

UJI AKTIVITAS EKSTRAK ETANOL 70% DAUN KOPI ROBUSTA (*Coffea canephora* Pierre ex Froehn) TERHADAP LARVA NYAMUK *Aedes aegypti* INSTAR III

ACTIVITY TEST OF 70% ETANOL EXTRACT OF KOPI ROBUSTA LEAF (*Coffea canephora* Pierre ex Froehn) AGAINST *Aedes aegypti* MOSQUITO LARVA INSTAR III

Yobi Kurniawan¹, Unsyura Dhipa Budaya^{1*}

¹Fakultas Farmasi, Universitas 17 Agustus 1945 Jakarta, Jakarta, Indonesia, 14350

*Email: dhipabudaya@yahoo.com

ABSTRAK

Nyamuk *Aedes Aegypti* merupakan salah satu vector yang dapat menyebabkan penyakit Demam Berdarah Dengue (DBD). Penyakit DBD merupakan salah satu masalah kesehatan masyarakat di negara-negara yang mempunyai iklim tropis, termasuk Indonesia. Salah satu cara untuk menekan populasi *Aedes aegypti* yaitu dengan memutus siklus hidupnya pada stadium larva. Salah satu tumbuhan yang memiliki potensi sebagai larvasida alami ialah daun kopi robusta (*Coffea canephora*) yang mengandung berbagai senyawa aktif diantaranya ialah alkaloid, flavonoid, dan saponin. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui jumlah kematian larva nyamuk *Aedes aegypti* dengan pemberian ekstrak etanol 70% daun kopi robusta sebagai larvasida alami. Jenis metode penelitian yang digunakan adalah eksperimental, dalam penelitian ini digunakan 25 ekor larva *Aedes aegypti* pada setiap kelompok kontrol negatif, kontrol positif, kelompok ekstrak etanol 70% daun kopi robusta konsentrasi 1%, 1,8%, 2,9%, dan 5% dengan 4 kali pengulangan. Pengamatan dilakukan dengan dengan cara menghitung jumlah larva *Aedes aegypti* yang mati tiap 1 jam selama 24 jam. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol 70% daun kopi robusta yang digunakan maka semakin banyak jumlah larva yang mati. LC₅₀ dari ekstrak etanol 70% daun kopi robusta berdasarkan program spss v22 sebesar 2,77%. Hal ini menunjukkan bahwa tumbuhan daun kopi robusta memiliki aktivitas sebagai larvasida alami.

Kata kunci: *Coffea canephora*; Daun Kopi robusta; Larvasida

ABSTRACT

Aedes Aegypti mosquito is one vector that can cause Dengue Hemorrhagic Fever (DHF). DHF is a public health problem in countries that have a tropical climate, including Indonesia. One way to suppress the *Aedes aegypti* population is by breaking the life cycle at the larval stage. One of the plants that has the potential as a natural larvicide is Robusta coffee leaves (*Coffea canephora*) which contain various active compounds including alkaloids, flavonoids, and saponins. The purpose of this study was to determine the number of mortality of *Aedes aegypti* mosquito larvae by giving 70% ethanol extract of robusta coffee leaves as natural larvicides. The type of research method used was experimental, in this study used 25 *Aedes aegypti* larvae in each negative control group, positive control, ethanol extract group 70% robusta coffee leaf concentration 1%, 1.8%, 2.9%, and 5 % with 4 repetitions. Observations were made by calculating the number of *Aedes aegypti* larvae that died every 1 hour for 24 hours. The results showed that the higher the concentration of ethanol extract 70% of robusta coffee leaves used, the more number of dead larvae. LC₅₀ from ethanol extract 70% robusta coffee leaf based on spss v22 program was 2.77%. This shows that Robusta coffee leaf plants have activity as natural larvicides.

Keywords: *Coffea canephora*; Robusta Coffee Leaf; Larvicide

PENDAHULUAN

Nyamuk *Aedes aegypti* merupakan salah satu vector yang dapat menyebabkan penyakit Demam Berdarah Dengue (DBD). Penyakit DBD merupakan salah satu masalah kesehatan masyarakat di negara-negara yang mempunyai iklim tropis, termasuk Indonesia. Menurut Mc Michael (2008), perubahan iklim menyebabkan perubahan curah hujan, suhu, kelembaban, arah udara sehingga berefek terhadap ekosistem daratan dan lautan serta berpengaruh terhadap kesehatan terutama terhadap perkembangbiakan vektor penyakit seperti nyamuk *Aedes*, malaria dan lainnya ^[1].

Tanaman kopi merupakan salah satu tanaman yang mengandung antioksidan tinggi. Biji kopi mengandung senyawa polifenol, diantaranya adalah asam kafeat, asam klorogenat, asam feurat, asam sinapat, dan asam koumarat. Kandungan kimia terbesar biji kopi sebagai antioksidan adalah asam klorogenat yang dipercaya dapat mengobati epilepsi, hiperaktivitas dan masalah tidur. Di Indonesia, terdapat dua jenis kopi yang dikenal masyarakat, yaitu kopi Arabika dan Robusta. Kedua jenis kopi tersebut mengandung senyawa aktif tinggi seperti asam quinolinat, asam pirogalat, asam tanat, trigonelin, asam nikotinat, dan terutama kafein ^[2].

Selama ini pemanfaatan tanaman kopi secara komersial hanya terfokus pada pengolahan biji kopi sebagai minuman seduh maupun bahan tambahan makanan. Daun kopi merupakan salah satu bagian dari tanaman kopi yang dianggap limbah dan belum banyak dimanfaatkan, di daerah Sumatera daun kopi dimanfaatkan sebagai minuman seduh yang disebut *Aia Kawa* dengan "Robusta", karena dipercaya mengandung alkaloida, kafein, saponin, flavonoid, dan polifenol yang dapat mencegah berbagai penyakit karsinogenik ^[3].

Dari data penelitian-penelitian yang telah dilakukan, daun kopi robusta selain bermanfaat sebagai obat, daun kopi robusta juga mengandung alkaloida, kafein, polipenol, flavonoid dan Saponin. Namun belum ada penelitian mengenai pemanfaatan daun kopi Robusta sebagai larvasida alami. Berdasarkan senyawa yang terkandung didalam daun kopi robusta, diduga daun kopi Robusta memiliki potensi terhadap larva nyamuk. Oleh karena itu peneliti tertarik untuk menguji aktivitas ekstrak etanol daun kopi robusta terhadap larva *Aedes aegypti* secara ilmiah.

BAHAN DAN METODE

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu: timbangan, mikroskop, alat gelas (gelas obyek, blender, labu ukur, gelas ukur, beaker glass, kaca arloji) (pyrex), nampan plastik, wadah plastik (sebagai kontainer), pipet, kain, batang pengaduk, peralatan maserasi, kertas label.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: daun kopi Robusta (*Coffea canephora*) yang diperoleh dari BALITRO (Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat)

Bogor, Telur nyamuk *Aedes aegypti* (diperoleh dari Laboratorium Entomologi Fakultas Kedokteran Hewan IPB), Air PAM, makanan ikan, temephos, etanol 70%, aquadest, feri klorida, alkohol, asam klorida, amil alkohol, pereaksi dragendorf, bouchardad, mayer, kloroform.

Prosedur Kerja

Pembuatan ekstrak etanol 70% daun kopi Robusta (*Coffea canephora*)

Kopi robusta yang masih segar dikumpulkan, dipilih atau disortir, lalu dicuci dengan air mengalir hingga bersih untuk menghilangkan tanah atau pengotor lain yang melekat pada bahan simplisia. Proses selanjutnya pengeringan dilakukan dengan cara diangin-anginkan kemudian diserbuk dengan menggunakan blender dan diayak dengan ayakan^[1].

Pembuatan ekstrak daun kopi Robusta (*Coffea robusta*) dibuat dengan cara daun kopi ditimbang sebanyak 1500 gram dan kemudian dimasukkan kedalam bejana kaca tertutup rapat. Kemudian direndam dengan pelarut etanol 70% sampai serbuk terendam sempurna. Simplisia dimaserasi sebanyak 3 kali selama 3 hari hingga maserat yang diperoleh jernih. Setelah dimaserasi, kemudian disaring hingga didapatkan maserat. Maserat yang didapat kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak agak kental yang kemudian diuapkan hingga kental menggunakan *water bath*.

Perlakuan terhadap nyamuk *Aedes aegypti*

Telur nyamuk *Aedes aegypti* diperoleh dari Laboratorium Entomologi Fakultas Kedokteran Hewan IPB. Telur ditetaskan dalam nampan yang diisi air PAM, telur akan menetas dalam waktu ± 3 hari. Setelah telur menetas, larva dibiarkan hingga mencapai larva instar III dengan pemberian makan berupa makanan ikan (WHO, 2005). Waktu yang dibutuhkan larva nyamuk *Aedes aegypti* untuk mencapai larva instar III adalah 3-4 hari.

Uji pendahuluan aktivitas daun kopi Robusta (*Coffea canephora*)

Pada Uji pendahuluan dilakukan Uji kontrol negatif dilakukan untuk membuktikan bahwa pelarut tidak menimbulkan kematian pada hewan uji. Pelarut yang tidak menimbulkan kematian pada hewan uji dapat digunakan pada uji larvasida. Pada uji pendahuluan media, sebanyak 25 ekor larva instar III *Aedes aegypti* dimasukan ke dalam gelas kontainer berisi 100 ml aquadest tanpa replikasi^[1].

Uji kontrol positif dilakukan untuk membuktikan kemampuan larvasida komersial (temephos) untuk membunuh larva *Aedes aegypti* instar III. Pada uji tersebut sebanyak 25 larva *Aedes aegypti* Instar III dimasukan ke dalam kontainer berisi larutan larvasida komersial 10mg/100mL, pengamatan dilakukan setiap 1 jam selama 24 jam dan tanpa replikasi.

Uji pendahuluan ekstrak daun kopi Robusta (*Coffea canephora*) bertujuan untuk mendapatkan konsentrasi yang kira-kira dapat mematikan $\pm 10\%$ sampai $\pm 90\%$ hewan coba. Pada uji pendahuluan ekstrak daun kopi Robusta (*Coffea canephora*) sebanyak 25 larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III dimasukkan kedalam kontainer yang berisi ekstrak etanol 70% daun kopi Robusta (*Coffea canephora*) dengan konsentrasi 5%, 10%, 15% dan 20% sebanyak 100ml, pengamatan dilakukan setiap 1 jam selama 24 jam dan tanpa replikasi (Priyanto, 2009).

Uji aktivitas ekstrak daun kopi Robusta (*Coffea canephora*) sebagai larvasida

Konsentrasi yang digunakan dalam uji larvasida berbeda-beda untuk tiap sampel. Konsentrasi ekstrak yang digunakan pada tiap sampel di peroleh dari uji pendahuluan. Ekstrak etanol 70% daun kopi Robusta (*Coffea canephora*) dengan berbagai konsentrasi dibuat dengan cara memasukkan Ekstrak etanol 70% daun kopi Robusta (*Coffea canephora*) sesuai konsentrasi yang diinginkan pada labu ukur, *aquadest* ditambahkan dalam labu ukur 100ml hingga mencapai volume akhir 100ml kemudian masukan larutan tersebut kedalam kontainer. Selanjutnya masukan 25 larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III sebanyak 25 ekor ke dalam kontainer dengan menggunakan pipet ^[1].

Penelitian ini menggunakan 6 kelompok uji yang terdiri dari 4 kelompok uji dan 2 kelompok sebagai kontrol positif dan negatif. Larva nyamuk *Aedes aegypti* diamati selama 24 jam, pengamatan dilakukan setiap 1 jam selampengamatan dihitung jumlah larva yang mati. Larva dikategorikan mati apabila tidak bergerak ketika diberi perlakuan secara mekanik berupa sentuhan menggunakan pipet. Dalam penelitian ini larutan ekstrak etanol 70% Daun kopi Robusta (*Coffea canephora*) dalam setiap kontainer tidak diganti selama percobaan. Setiap konsentrasi dari kelompok percobaan direplikasi sebanyak 4 kali ^[1].

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 1. Hasil standarisasi ekstrak etanol daun kopi Robusta

No	Uji	Parameter	Hasil
1	Susut pengeringan	Non spesifik	8,6 %
2	Organoleptis		
	a. Bentuk		Ekstrak kental
	b. Warna	Spesifik	Coklat kehitaman
	c. Rasa		Pahit
	d. Bau		Khas

Hasil uji pendahuluan

Pada uji pendahuluan terdiri dari uji pelarut yaitu *aquadest* sebagai kontrol negatif, larvasida komersial sebagai kontrol positif dan uji pendahuluan ekstrak daun kopi robusta dengan konsentrasi 5%, 10%, 15% dan 20% .



Gambar 1. Grafik hasil uji pendahuluan

Pada hasil uji pendahuluan pelarut *aquadest* yang dilakukan terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III menunjukkan bahwa *aquadest* tidak menyebabkan kematian pada larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III sehingga dapat digunakan pada uji larvasida. Pada uji pendahuluan digunakan 4 kelompok uji dengan masing-masing kelompok berisi 25 larva uji.

Tabel 2. Hasil uji pendahuluan larvasida komersial

Konsentrasi ekstrak	Kematian	% Kematian
Kontrol -	0	0%
Kontrol +	25	100%
Kons. 5 %	23	92%
Kons. 10 %	25	100%
Kons. 15 %	25	100%
Kons. 20 %	25	100%

Kemudian dilakukan uji pendahuluan larvasida komersial atau uji kontrol positif pada konsentrasi 10 mg/100 mL didapatkan hasil membunuh 100% larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III. Dan untuk uji pendahuluan ekstrak etanol daun kopi robusta dengan konsentrasi pada 20% , 15% dan 10% dapat mematikan larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III sebanyak 100% sedangkan pada konsentrasi 5% hanya dapat mematikan larva nyamuk *Aedes aegypti* sebanyak 92%.

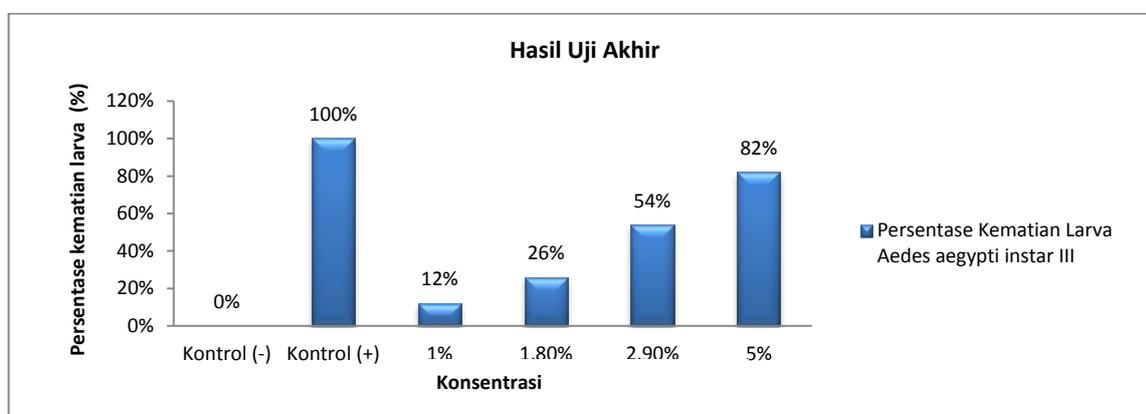
Dari hasil pengamatan untuk uji pendahuluan dapat disimpulkan bahwa LC_{50} dari ekstrak daun kopi robusta terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III ini berada pada kisaran konsentrasi dibawah 5% karna pada pengamatan untuk konsentrasi diatas 5% itu

sudah terbukti toksik dengan persentase membunuh 100% larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III.

Uji akhir larvasida

Tabel 3. Hasil uji akhir

Konsentrasi (%)	Pengulangan				Rata-rata Kematian	Persentase kematian larva
	1	2	3	4		
Kontrol (-)	0	0	0	0	0	0%
Kontrol (+)	25	25	25	25	25	100%
1%	3	5	2	2	3	12%
1,8 %	8	5	7	6	6.5	26%
2,9 %	16	11	14	13	13.5	54%
5%	20	22	19	21	20,5	82%



Gambar 2. Grafik hasil uji akhir

Dari hasil penelitian ini bisa dilihat pada tabel pengamatan dan gambar diatas menunjukkan adanya pengaruh atas pemberian ekstrak daun kopi robusta, ituterlihat dengan peningkatan jumlah angka kematian pada larva *Aedes aegypti* instar III dengan dilakukan peningkatan dosis ekstrak daun kopi robusta, dimana dengan hasil persentase kematian larva *Aedes aegypti* pada ekstrak daun kopi robusta dengan konsentrasi sebesar 1%, 1.8%, 2.9% dan 5%, dengan % kematian masing-masing mencapai sebesar 12%, 26%, 54% dan 82%.

Dalam penelitian ini data yang diperoleh selanjutnya dianalisa dengan menggunakan program SPSS, pada pengujian pertama dengan uji normalitas Npar Tests untuk mengetahui

kenormalan distribusi data kematian larva *Aedes aegypti* dengan syarat nilai P value $> 0,05$ maka H_0 diterima, sedangkan pada uji normalitas yang didapatkan Hasil = P value (0,200), jadi kesimpulannya karena nilai P value $>$ dari 0,05 maka data terdistribusi normal.

Kemudian dilanjutkan dengan uji Homogenitas One way untuk mengetahui Homogenitas data kematian larva *Aedes aegypti* instar III yaitu dengan syarat Jika nilai P value $> 0,05$ maka H_0 diterima, dan kemudian jika nilai P value $< 0,05$ maka H_1 diterima, yang mana H_0 sama dengan data memiliki varian yang sama sedangkan H_1 sama dengan data memiliki varian yang berbeda, dan hasil uji homogenitas yang di dapat dengan nilai P value (0,112) jadi dari hasil data yang di dapat bisa ditarik kesimpulan karena nilai P value $>$ dari 0,05 maka data memiliki varian yang sama atau homogen.

Dari hasil Uji Normalitas dan Uji Homogenitas yang telah memenuhi syarat sehingga tahap selanjutnya dapat dilakukan dengan uji parametric yaitu ONE WAY ANOVA. Dalam uji Anova yaitu dengan syarat P value $< 0,05$, dan hasil yang didapat yaitu P value 0,000 jadi bisa ditarik kesimpulan karena nilai P value $<$ dari 0,05 maka terdapat perbedaan nilai Mean yang signifikan tiap perlakuan.

Setelah itu dilakukan Uji Post Hoc test yaitu Untuk mengetahui seberapa besar perbedaan nilai Mean dari tiap – tiap perlakuan, dengan syarat Nilai Sig. $< 0,05$ artinya terdapat perbedaan yang bermakna, dan dari data yang di didapat dengan nilai Sig. yang diperoleh semua perlakuan $< 0,05$. Sehingga kesimpulan dari uji ini yaitu terdapat perbedaan yang bermakna tiap perlakuan.

Untuk menentukan LC_{50} dengan menggunakan analisa probit yang diolah dengan menggunakan program SPSS V22. untuk menentukan LC_{50} dalam uji toksisitas, diperlukan tiga rentang dosis dalam penelitian sehingga kisaran dosis yang akan mencapai LC_{50} dapat diperkirakan dengan tepat (Karapa,2017). Hasil pengujian dengan menggunakan program spss menunjukkan LC_{50} dari ekstrak etanol 70% daun kopi robusta terhadap kematian larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III adalah 2,77% dengan batas bawah 2,105% dan batas atas 3,438%.

Dalam penelitian ini Semakin rendah nilai LC_{50} yang didapat suatu zat maka zat tersebut mempunyai aktivitas yang lebih tinggi dalam membunuh hewan coba, karena zat tersebut perlu konsentrasi yang lebih rendah untuk mematikan hewan coba ^[4].

Pada uji kematian larva nyamuk *aedes aegypti* instar 3 ini sendiri kemungkinan disebabkan oleh kandungan senyawa kimia yang terdapat didalam daun kopi robusta yang berupa senyawa metabolit sekunder yang mana telah dibuktikan dengan dilakukan uji skrining senyawa fitokimia dan didapat senyawa yang positif terkandung dalam daun kopi robusta antara lain seperti alkaloid, saponin, terpenoid, flavonoid, dan fenolik.

Berdasarkan hasil dari penelitian yang telah dilakukan diketahui bahwa ekstrak dari daun kopi robusta efektif membunuh larva nyamuk *aedes aegypti* instar III, dan dengan penambahan konsentrasi ekstrak daun kopi robusta meningkatkan jumlah angka kematian

terhadap larva nyamuk *aedes aegypti* instar III, hal ini disebabkan karena semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang digunakan maka semakin tinggi pula kandungan dari senyawa aktif yang ada pada ekstrak daun kopi robusta.

Pada penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan Siti Arnis Nurhidayah Jamal, Andi Susilawati dan Azriful (2016) tentang Efektivitas Larvasida Ekstrak Kulit Pisang Raja Terhadap Larva *Aedes sp.* Instar III yang mengandung senyawa seperti saponin dan flavonoid, dan juga penelitian yang dilakukan Novi Erina (2014), uji aktivitas ekstrak etanol daun singkong sebagai larvasida *Aedes aegypti* yang juga mengandung senyawa saponin dan flavonoid, sama halnya dengan penelitian diatas yang mengandung senyawa aktif, seperti saponin dan flavonoid yang berperan sebagai senyawa pertahanan tumbuhan, ekstrak daun kopi robusta juga mempunyai kandungan yang sama antara lain seperti alkaloid, saponin, terpenoid, flavonoid, dan fenolik^[5].

Dan kemudian beginilah cara kerja senyawa kimia yg terkandung dalam daun kopi robusta antara lain seperti senyawa Saponin yaitu dia dapat mengikat sterol bebas dalam pencernaan makanan dimana sterol berperan sebagai prekursor hormon ecdison. Hormon ini berperan dalam merangsang pertumbuhan dan menyebabkan epidermis menyekresikan suatu kutikula baru yang menyebabkan dimulainya proses pengelupasan kulit, sehingga dengan menurunnya jumlah sterol bebas maka proses penggantian kulit pada serangga akan terganggu^[5].

Selain itu Saponin juga dapat masuk ke tubuh larva melalui mulut larva. Senyawa saponin ini juga mempunyai mekanisme kerja dapat menurunkan aktivitas enzim protease dan penyerapan makanan. Hal tersebut dapat menyebabkan energi untuk pertumbuhan larva menjadi berkurang sehingga pertumbuhan larva terhambat dan kemudian akhirnya larva mati^[5].

Selain itu senyawa yang berperan untuk membunuh larva nyamuk *aedes aegypti* instar III yaitu flavonoid, disini senyawa flavonoid merupakan senyawa pertahanan tumbuhan yang bersifat toksik, Flavonoid bekerja sebagai racun pernapasan untuk membunuh larva. Flavonoid masuk ke dalam tubuh larva melalui sistem pernapasan yang dapat menyebabkan kerusakan pada sistem pernapasan sehingga mengakibatkan larva tidak bisa bernapas dan akhirnya larva menjadi mati^[5]. Cara kerja dari senyawa-senyawa kimia tersebut adalah sebagai *stomach poisoning* atau racun perut sehingga dapat mengakibatkan gangguan dalam sistem pencernaan larva *Aedes aegypti*, sehingga larva gagal tumbuh dan akhirnya akan mati^[6].

Dalam penelitian uji ekstrak etanol 70% daun kopi robusta mempunyai kedua senyawa zat aktif yang dapat membunuh larva nyamuk *aedes aegypti* instar III, seperti yang dijelaskan di atas senyawa saponin dan flavonoid memiliki berbagai cara kerja dalam membunuh larva nyamuk *aedes aegypti* instar III, karena dari ke 2 senyawa inilah yang memungkinkan larva tidak mudah untuk menjadi resisten karena kemampuan larva untuk membentuk sistem pertahanan tubuh terhadap beberapa senyawa yang berbeda secara bersamaan akan lebih kecil dibandingkan dengan senyawa insektisida tunggal, kemudian selain itu ekstrak etanol

70% daun kopi robusta merupakan larvasida alami yang mudah terurai di lingkungan sehingga tidak meninggalkan residu. Berbeda dengan larvasida sintetis seperti temefos yang mana penggunaan larvasida sintetis yang berulang dapat meninggalkan residu yang dapat mencemari lingkungan, dan juga penggunaan larvasida sintetis temefos yang hanya memiliki satu cara dalam mematikan larva yaitu dengan menghambat kerja enzim asetil kolinesterase sehingga dikhawatirkan akan terjadi resistensi maka karena itulah dilakukannya penelitian ini ^[5].

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% daun kopi robusta memiliki aktivitas sebagai larvasida ini ditunjukkan dengan kematian larva sebesar 82% pada konsentrasi 5%, terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III. Berdasarkan hasil pengujian ekstrak etanol 70% daun kopi robusta (*Coffea robusta*) LC₅₀ yang dibutuhkan untuk membunuh larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III adalah 2,77% dengan batas bawah 2,105% dan batas atas 3,438%.

DAFTAR PUSTAKA

1. Karapa, N, H. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol 70% Daun Kedondong (*Spondias Dulcis*) Terhadap Larva Nyamuk *Aedes Aegypti* Instar III. Skripsi. Jakarta: Fakultas Farmasi Universitas 17 Agustus 1945; 2017.
2. Ciptaningsih, E. Uji Aktivitas Antioksidan dan Karakteristik Fitokimia pada Kopi Luwak Arabika dan Pengaruhnya terhadap Tekanan Darah Tikus Normal dan Tikus Hipertensi. Tesis. Depok: Fakultas Matematika dan Pengetahuan Alam Universitas Indonesia; 2012.
3. Corputty, L. D., Rochima, E. Pengaruh Fortifikasi Iodium Asal Rumput Laut (*Gracillaria sp.*) terhadap Karakteristik *Tortilla Chips*. Skripsi. Bandung: Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Padjajaran; 2015.
4. Ardianto T. Pengaruh Ekstrak Bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum L.*) terhadap Mortalitas Larva *Aedes aegypti L.* Skripsi. Surakarta: Universitas Sebelas Maret; 2008.
5. Ervina, N. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Singkong (*Manihot utilisima Phol.*) sebagai Larvasida *Aedes aegypti*. Pontianak: Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura; 2014.
6. Suyanto F. Efek Larvasida Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana L.*) Terhadap Larva *Aedes aegypti L.* Skripsi. Surakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret; 2009.