-
Telaga Sari	100	55	Resisten	-	-	-	-	-	-
Laboratorium	100	100	Rentan	65,0 (31,6-133,5)	-	102,3 (41,0-255,2)	-	-	$Y = (-6,682) + 6,116x$

Nilai $LT_{50,90}$ mortalitas larva lokasi penelitian Deli Serdang adalah 125,2 dan 192,0 menit dan nilai $LT_{50,90}$ larva rentan adalah 65,0 dan 102,3 menit. Status resistensi pada lokasi penelitian adalah kategori rendah dengan nilai RR $1,9 < 5$.

Tabel 2 menunjukkan nilai $LC_{50,90}$ perlakuan larutan cair *Bti Type H-14* terhadap mortalitas larva Deli Serdang adalah 0,014 dan 0,024 mL/L.

Tabel 2. Nilai LC50,90 Larutan Cair Bti Type H-14 dan Larutan Minyak Atsiri Jahe (*Zingiber officinale roxb*) Terhadap Mortalitas Larva Nyamuk *Ae. aegypti*

Sumber Larva	Jenis dan Konsentrasi Bahan Uji					
	Larutan Cair Btu Type H-14 (0,01; 0,013; 0,017; 0,03 dan 0,04 mL/L)			Larutan Minyak Atsiri Jahe (<i>Zingiber officinale roxb</i>) (66,6; 99,6; 133,2; 199,8 dan 266,4 ppm)		
	LC ₅₀ (CI 95%)	LC ₉₀ (CI 95%)	Persamaan Regresi	LC ₅₀ (CI 95%)	LC ₉₀ (CI 95%)	Persamaan Regresi
Deli Serdang	0,014 (0,012-0,015)	0,024 (0,02-0,028)	$y=14,878x+5,331$	65,6 (54,4-79,0)	129,1 (111,6-149,1)	$y=(-2,922x)+4,360$

BAHASAN

Mortalitas larva pada konsentrasi diagnostik temefos (0,02ppm) dari lokasi penelitian <80 %, sehingga dapat disimpulkan bahwa larva uji telah resisten terhadap *temephos* dengan kriteria resistensi rendah karena nilai $RR < 5$ (Tabel 1). Hal ini sesuai dengan kriteria WHO yang menyatakan bahwa suatu populasi pada konsentrasi 0,02 ppm dalam pajanan selama 24 jam dinyatakan resisten jika persen kematian larva <80% (24).

Hasil analisis penelitian sejalan dengan laporan hasil penelitian serupa dari empat wilayah di Tasikmalaya, karena mortalitas larva nyamuk *Ae. aegypti* pada salah satu wilayah penelitian <80% pada konsentrasi 0,02ppm (telah resisten) terhadap *temephos* dengan nilai (*p-value*) < (α) 0,05 (28). Hasil yang berbeda terdapat pada penelitian yang dilakukan di Banjarmasin Barat, karena diketahui larva nyamuk *Ae. aegypti* dari wilayah tersebut masih rentan terhadap *temephos* (10).

Dalam menentukan status resistensi melalui perhitungan rasio resistensi dilakukan perlakuan pada larva dengan konsentrasi *temephos* 1 ppm. Pengamatan dilakukan dalam satuan menit yang dimulai dari menit ke 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105, 120, 135, 150, 165, 180, 195 dan berakhir pada menit ke 210. Persamaan garis regresi linear menjelaskan pengaruh lamanya waktu paparan *temephos* dengan konsentrasi 1 ppm terhadap mortalitas larva. Terdapat hubungan yang linear antara log waktu dengan kematian larva. Larva yang digunakan sebagai hewan uji mempunyai respon yang kuat terhadap bahan uji *temephos*.

Berdasarkan nilai rasio resistensi mortalitas larva dapat dijelaskan bahwa larva dari Deli Serdang membutuhkan waktu 1,9 kali lebih lama untuk mati dibandingkan dengan larva rentan. Status resistensi larva yang rendah mengindikasikan bahwa larva masih memiliki kerentanan terhadap *temephos*. Dengan kata lain *temephos* masih dapat digunakan sebagai larvasida pada ketiga lokasi penelitian.

Pemakaian *temephos* sebagai larvasida perlu diwaspadai karena tidak menutup kemungkinan status resistensi larva pada lokasi penelitian meningkat menjadi moderat ataupun tinggi jika operasional di lapangan tidak sesuai dengan petunjuk. Diperlukan monitoring yang rutin terhadap status kerentanan vektor, minimal 1 kali dalam dua tahun dan penting untuk pertimbangan penggantian insektisida kimia sebagai larvasida.

Hasil penelitian ini berbeda dengan hasil penelitian lain, karena dengan konsentrasi *temephos* 1mg/L diketahui bahwa larva yang dikumpulkan dari tiga kecamatan (Tambaksari, Gubeng dan Sawahan) memiliki nilai LT_{50} berkisar antara 76 sampai 302 menit, lebih lama dari yang diperoleh dengan larva laboratorium (36 menit). Nilai RR_{50} larva nyamuk *Ae. aegypti* dalam penelitian tersebut berkisar antara 5,6-8,6 (>5) dengan kriteria resistensi sedang atau *moderate resistance* (11). Hasil penelitian juga berbeda dengan penelitian yang dilakukan di Brazil karena LT_{50} ditetapkan pada perlakuan *temephos* konsentrasi 0,025 mg/L dan 0,05 mg/L. Dengan perlakuan tersebut diketahui nilai LT_{50} masing-masing 256,4 menit dan 244,6 menit (29).

Resistensi vektor terhadap insektisida penting untuk diketahui dan dipahami dalam upaya pengendalian vektor dengan insektisida. Resistensi vektor terhadap insektisida merupakan masalah yang terus meningkat dalam upaya pengendalian vektor secara kimiawi karena vektor tidak lagi terbunuh oleh dosis insektisida standar atau vektor dapat menghindari kontak dengan insektisida (20).

Ditemukan resistensi larva nyamuk *Ae. aegypti* terhadap *temephos* di Sumatera Utara dalam penelitian ini, diperlukan antisipasi yang cepat dan tepat dalam upaya pengendalian vektor DBD, seperti mengganti jenis insektisida yang selama ini digunakan sebagai larvasida dengan jenis larvasida baru yang lebih efektif. Insektisida sintetik dapat diganti menjadi hayati, seperti *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti). Penelitian lain menjelaskan larva nyamuk *Ae. aegypti* dari 14 daerah penelitian, 11 diantaranya ditetapkan

dalam status resistensi tinggi dan 2 dalam status resistensi sedang, namun masih sangat rentan terhadap Bti (30).

Beberapa strategi digunakan dalam mengelola resistensi vektor terhadap insektisida, diantaranya adalah strategi rotasi insektisida; strategi kombinasi intervensi dan strategi penyemprotan mosaik (21). Pengelolaan resistensi insektisida dapat dicapai dengan meningkatkan pengetahuan tentang status kerentanan vektor, pemantauan dan pengawasan resistensi terus menerus, memahami berbagai kecenderungan resistensi, penggunaan teknik molekuler dan biokimia yang sesuai untuk deteksi resistensi, penerapan praktik pengelolaan resistensi insektisida yang sesuai, eliminasi gen resisten dari populasi vektor, mengurangi penggunaan insektisida kimia, eksplorasi formula insektisida non piretroid dengan metode yang baru dan menjalin kemitraan lintas sektor dan program (31).

Resistensi silang larva nyamuk *Ae. aegypti* terhadap *temephos* dan *piretroid* perlu diwaspadai. Kewaspadaan ini berhubungan dengan upaya pengendalian nyamuk pada musim hujan karena peningkatan kasus demam berdarah pada musim hujan yang biasanya diatasi menggunakan pengasapan dengan insektisida *piretroid*. Kebijakan ini memberikan peluang resistensi larva nyamuk *Ae. aegypti* terhadap *temephos*, dan juga terhadap *piretroid* (10).

Hasil penelitian ini (Tabel 2) tidak jauh berbeda dengan penelitian yang dilakukan di Banjarmasin Barat karena LC₅₀ Bti terhadap larva dari Banjarmasin 0,02 mL/L, sedangkan LC₅₀ Bti pada penelitian ini 0,014 mL/L (32). Dengan perkataan lain larva *Ae. aegypti* dari Deli Serdang sedikit lebih rentan terhadap Bti dibandingkan larva dari Banjarmasin Barat karena konsentrasi yang diperlukan untuk membunuh 50% larva uji dari Deli Serdang sedikit lebih rendah.

Persamaan garis regresi perlakuan Bti Type H-14 menggambarkan ada hubungan yang linear antara log konsentrasi dengan probit kematian larva. Konsentrasi dalam uji memberikan pengaruh yang sama kuat terhadap kematian larva. Respon larva terhadap perlakuan dapat terjadi karena larva uji berasal dari varian yang homogen serta bahan uji yang dimasukkan dalam wadah uji dapat menyebar dengan sempurna.

Respon larva terhadap perlakuan Bti Type H-14 dapat diketahui dari nilai LC_{50,90}. Nilai LC_{50,90} dalam penelitian ini berada pada rentang konsentrasi anjuran WHO sebesar 0,01 mL/L – 0,04 mL/L. Menurut WHO, untuk menetapkan LC₅₀ dan LC₉₀ perlu dilakukan kajian pendahuluan untuk menetapkan satu serial

dosis yang dapat membunuh larva yang berkisar antara 10- 95% dari total larva uji (22). Nilai LC₅₀ pada penelitian ini 0,014 mL/L dan dengan meningkatkan konsentrasi ± 0,01 mL/L, larva uji telah mati sebanyak 90%. Hal ini dapat menggambarkan bahwa Bti type H-14 memiliki toksisitas yang tinggi terhadap larva dari Deli Serdang. Dengan demikian, Bti type H-14 direkomendasikan untuk dapat digunakan sebagai larvasida pengganti insektisida kimia di Deli Serdang, Sumatra Utara.

Hasil penelitian yang mirip dilakukan di Korea, menunjukkan formulasi serbuk air dispersi *Bacillus thuringiensis var. israelensis* (Bti) efektif mematikan larva nyamuk *Ae. aegypti* dengan LC₅₀ 35 mg/L (33). Penelitian lain yang hampir sama dilakukan di Yogyakarta menyimpulkan bahwa besar konsentrasi Bti secara bermakna memberikan pengaruh terhadap mortalitas larva. Pada penelitian tersebut ditampilkan LD₅₀ Bti untuk mematikan larva nyamuk *Ae. aegypti* dari daerah endemis sebesar 4,769 ppm (0,005 mL/L) dan LD₉₀ sebesar 68,229 ppm (0,07 mL/L) (13).

Bacillus thuringiensis (Bt) adalah bakteri berbentuk spora dengan sifat *entomopathogen* dan dapat ditemukan dalam berbagai ekosistem seperti tanah, air, serangga mati, debu, daun yang busuk, serta jaringan manusia dengan nekrosis parah. Bakteri ini menghasilkan protein insektisida selama fase sporulasi yang disebut dengan kristal parasporal. Kristal tersebut sebagian besar terdiri dari satu atau lebih protein *Crystal* (Cry) dan *Cytolitic* (Cyt) toksin, juga disebut *δ-endotoxin* (*delta endotoksin*). Protein Cry termasuk protein parasit dari Bt yang memberikan efek toksik terhadap organisme sasaran, sedangkan protein Cyt adalah protein dari Bt yang memberikan efek hemolitik terhadap serangga sasaran. Racun yang dihasilkan oleh protein tersebut tidak berbahaya bagi manusia, vertebrata dan tumbuhan, dan benar-benar dapat terurai secara alami (14,34).

Penelitian lain menunjukkan bahwa Bti sangat efektif digunakan sebagai larvasida di lapangan. Namun demikian sangat penting dilakukan evaluasi penggunaan Bti dalam pengendalian vektor nyamuk vektor di lapangan. Penelitian lapangan skala kecil atau besar menunjukkan bahwa Bti pada dosis yang tepat sangat efektif sebagai biokontrol vektor nyamuk, terutama terhadap spesies *Aedes* (35).

Penggunaan Bti sebagai larvasida yang spesifik terhadap larva *Aedes* dibandingkan terhadap spesies nyamuk lainnya berkaitan erat dengan perilaku larva dalam mencari makanan dan tersedianya toksin di daerah makan larva (*larva feeding zone*). Perilaku larva *Aedes* yang mencari makanan di dasar atau di dinding

tempat penampungan air (*bottom feeder*) secara otomatis akan memakan racun *Bti* yang biasanya berada di dasar dan di dinding tempat penampungan air (13,36).

Terdapat hubungan yang sangat spesifik antara kristal protein yang dihasilkan oleh *Bti* dengan larva vektor, dimana lingkungan usus vektor akan sangat menentukan spesifitas vektor terhadap *Bti*. Kristal protein dan spora yang diproduksi oleh *Bti* merupakan toksin yang akan larut dan aktif dalam suasana basa usus larva. Faktor lain yang menentukan efektivitas *Bti* sebagai larvasida adalah faktor fisik, biologis dan ekologis. Suhu air, pH air, keberadaan reseptor pada usus tengah (*midgut*) vektor, formulasi, stadium instar larva, ketersediaan makanan larva, kualitas air, periode pemaparan, galur bakteri juga sangat memengaruhi efikasi *Bti*. Disamping itu, kerentanan serangga terhadap toksin *Bti*, sumber toksin dan kemampuan cairan usus vektor dalam melarutkan kristal protein *Bti* sangat menentukan potensi racun dari δ -endotoxin (13,36).

Penggunaan *Bti* terbukti aman walaupun diaplikasikan dalam sumber air minum, tidak menimbulkan masalah kesehatan terhadap manusia walaupun terpapar secara langsung maupun tidak langsung. Efek residu *Bti* di lapangan menunjukkan efektivitas yang singkat dalam kondisi alami. Toksin *Bti* akan terurai oleh sinar ultraviolet, tidak toksik dan tidak bersifat patogen terhadap spesies bukan sasaran seperti burung, cacing, ikan dan spesies lain yang hidup di dalam air. Dengan demikian, *Bti* sebagai larvasida sangat aman digunakan dalam skala rumah tangga (13,36,37).

Berdasarkan hasil penelitian yang tertuang dalam Tabel 2 menunjukkan hasil yang sejalan dengan penelitian yang dilakukan di Denpasar yang melaporkan konsentrasi ekstrak etanol rimpang jahe merah efektif mematikan larva nyamuk *Ae. aegypti* sebesar 96% pada konsentrasi 3% (17).

Persamaan garis regresi perlakuan minyak atsiri jahe (*Zingiber officinale roxb*) menggambarkan ada hubungan yang linear antara log konsentrasi dengan probit kematian larva. Regresi dapat menjelaskan bahwa konsentrasi dalam uji memberikan pengaruh yang sama kuat terhadap kematian larva dari lokasi penelitian. Respon larva terhadap perlakuan dapat terjadi karena larva uji berasal dari varian yang homogen dan bahan uji yang dimasukkan dalam wadah uji dapat menyebar dengan sempurna.

Nilai $LC_{50,90}$ menjelaskan, bahwa dengan peningkatan konsentrasi bahan uji, akan memberikan pengaruh yang bermakna terhadap kematian larva.

Mortalitas larva uji telah mati sebanyak 50% pada konsentrasi antara 65,6 ppm dan dengan meningkatkan konsentrasi ± 2 kali dari konsentrasi LC_{50} , larutan minyak atsiri jahe mampu mematikan larva sampai 90%. Hal ini dapat menggambarkan bahwa minyak atsiri jahe (*Zingiber officinale roxb*) memiliki toksisitas yang kuat terhadap larva dan terbukti dapat sebagai larvasida terhadap *Ae. aegypti*.

Namun demikian, minyak atsiri jahe (*Zingiber officinale roxb*) masih perlu dikaji lebih lanjut untuk dapat diaplikasikan di lapangan sebagai pengganti insektisida. Hal yang sangat penting untuk dipertimbangkan adalah dari segi ekonomi dan ketersediaan bahan baku, sebab jika dikalkulasikan, akan dibutuhkan biaya yang sangat besar untuk dapat mengaplikasikan minyak atsiri jahe sebagai larvasida di lapangan. Dengan demikian, minyak atsiri jahe belum dapat direkomendasikan sebagai pengganti insektisida kimia sebagai larvasida di lapangan tetapi penting diketahui bahwa terdapat bahan alami yang mampu sebagai larvasida di sekitar kita.

Penelitian lain melaporkan nilai LC_{50} dan LC_{90} yang mematikan larva adalah 47,54 ppm dan 86,54 ppm untuk *Mentha piperita*; 40,5 ppm dan 85,53 ppm untuk *Zingiber officinale*; 115,6 ppm dan 193,3 ppm untuk *Curcuma longa* dan 148,5 ppm dan 325,7 ppm untuk *Ocimum basilicum* (26). Penelitian di Brazil melaporkan efektivitas minyak esensial daun kemangi (*Ocimum americanum*), daun selasih (*Ocimum gratissimum*), daun sereh (*Cymbopogon citratus*) dan daun bunga lippia (*Lippia sidoides*) masing-masing dengan nilai LC_{50} 67 ppm, 60 ppm, 63 ppm dan 69 ppm (38).

Laporan hasil penelitian di Indonesia menunjukkan hasil yang tidak jauh berbeda, seperti efektivitas rimpang kunyit putih (*Curcuma zedoaria*) efektif mematikan larva pada konsentrasi 0,25%, efektivitas ekstrak rimpang kunyit (*Curcuma domestica Val*) efektif mematikan pada konsentrasi 0,4%.

Selain pada larva nyamuk *Ae. aegypti*, minyak atsiri jahe juga dibuktikan efektif sebagai larvasida pada nyamuk *Culex quinquefasciatus* dengan nilai LC_{50} sebesar 50,78 ppm dan LC_{90} sebesar 94,01 ppm dalam pengamatan 24 jam. Selain sebagai larvasida, minyak atsiri jahe pada konsentrasi 1.0, 2.0, 3.0, dan 4.0 mg/cm² berfungsi *repellent* terhadap vektor filaria *Culex quinquefasciatus* (39).

Penggunaan pestisida kimia dalam pengendalian vektor belakangan ini telah menimbulkan masalah ketidakstabilan lingkungan, resistensi vektor dan mematikan serangga yang bukan target. Racun pestisida yang sulit terdegradasi secara alami dan meninggalkan residu pada tanah, sumber air dan

tanaman pangan. Dengan timbulnya masalah akibat penggunaan pestisida kimia yang terus menerus, para peneliti kemudian mencari dan mengembangkan metode alternatif yang ramah lingkungan dalam mengendalikan vektor. Produk alami yang mengandung minyak atsiri merupakan salah satu alternatif yang sangat baik sebagai pengganti pestisida kimia. Minyak esensial tanaman memiliki kandungan zat kimia berpotensi sebagai larvasida, mampu mematikan nyamuk dewasa serta berfungsi sebagai repellent terhadap vektor tular penyakit (26,40).

Salah satu tumbuhan yang banyak dimanfaatkan dalam kegiatan medis adalah tanaman keluarga *Zingiberaceae*. Tanaman jahe (*Zingiber officinale* roxb) adalah salah satu yang paling banyak dimanfaatkan sebagai alternatif dalam kegiatan kesehatan. Selain dijadikan bumbu masakan, dikenal memiliki berbagai khasiat pengobatan secara tradisional untuk menyembuhkan berbagai penyakit (41).

Komponen umum pada tanaman jahe adalah minyak atsiri dan *oleoresin*. Aroma yang khas pada jahe bersumber dari kandungan kimia berupa *gingerol* dan *shogaol* dan senyawa *oleoresin* memberikan rasa pahit. Senyawa kimia yang lain terdapat pada rimpang jahe adalah *1,8-cineol*, *10-dehydrogingerdion*, *6-gingerdion*, *arginin*, *α-linolenic acid*, *aspartic*, *B-sitosterol*, *caprylic acid*, *capaicin*, *chlorogenic acid*, *fanesal*, *farnesen* dan *farnesol* (42).

Ekstrak minyak atsiri jahe (*Zingiber officinale* roxb) terbukti efektif sebagai larvasida terhadap nyamuk *Ae. aegypti* karena sangat beracun bagi larva nyamuk dan mampu menghambat perkembangan larva serta memiliki kandungan senyawa bioaktif yang tinggi (26). Penelitian ini mengungkapkan bahwa minyak atsiri jahe (*Zingiber officinale*) dalam pengamatan 24 jam mampu mematikan larva nyamuk *Ae. aegypti* instar III dari Humbang Hasundutan, Medan dan Deli Serdang, masing-masing pada konsentrasi LC₅₀ 49,1 ppm; 59,6 ppm dan 66,8 ppm dan LC₉₀ 110,6 ppm; 121,4 ppm dan 135,7 ppm.

Jika dibandingkan dengan hasil penelitian lain, larutan minyak atsiri jahe (*Zingiber officinale* roxb) dalam penelitian ini lebih efektif mematikan larva nyamuk *Ae. aegypti* jika dibandingkan dengan minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum basilicum*) LC₅₀ 75,35 ppm; jeringau/dlingo (*Accorus calamus*) LC₅₀ 99,41 ppm, daun mint (*Mentha arvensis*) LC₅₀ 114,33 ppm, daun bunga sausarea (*Saussurea lappa*) LC₅₀ 128,89 ppm dan daun sereh (*Cymbopogon citratus*) LC₅₀ 136,28 ppm (43).

Toksitas minyak atsiri berbagai jenis tanaman yang pernah diteliti bergantung pada konsentrasi. Selain itu, efektivitas minyak atsiri dipengaruhi oleh

sumber tanaman, konsentrasi metabolit sekunder produk, spesies larva uji, dan bagian tanaman yang diekstraksi (26).

Senyawa rimpang jahe (*Zingiber officinale*) yang berperan sebagai larvasidal terhadap larva nyamuk *Ae. aegypti* adalah (*4-gingerol*, (*6-dehydrogingerdione* dan (*6-dihydrogingerdione*) (41). Monoterpen dan terpena akan memengaruhi proses metabolisme sekunder larva dan juga dapat merusak telur *Ae. Aegypti* serta susunan syaraf larva akan terganggu, daya makan larva terhambat yang berakibat pertumbuhan larva akan terganggu. Membran sel pada larva akan rusak dengan timbulnya lisis dan permeabilitas membran plasma akan terganggu (44,45).

Kerusakan membran sel larva akan menyebabkan membran sitoplasma bocor. Membran sitoplasma yang rusak akan memudahkan zat racun pada jahe memasuki tubuh larva yang mengakibatkan gangguan sistem fisiologis pada larva sehingga sistem respirasi dan kerja hormonal larva akan terganggu, serta sistem pencernaan akan mengalami kerusakan. Disamping senyawa *gingerol* pada jahe, senyawa kaemferol pada jahe dapat memasuki sistem pernafasan larva yang mengakibatkan kerusakan kerja mitokondria (45). Sebagai akibat dari kerusakan mitokondria, maka proses metabolisme energi larva akan terganggu sehingga proses pengangkutan elektron yang membentuk *adenosine triphosphate* akan menurun dan menyebabkan tubuh larva lemah. Fungsi *Zingiberen* sebagai reseptor mengakibatkan larva tidak peka terhadap keberadaan makanan di sekitarnya. Hal ini disebabkan aktifnya sinyal antimakanan atau rusaknya organ olfaktori larva yang disebabkan oleh *Zingiberen*. Kerusakan organ olfaktori dan saluran pencernaan akan mengakibatkan keinginan larva untuk makan terganggu dan hal ini akan mengakibatkan penurunan aktivitas larva dan secara perlahan menyebabkan kematian (45).

Minyak atsiri tanaman secara selektif dapat diaplikasikan pada tempat penampungan air. Senyawa toksik minyak atsiri akan mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan larva nyamuk *Ae. aegypti*. Minyak atsiri tanaman dapat menjadi alternatif sebagai pengganti insektisida kimia dalam mengendalikan larva nyamuk *Ae. aegypti* (26,45).

SIMPULAN

Mortalitas larva pada lokasi penelitian (Buntu Bedimbar, Telaga Sari) Sumatra Utara dinyatakan telah resisten terhadap temephos konsentrasi 0,02 ppm

dengan persentasi kematian larva < 80%. Nilai rasio resistensi larva berdasarkan perlakuan *temephos* konsentrasi 1 ppm adalah $1,9 < 5$ dan disimpulkan kriteria resistensi larva adalah resistensi rendah. Larutan cair *Bti type H-14* bersifat toksik pada larva lapangan dengan nilai $LC_{50,90}$ 0,014 mL/L dan 0,024 mL/L dan direkomendasikan sebagai pengganti insektisida kimia dalam pengendalian larva *Ae. aegypti*. Larutan minyak atsiri jahe (*Zingiber officinale roxb*) bersifat toksik pada larva lapangan $LC_{50,90}$ 65.6 ppm dan 129.0, tetapi belum dapat direkomendasikan sebagai pengganti insektisida kimia sebab harus dikaji lebih jauh dari segi ekonomi dan keterdiaan bahan baku.

Abstrak

Tujuan: Kajian ini bertujuan untuk membuktikan status dan rasio resistensi (RR) larva *Ae. aegypti* terhadap temephos dan juga menguji toksisitas bakteri Bti H-14 serta minyak atsiri jahe (*Zingiber officinale roxb*) terhadap larva *Ae. aegypti* dari Deli Serdang, Sumatra Utara. **Metode:** Penelitian eksperimental murni dengan rancangan *True experimental laboratory studies with randomized post-test only control group design* dilakukan dengan menggunakan larva instar III *Ae. aegypti* sebagai subyek penelitian. Mortalitas larva dicatat setelah pajanan dengan dosis diagnostik temefos (0.02ppm) selama 24 jam untuk menetapkan status resistensi. Analisis probit digunakan untuk menentukan *median lethal time* (LT50), dan rasio resistensi larva dari lapangan dengan larva strain rentan. Konsentrasi uji toksisitas Bti adalah 0,01, 0,013, 0,017, 0,02, 0,03 and 0,04 mL/L dan konsentrasi uji toxisitas minyak atsiri jahe 66,6, 99,9, 133,2, 166,5, 199,8 and 266,4 ppm. **Hasil:** larva *Ae. aegypti* terbukti resisten terhadap to temefos dengan RR $1,9 < 5$. Nilai LC50 dan LC90 Bti berturut-turut 0,014; 0,024 mL/L. Nilai LC50 dan LC90 minyak atsiri jahe berturut-turut 65,6ppm dan 129,1 ppm. **Simpulan:** Larvae *Ae. aegypti* dari Deli Serdang Sumatra Utara terbukti resisten terhadap temephos dengan kriteria resistensi rendah. Bakteri Bti dan minyak atsiri jahe toxik terhadap larva *Ae. aegypti*.

Kata kunci: Bti; DHF; essential oils of ginger; temephos

PUSTAKA

1. Kementerian Kesehatan. Modul Pengendalian Demam Berdarah Dengue. Jakarta. 2011.
2. Lemon SM, Sparling PF, Hamburg MA, Relman DA, Choffnes ER, Mack A. Vector-borne diseases: understanding the environmental, human health, and ecological connections. Workshop summary. In Vector-borne diseases: understanding the environmental, human health, and ecological connections. Workshop summary. 2008. National Academies Press.
3. Kementerian Kesehatan. Profil Kesehatan Indonesia Tahun 2014. Jakarta. 2015.
4. Soedarto. Demam Berdarah Dengue: Dengue Haemorrhagic Fever. CV Sagung Seto. 2012.
5. Nugroho AD. Kematian larva *Ae. aegypti* setelah pemberian abate dibandingkan dengan pemberian serbuk serai. Jurnal Kesehatan Masyarakat. 2011;7(1):91-6.
6. Fuadzy H, Hendri J. Indeks entomologi dan kerentanan larva *Ae. aegypti* terhadap temefos di Kelurahan Karsamenak Kecamatan Kawalu Kota Tasikmalaya. Vektora: Jurnal Vektor dan Reservoir Penyakit. 2015 Oct 10;7(2):57-64.
7. Chen CD, Nazni WA, Lee HL, Norma-Rashid Y, Lardizabal ML, Sofian-Azirun M. Temephos resistance in field aedes (*Stegomyia*) albopictus (Skuse) from Selangor, Malaysia. Tropical biomedicine. 2013;30(2):220-30.
8. Lima EP, Paiva MH, de Araújo AP, da Silva ÉV, da Silva UM, de Oliveira LN, Santana AE, Barbosa CN, de Paiva Neto CC, Goulart MO, Wilding CS. Insecticide resistance in *Ae. aegypti* populations from Ceará, Brazil. Parasites & Vectors. 2011 Dec;4(1):5.
9. Grisales N, Poupardin R, Gomez S, Fonseca-Gonzalez I, Ranson H, Lenhart A. Temephos resistance in *Ae. aegypti* in Colombia compromises dengue vector control. PLoS neglected tropical diseases. 2013 Sep 19;7(9):e2438.
10. Istiana FH. Isnaini. Status kerentanan larva *Ae. aegypti* terhadap temefos di Banjarmasin Barat. Jurnal Buski. 2012 Dec;4(2):53-8.
11. Mulyatno KC, Yamanaka A, Konishi E. Resistance of *Ae. aegypti* (L.) larvae to temephos in Surabaya, Indonesia. Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health. 2012 Jan 1;43(1):29.
12. Balai Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Laporan Penelitian: Pemetaan Status Kerentanan *Ae. aegypti* Terhadap Insektisida di Indonesia 2015.
13. Susanti TD, Kesetyaningsih TW. Perbandingan Efektivitas *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) terhadap Larva *Ae. aegypti* Laboratorium dan Daerah Endemik Demam Berdarah di Yogyakarta. Mutiara Medika: Jurnal Kedokteran dan Kesehatan. 2016 Jun 2;7(1 (s)):45-51.
14. Palma L, Muñoz D, Berry C, Murillo J, Caballero P. *Bacillus thuringiensis* toxins: an overview of their biocidal activity. Toxins. 2014 Dec 11;6(12):3296-325.
15. Glare TR, O'Callaghan M. Environmental and health impacts of *Bacillus thuringiensis israelensis*. Report for the Ministry of Health. 1998 Jul;58.
16. Ritchie SA, Rapley LP, Benjamin S. *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (Bti) provides residual

- control of *Ae. aegypti* in small containers. The American journal of tropical medicine and hygiene. 2010 Jun 1;82(6):1053-9.
17. Ravindran PN, Babu KN, editors. *Ginger: the genus Zingiber*. CRC press; 2016 Apr 19.
 18. Kardinan A. *Tanaman pengusir dan pembasmi nyamuk*. Agromedia Pustaka. Jakarta. 2003.
 19. Sarwar M, Salman M. Insecticides resistance in insect pests or vectors and development of novel strategies to combat its evolution. *International Journal of Bioinformatics and Biomedical Engineering*. 2015;1(3):344-51.
 20. World Health Organization. *Global plan for insecticide resistance management in malaria vectors (GPIRM)*. Geneva: WHO, 2012.
 21. World Health Organization. *Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides*. WHO (CHS/WHOPES/GCDPP/2005.13). Geneva: WHO, 2005.
 22. World Health Organization. *Monitoring and managing insecticide resistance in Aedes mosquito populations Interim guidance for entomologists*. Geneva: World Health Organization. 2016.
 23. World Health Organization. *Report of the WHO Informal Consultation Tests procedures for insecticide resistance monitoring in malaria vectors, bio-efficacy and persistence of insecticides on treated surfaces*. Geneva: World Health Organization: Parasitic Diseases and Vector Control (PVC)/Communicable Disease Control, Prevention and Eradication (CPE). 1998;43.
 24. World Health Organization. *Report of the twelfth WHOPES working group meeting, WHO/HQ, Geneva, 8-11 December 2008*. In *Report of the twelfth WHOPES working group meeting, WHO/HQ, Geneva, 8-11 December 2008* 2009.
 25. Kalaivani K, Senthil-Nathan S, Murugesan AG. Biological activity of selected Lamiaceae and Zingiberaceae plant essential oils against the dengue vector *Ae. aegypti* L. (Diptera: Culicidae). *Parasitology research*. 2012 Mar 1;110(3):1261-8.
 26. Santi HL, Purnama SG. Uji Patogenitas *Bacillus Thuringiensis* Var. *Israelensis* Terhadap Larva Nyamuk *Aedes* SP. Sebagai Biokontrol Penyebab Penyakit Demam Berdarah Dengue Di Denpasar Tahun 2014. *Archive of Community Health*. 2016;3(1):14-23.
 27. Fuadzy H, Wahono T, Widawati M. Susceptibility of *Ae. aegypti* Larvae against Temephos in Dengue Hemorrhagic Fever Endemic Area Tasikmalaya City. *ASPIRATOR-Journal of Vector-borne Disease Studies*. 2017 Jun 15;9(1 Juni):29-34.
 28. Andrade CF, Modolo M. Susceptibility of *Ae. aegypti* larvae to temephos and *Bacillus thuringiensis* var *israelensis* in integrated control. *Revista de Saúde Pública*. 1991 Jun;25(3):184-7.
 29. Araújo AP, Diniz DF, Helvecio E, De Barros RA, De Oliveira CM, Ayres CF, de Melo-Santos MA, Regis LN, Silva-Filha MH. The susceptibility of *Ae. aegypti* populations displaying temephos resistance to *Bacillus thuringiensis israelensis*: a basis for management. *Parasites & vectors*. 2013 Dec;6(1):297.
 30. Karunamoorthi K, Sabesan S. Insecticide resistance in insect vectors of disease with special reference to mosquitoes: a potential threat to global public health. *Health Scope*. 2013;2(1):4-18.
 31. Perwitasari D, Musadad DA, Manalu HS, Munif A. Pengaruh Beberapa Dosis *Bacillus Thuringiensis* Var *Israelensis* Serotype H14 Terhadap Larva *Ae. aegypti* Di Kalimantan Barat. *Jurnal Ekologi Kesehatan*. 2015 Jan 9;14(3):229-37.
 32. Lee WJ, Lee DK. Laboratory assessment of a formulated *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* against five medically important species of mosquito larvae in Republic of Korea. *Journal of Asia-Pacific Entomology*. 2004 Feb 1;7(1):133-6.
 33. Bravo A, Gill SS, Soberon M. Mode of action of *Bacillus thuringiensis* Cry and Cyt toxins and their potential for insect control. *Toxicon*. 2007 Mar 15;49(4):423-35.
 34. Lee YW, Zairi J. Field evaluation of *Bacillus thuringiensis* H-14 against *Aedes* mosquitoes. *Trop Biomed*. 2006 Jun 1;23(1):37-44.
 35. Aly C. Feeding behavior of *Aedes vexans* larvae (Diptera: Culicidae) and its influence on the effectiveness of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*. *Bull. Soc. Vector Ecol*. 1983;8(2):94-100.
 36. Laurence D, Christophe L, Roger F. in *Pesticides in the Modern World - Pests Control and Pesticides Exposure and Toxicity Assessment*. *International Technology*. 2011.
 37. Cavalcanti ES, Morais SM, Lima MA, Santana EW. Larvicidal activity of essential oils from Brazilian plants against *Ae. aegypti* L. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 2004 Aug;99(5):541-4.
 38. Pushpanathan T, Jebanesan A, Govindarajan M. The essential oil of *Zingiber officinalis* Linn (Zingiberaceae) as a mosquito larvicidal and repellent agent against the filarial vector *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). *Parasitology research*. 2008 May 1;102(6):1289-91.
 39. Koul O, Walia S, Dhaliwal GS. Essential oils as green pesticides: potential and constraints. *Biopestic Int*. 2008;4(1):63-84.
 40. Kumar G, Karthik L, Rao KB. A review on pharmacological and phytochemical properties of *Zingiber officinale* Roscoe (Zingiberaceae). *Journal of Pharmacy Research*. 2011 Sep;4(9):2963-6.
 41. Widiastuti I. Sukses Agribisnis Minyak Atsiri Menguak Peluang Usaha Aneka Olahan Minyak Atsiri.
 42. Furtado RF, de Lima MG, Andrade Neto M, Bezerra JN, Silva MG. Larvicidal activity of essential oils against *Ae. aegypti* L. (Diptera: Culicidae). *Neotropical Entomology*. 2005 Oct;34(5):843-7.
 43. Sulistiyani A. Effectiveness of Essential Oil as Larvacide on *Ae. aegypti*. *Jurnal Majority*. 2015 Jan 20;4(3).
 44. Asfi SH. Uji Bioaktivitas Filtrat Rimpang Jahe Merah (*Zingiber officinale*) terhadap Tingkat Mortalitas dan Penghambatan Aktivitas Makan Larva *Plutella xylostella* secara In-Vitro. *LenteraBio*. 2015;4(1). *American journal of tropical medicine and hygiene*. 2010 Jun 1;82(6):1053-9.
 45. Suadnyani, A. A. I. & Sudarmaja, I. M. Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Etanol Rimpang Jahe Merah (*Zingiber officinale* Rosc) terhadap Kematian Larva Nyamuk *Ae. aegypti*. *E-Jurnal Medika* 5. 2016:1-5.

