

**POTENSI EKSTRAK DAUN JERUK PURUT (*Citrus hystrix* D.C)
SEBAGAI INSECT GROWTH REGULATOR TERHADAP LARVA
NYAMUK *Aedes aegypti* L.**

**Jonsen Subagio¹, Anacy Simproza Melania Themone¹, Rivo Christian Kutanggas¹,
Sharon Tan², Hebert Adrianto^{1*}, Vajra Yeshie Kusala¹**

Fakultas Kedokteran, Universitas Ciputra Surabaya¹, Fakultas Teknologi Informasi, Universitas Ciputra
Surabaya²

*Corresponding Author: hebert.rubay@ciputra.ac.id

ABSTRAK

Larvasida bahan alam mulai dikembangkan untuk mengontrol populasi nyamuk. Eksplorasi daun *Citrus hystrix* masih terbatas pada larvasida kematian larva, insektisida, dan repellen, padahal sebenarnya IGR dengan konsentrasi rendah dalam menghambat perkembangan larva tanpa harus menyebabkan kematian larva. Konsentrasi rendah dapat mengurangi risiko pencemaran lingkungan. Tujuan menganalisis potensi daun *C. hystrix* sebagai bahan aktif IGR terhadap larva *Aedes aegypti*. Penelitian ini merupakan eksperimen murni dengan desain *post test only control group design*. Daun jeruk kering diproses hingga menjadi ekstrak. Ekstrak dibuat larutan dengan konsentrasi 50, 300, 550, 750, dan 1.000 ppm. Semua larutan dimasukkan 100 ml ke dalam gelas plastik dan diisi 25 individu larva *Ae. aegypti*. Setiap konsentrasi memiliki replikasi sebanyak lima kali. Jumlah ketahanan dan mortalitas larva *Ae. aegypti* serta perubahan larva menjadi pupa diamati selama 8 hari. Hasil yang diperoleh dianalisis dengan statistik deskriptif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun *C. hystrix* konsentrasi 50 ppm pada hari ke 8 menghasilkan rata-rata kehidupan larva *Ae. aegypti* sebanyak 16-40% dan belum berubah menjadi stadium pupa. Ekstrak daun *C. hystrix* konsentrasi 300 dan 550 ppm pada hari ke 8 menghasilkan rata-rata kehidupan larva *Ae. aegypti* sebanyak 0-32%. Sisa larva *Ae. aegypti* yang masih hidup belum berubah menjadi stadium pupa. Ekstrak daun *C. hystrix* konsentrasi 750-1.000 ppm pada hari ke 8 menghasilkan rata-rata kehidupan larva *Ae. aegypti* sebanyak 0-4%. Simpulan penelitian ini adalah ekstrak etanol 95% daun *C. hystrix* memiliki potensi sebagai bahan aktif IGR terhadap larva *Ae. aegypti* dimana tidak terbentuk pupa *Ae. aegypti* selama perlakuan hingga pada hari ke 8.

Kata kunci: Ekstrak, *Citrus hystrix*, *Aedes aegypti*, larva, pupa

ABSTRACT

Natural larvicides are starting to be developed to control mosquito populations. The erosion of Citrus hystrix leaves is still limited to larval death larvicides, insecticides and repellents, even though IGR requires low concentrations to inhibit larval development without causing larval death. Low concentrations can reduce the risk of environmental pollution. The aim is to analyze the potential of C. hystrix leaves as an active IGR ingredient against Aedes aegypti larvae. This study is a pure experiment with a post-test-only control group design. Dried leaves are processed to become an extract and made into a solution containing 50, 300, 550, 750, and 1,000 ppm concentrations. All solutions were put in 100 ml into a plastic cup and filled with 25 individual Ae. aegypti larvae. Each concentration was replicated five times. The number of survival and mortality of Ae. aegypti larvae and the change from larvae to pupae were observed for eight days. The results obtained were analyzed using descriptive statistics. The results showed that C. hystrix leaf extract with a concentration of 50 ppm on day 8 resulted in an average survival rate of Ae. aegypti larvae, as much as 16-40% have not yet changed to the pupal stage. C. hystrix leaf extract concentrations of 300 and 550 ppm on day 8 resulted in an average life of Ae. aegypti larvae as much as 0-32%. The remaining larvae of Ae. aegypti larvae are still alive and have not yet changed to the pupal stage. C. hystrix leaf extract at a concentration of 750-1,000 ppm on day 8 resulted in an average life of Ae. aegypti larvae as much as 0-4%. This research concludes that 95% ethanol extract of C. hystrix leaves has the potential as an active IGR ingredient against Ae. aegypti larvae where Ae. aegypti pupae are not formed during treatment until day 8.

Kata kunci: Extract, *Citrus hystrix*, *Aedes aegypti*, larvae, pupae

PENDAHULUAN

Nyamuk *Aedes aegypti* merupakan serangga penting di dalam kehidupan manusia. Nyamuk hidup berdampingan dengan manusia (Paris *et al.*, 2023). Populasi nyamuk melimpah di alam karena nyamuk betina menghasilkan 100-200 telur sekali bertelur (Masters *et al.*, 2020). Nyamuk *Ae. aegypti* memiliki peran sebagai vektor biologi dari virus dengue, virus chikungunya, virus *yellow fever*, virus zika, virus *west nile*, virus *Rift Valley fever* dan cacing limfatik filariasis (Onen *et al.*, 2023). Salah satu penyakit yang endemis di Indonesia dan terjadi sepanjang tahun adalah Demam Berdarah Dengue (DBD) (Kaligis *et al.*, 2023). Penyakit DBD muncul di Indonesia sejak tahun 1968 dan jumlah kasus selalu meningkat setiap tahun. Data Kementerian Kesehatan Republik Indonesia tahun 2021 melaporkan bahwa ada 143.266 kasus DBD di tahun 2022 dan jumlah kematian sebanyak 1.237 kasus. Angka ini meningkat dibandingkan tahun 2021, yaitu 73.518 kasus dan 705 kematian (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2021).

Obat-obat spesifik terhadap virus yang ditularkan melalui nyamuk *Ae. aegypti* masih belum tersedia secara koemrsil. Kondisi ini menyebabkan sebagian besar terapi dari penyakit masih bersifat perawatan pereda (*palliative care*) dan perawatan pendukung (*supportive care*) (Bernatchez *et al.*, 2020). Tatalaksana obat yang dapat diberikan sebatas parasetamol untuk mengontrol demam dan menghilangkan rasa sakit (Centers for Disease Control and Prevention, 2023). Strategi yang dilakukan oleh Pemerintah untuk mencegah dan mengendalikan penyakit yang ditularkan nyamuk adalah dengan pengendalian vektor populasi nyamuk *Ae. aegypti* (Bannister-Tyrrell *et al.*, 2023). Berbagai macam pendekatan yang telah diterapkan untuk mengendalikan populasi nyamuk, adalah pengendalian kimia (penyemprotan residu dalam ruangan, fumigasi massal, penggunaan insektisida rumah tangga), pengendalian hayati (penggunaan hewan predator nyamuk, pelepasan nyamuk yang dimodifikasi secara genetik), menghilangkan sarang nyamuk dan pendidikan masyarakat (Dwicahya *et al.*, 2023).

Populasi larva nyamuk *Ae. aegypti* dikendalikan dengan menggunakan larvasida organofosfat (temephos), larvasida *Insect Growth Regulator* (IGR) berbahan aktif *pyriproxyfen*, dan agen mikroba (Benelli, 2015). Larvasida IGR *pyriproxyfen* memiliki mekanisme kerja mengganggu hormon juvenil (JH) dan hormon pendeградasi hormon juvenil sehingga menghambat metamorfosis nyamuk *Ae. aegypti* stadium larva menjadi pupa dan dewasa sehingga nyamuk tidak mampu menularkan virus (Hustedt *et al.*, 2020). Harga larvasida IGR sangat mahal mencapai nominal juta rupiah. Di sisi lain *pyriproxyfen* memiliki efek samping negatif, yaitu dapat menyebabkan penurunan pada penambahan berat badan dan kerusakan testis pada tikus sehingga mengganggu spermatogenesis (Shahid *et al.*, 2019). Penelitian lain juga menyebutkan bahwa *pyriproxyfen* berdampak buruk pada banyak kejadian fisiologis terutama mengganggu perkembangan banyak spesies. Selain itu, mengganggu kemampuan organisme untuk berenang dan melakukan perilaku predator (Devillers, 2020). Penelitian dari Brazil melaporkan telah terjadi resistensi moderat populasi *Ae. aegypti* strain Araraquara terhadap *pyriproxyfen*. Hal ini membuktikan adanya penurunan efektivitas akibat penerapan larvasida selama bertahun-tahun pada *Ae. aegypti* (Moura *et al.*, 2023). Penelitian di pulau Martinique menunjukkan bahwa *Ae. aegypti* resisten terhadap *pyriproxyfen* karena terjadi resistensi silang dengan temephos (Maoz *et al.*, 2017).

Dari permasalahan di atas, usaha alternatif yang dikembangkan oleh ilmuwan adalah biolarvasida berbahan dasar alam, yaitu tanaman. Biolarvasida memiliki keunggulan dalam mengatasi masalah kerusakan lingkungan dan toksisitas pada manusia dan hewan lain karena bahan dasar biolarvasida tidak membahayakan lingkungan (*ecologically acceptable*), terdegradasi dalam waktu singkat (*biodegradable*), dan memiliki toksisitas rendah bagi

organisme diluar target (Morais *et al.*, 2020). Tanaman memiliki metabolit sekunder yang bersifat toksik terhadap serangga, seperti flavonoid, saponin, fenol, alkaloid, minyak atsiri, steroid, dan terpenoid (Silvério *et al.*, 2020). Mekanisme kerja tanaman terhadap larva nyamuk *Ae. aegypti* adalah sebagai racun saraf, racun perut, dan penghambat pertumbuhan pada larva (Morais *et al.*, 2020). Tanaman yang dimanfaatkan sebagai bahan aktif IGR masih sangat terbatas dieksplorasi. Hasil penelusuran literatur jurnal, masih sedikit tanaman yang dilaporkan sebagai larvasida IGR, yaitu *Clerodendrum inerme*, *Agerantum conyzoides*, dan *Pseudocalymma alliaceum* (Granados-Echegoyen *et al.*, 2014; Muema *et al.*, 2016; Yankanchi *et al.*, 2015).

Jeruk (*Citrus* spp.) dari famili Rutaceae merupakan tanaman yang berpotensi toksik terhadap nyamuk *Ae. aegypti*. Beberapa spesies *Citrus* yang telah dilaporkan memiliki kemampuan biolarvasida terhadap kematian larva, seperti *C. hystrix*, *C. amblycarpa*, *C. aurantifolia*, *C. maxima*, *Citrus sinensis*, *C. aurantium*, dan *C. paradisi* (Adrianto *et al.*, 2014; Jian *et al.*, 2022; Marin *et al.*, 2020). Daun jeruk purut atau *C. hystrix* populer dimanfaatkan sebagai bumbu masak sehingga toksisitas dan keamanannya dinilai lebih aman terhadap organisme non target seperti manusia dan hewan. Penggunaan daun tidak memiliki dampak terhadap kepunahan spesies (Adrianto *et al.*, 2014). Potensi daun *C. hystrix* sebagai bahan aktif IGR masih belum dilaporkan. Sampai hari ini, eksplorasi daun *C. hystrix* masih terbatas pada larvasida kematian larva, insektisida, dan repellen, padahal sebenarnya IGR cukup memerlukan konsentrasi rendah dalam menghambat perkembangan larva tanpa harus menyebabkan kematian larva. Tujuan penelitian ini untuk melaksanakan pembuktian secara ilmiah mengenai potensi daun *C. hystrix* sebagai bahan aktif IGR terhadap larva *Ae. aegypti*.

METODE

Penelitian ini merupakan eksperimen murni (*true experiments*) dengan desain *post test only control group design*. Penelitian dilaksanakan pada bulan Mei - Juni 2024. Penelitian ini telah diuji kelayakan etikanya di komisi etik penelitian kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Hang Tuah, Surabaya dengan nomor: E/024/UHT.KEPK.03/VI/2024.

Daun jeruk purut (*C. hystrix*) diperoleh dari Desa Pulosari, Kecamatan Bareng, Kabupaten Jombang, Provinsi Jawa Timur, Indonesia (lintang -7.684833 dan bujur 112.351167) dan telah diidentifikasi di Laboratorium Herbarium Bogoriense BRIN, Bogor – Cibinong dengan surat nomor: B-1592/II.6.2/IR.01.02/5/2024. Daun jeruk dikeringkan kemudian dibuat serbuk. Serbuk dimaserasi dengan etanol 95%. Hasil maserasi diuapkan menjadi ekstrak dengan menggunakan mesin *rotary evaporator*. Proses pembuatan ekstrak dilakukan di Laboratorium Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.

Larva *Ae. aegypti* instar 3 diperoleh dari Laboratorium Entomologi, Politeknik Kementerian Kesehatan Surabaya. Untuk pengujian larvasida menggunakan kelompok ekstrak *C. hystrix* dengan konsentrasi 50, 300, 550, 750, dan 1.000 ppm. Semua larutan dimasukkan 100 ml ke dalam gelas plastik. Setiap kelompok memiliki replikasi sebanyak lima kali berdasarkan rumus $6(t-1)(r-1) \geq 20$, didapatkan r (replikasi) $\geq 4,3$ dan dibulatkan menjadi lima untukantisipasi error. Setiap gelas perlakuan dimasukkan 25 individu larva *Ae. aegypti* instar 3. Jumlah ketahanan dan mortalitas larva *Ae. aegypti* serta perubahan larva menjadi pupa diamati selama 8 hari. Hasil yang diperoleh dianalisis dengan statistik deskriptif yang divisualisasikan dalam bentuk tabel untuk melihat perbedaan jumlah ketahanan dan mortalitas dari larva, perubahan larva menjadi pupa setiap kelompok perlakuan. Hasil data dianalisis dalam pembahasan dengan cara hasil data dibandingkan dengan hasil penelitian terdahulu melalui metode *review* jurnal.

HASIL

Hasil pengujian selama 8 hari didapatkan larva *Ae. aegypti* yang masih hidup dan belum ada pupa yang terbentuk hingga hari ke 8 perlakuan. Jumlah larva *Ae. aegypti* yang hidup untuk masing-masing konsentrasi ekstrak daun *C. hystrix* disajikan pada tabel 1 berikut.

Tabel 1. Hasil pengamatan kehidupan larva *Ae. aegypti* setelah perlakuan ekstrak

Konsentrasi	Replikasi	Persentase kehidupan larva di hari ke							
		1	2	3	4	5	6	7	8
50 ppm	I	100%	100%	92%	92%	88%	64%	40%	16%
	II	96%	96%	96%	96%	96%	96%	64%	40%
	III	100%	100%	96%	96%	96%	96%	48%	32%
	IV	96%	96%	96%	96%	96%	84%	44%	20%
	V	100%	100%	100%	96%	96%	80%	40%	24%
300 ppm	I	92%	76%	72%	72%	64%	64%	48%	32%
	II	40%	40%	32%	28%	28%	24%	12%	4%
	III	72%	68%	68%	64%	44%	28%	24%	12%
	IV	84%	80%	80%	80%	68%	36%	28%	16%
	V	80%	76%	60%	52%	40%	16%	12%	8%
550 ppm	I	80%	40%	20%	8%	8%	4%	0%	0%
	II	40%	20%	16%	16%	16%	12%	4%	4%
	III	64%	20%	20%	16%	16%	16%	8%	8%
	IV	28%	28%	16%	16%	12%	4%	4%	4%
	V	28%	4%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
750 ppm	I	60%	12%	8%	8%	8%	4%	0%	0%
	II	80%	40%	24%	20%	8%	4%	4%	4%
	III	16%	4%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
	IV	16%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
	V	20%	8%	4%	4%	4%	0%	0%	0%
1000 ppm	I	4%	4%	4%	4%	4%	4%	0%	0%
	II	16%	8%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
	III	8%	4%	4%	4%	0%	0%	0%	0%
	IV	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
	V	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%

Hasil uji menunjukkan bahwa ekstrak daun *C. hystrix* konsentrasi 50 ppm pada hari ke 8 menghasilkan rata-rata kehidupan larva *Ae. aegypti* sebanyak 16-40% dimana hasil ini merupakan angka kehidupan tertinggi dibandingkan konsentrasi lainnya dan larva *Ae. aegypti* belum berubah menjadi stadium pupa. Ekstrak daun *C. hystrix* konsentrasi 300 dan 550 ppm pada hari ke 8 menghasilkan rata-rata kehidupan larva *Ae. aegypti* sebanyak 0-32%. Sisa larva *Ae. aegypti* yang masih hidup belum berubah menjadi stadium pupa. Ekstrak daun *C. hystrix* konsentrasi 750-1.000 ppm pada hari ke 8 menghasilkan rata-rata kehidupan larva *Ae. aegypti* sebanyak 0-4%. Kematian larva *Ae. aegypti* 100% sudah terjadi pada kelompok perlakuan ekstrak daun *C. hystrix* konsentrasi tertinggi, yaitu 1.000 ppm. Hal ini berarti ekstrak daun *C. hystrix* konsentrasi 750-1.000 ppm lebih banyak menyebabkan mortalitas larva *Ae. aegypti*.

PEMBAHASAN

Hasil pengujian didapatkan ekstrak daun *C. hystrix* setiap konsentrasi menyebabkan efek pada larva *Ae. aegypti*. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin tinggi mortalitas larva *Ae. aegypti*. Semakin rendah konsentrasi ekstrak maka semakin tinggi jumlah larva *Ae. aegypti* yang hidup. Larva *Ae. aegypti* yang hidup setelah diberi perlakuan ekstrak daun larva *Ae. aegypti* yang hidup hingga 8 hari tidak terjadi pembentukan stadium pupa. Hasil ini sejalan dengan efek *pyriproxyfen* terhadap larva *Ae. aegypti*. Paparan *pyriproxyfen* dapat memperlambat perkembangan larva *Ae. aegypti* menjadi stadium pupa dan stadium dewasa (imago) sehingga tetap dalam stadium larva. *Pyriproxyfen* yang diberikan pada tahap larva berfungsi sebagai hormon juvenil (*juvenile hormone* atau JH) yang kemudian berikatan dengan reseptor dan membuat larva tidak dapat berkembang menjadi dewasa. Hal ini karena *Pyriproxyfen* mengganggu metamorfosis larva instar akhir menjadi pupa dan dewasa dimana kegagalan metamorfosis pada larva akan menyebabkan kematian pada tahap larva dan pupa (Cecep *et al.*, 2018). Konsentrasi hormon juvenil yang tinggi akan mencegah pembentukan pupa, dan sebaliknya apabila konsentrasi hormon juvenil rendah atau menurun maka larva dapat berlanjut bermetamorfosis menjadi pupa hingga dewasa (Smykal *et al.*, 2014).

Potensi tanaman yang telah dilaporkan menghambat larva ke stadium pupa adalah minyak atsiri *Cymbopogon flexuosus* dimana menimbulkan efek pada larva *Ae. aegypti*, berupa penurunan konsentrasi hormon JH III (*juvenile hormone III*) dan MH (*molting hormone*), peningkatan panjang badan larva dan diameter kepala larva, periode larva lebih panjang selama 12 hari. Larva kelompok kontrol berlanjut ke tahap kepompong pada hari ke 7 dan siklus hidup selesai pada hari ke 12 (Castillo-Morales *et al.*, 2021). Metabolit sekunder yang diduga berperan mengganggu perkembangan serangga adalah senyawa terpen dan alkaloid. Ekstrak *Gladiolus gandavensis* menyebabkan serangga *S. litura* tidak dapat berkembang menjadi pupa dan tetap sebagai larva disusul ekstrak *Camellia japonica*, *Hosta longipes*, dan *Lindera erythrocarpa* (Jeon *et al.*, 2022). Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa tanaman *Clerodendrum inerme* (L.) Gaertn. memiliki sifat sebagai *insect growth regulators* (IGRs) yang dapat mengganggu perkembangan serangga *Achaea janata* instar V dengan menghambat aktivitas enzim *Juvenile hormone esterase* (JHE) sebesar 28,21% (*in vitro*) dan larva tetap dalam tahap larva (*in vivo*) (Yankanchi *et al.*, 2015). Ekstrak daun dari *Pseudocalymma alliaceum* dapat menghambat pertumbuhan normal dan perkembangan serangga sehingga memperpanjang dan menunda durasi larva dan pupa pada larva nyamuk *Culex quinquefasciatus* (Granados-Echegoyen *et al.*, 2014). Ekstrak metanol *Agerantum conyzoides* memiliki mekanisme kerja sebagai *insect growth regulators* (IGRs) dengan menghambat perkembangan larva instar III *An. gambiae* pada konsentrasi LC50= 84,71–232,70 ppm dan *An. Arabiensis* pada konsentrasi LC50=133,46–406,35 ppm (Muema *et al.*, 2016).

Pencarian dosis ekstrak yang terkecil dikarenakan fenomena resistensi insektisida kimiawi yang saat ini terjadi di seluruh dunia. Hal ini menyebabkan upaya meningkatkan konsentrasi insektisida di dalam lingkungan yang akhirnya menyebabkan menyebabkan residu insektisida, pencemaran lingkungan dan ancaman kesehatan bagi manusia maupun makhluk hidup yang lain. Berbeda dengan ekstrak bahan alam yang bersifat biodegradable (Oliveros-Díaz *et al.*, 2022).

Mortalitas yang terjadi pada larva *Ae. aegypti* yang mati dalam penelitian ini diprediksi disebabkan oleh senyawa metabolit sekunder pada daun jeruk purut, seperti flavonoid, saponin, tannin, steroid, alkaloid dan minyak atsiri (Qonitah *et al.*, 2022). Senyawa bioaktif tersebut masuk melalui dinding tubuh larva dan masuk ke mulut ketika larva mengambil makanan (Adrianto *et al.*, 2014). Senyawa flavonoid bekerja menghambat saluran pencernaan dan pernapasan pada larva (Lubis *et al.*, 2018). Senyawa flavonoid dapat tertarik dalam pelarut etanol 95% karena flavonoid dapat berupa flavonoid dalam bentuk bebas (aglikon) yaitu aglikon polimetoksi yang bersifat non polar dan aglikon polihidroksi bersifat semi polar (Qonitah *et al.*, 2022). Saponin bekerja dengan cara menurunkan asupan makanan,

menyebabkan penurunan berat badan, keterlambatan perkembangan, gangguan perkembangan dan penurunan reproduksi pada larva *Ae. aegypti* (Redo *et al.*, 2019). Tanin mengganggu mekanisme kerja enzim dalam melakukan pengikatan (*bonding*) protein pada sistem pencernaan larva *Ae. aegypti*. Proses penyerapan tanin terjadi di saluran pencernaan bagian tengah (*midgut*) yang merupakan organ pencernaan utama (Ahdiyah & Purwani, 2015; Ilham *et al.*, 2019). Senyawa alkaloid dapat mengganggu proses makan serangga dan menghambat pertumbuhan serangga (Balachandran *et al.*, 2021). Alkaloid juga membuat warna tubuh larva berubah menjadi lebih transparan dan apabila mendapat rangsangan sentuhan gerakan tubuh larva menjadi lambat serta badan larva terlihat selalu membengkok (Ishak *et al.*, 2019).

Karena ekstrak daun *C. hystrix* memiliki banyak senyawa metabolit sekunder dengan mekanisme kerja yang berbeda-beda maka ekstrak bekerja menghambat perkembangan larva, seiring berjalannya waktu larva akan mengalami mortalitas akibat efek kerja senyawa selain penghambatan perkembangan, seperti menghambat saluran pencernaan dan pernapasan pada larva serta menurunkan asupan makanan.

KESIMPULAN

Ekstrak etanol 95% daun *C. hystrix* memiliki potensi sebagai bahan aktif IGR terhadap larva *Ae. aegypti* dimana tidak terbentuk pupa *Ae. aegypti* selama perlakuan hingga pada hari ke 8.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih diberikan kepada Direktorat Pembelajaran dan Kemahasiswaan, Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Riset, dan Teknologi, Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset, dan Teknologi yang telah mendanai penelitian ini melalui Program Kreativitas Mahasiswa (PKM) Tahun 2024. Tidak lupa juga kepada Fakultas Kedokteran Universitas Ciputra atas dukungannya dalam melaksanakan penelitian ini, Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya yang telah menyediakan fasilitas untuk penguapan ekstrak *C. hystrix*, dan Politeknik Kementerian Kesehatan Surabaya yang telah menyediakan larva *Ae. aegypti* untuk bahan penelitian. Penelitian ini didukung oleh fasilitas riset, dan dukungan ilmiah serta teknis dari Laboratorium Karakterisasi Botani di Badan Riset dan Inovasi Nasional.

DAFTAR PUSTAKA

- Adrianto, H., Yotopranoto, S., & Hamidah, H. (2014). Efektivitas Ekstrak Daun Jeruk Purut (*Citrus Hystrix*), Jeruk Limau (*Citrus Amblycarpa*), Dan Jeruk Bali (*Citrus Maxima*) Terhadap Larva *Aedes aegypti*. *Aspirator Journal of Vector-Borne Diseases*, 6(1), 1–6.
- Ahdiyah, I., & Purwani, K. I. (2015). Pengaruh Ekstrak Daun Mangkokan (*Nothopanax Scutellarium*) sebagai Larvasida Nyamuk *Culex Sp.* *Jurnal Sains Dan Seni ITS*, 4(2).
- Balachandran, C., Anbalagan, S., Kandeepan, C., Arun Nagendran, N., Jayakumar, M., Fathi Abd_Allah, E., Alqarawi, A. A., Hashem, A., & Baskar, K. (2021). Molecular docking studies of natural alkaloids as acetylcholinesterase (AChE1) inhibitors in *Aedes aegypti*. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 24(3), 645–652.
- Bannister-Tyrrell, M., Hillman, A., Indriani, C., Ahmad, R. A., Utarini, A., Simmons, C. P., Anders, K. L., & Sergeant, E. (2023). Utility of surveillance data for planning for dengue elimination in Yogyakarta, Indonesia: A scenario-tree modelling approach. *BMJ Global Health*, 8(11).

- Benelli, G. (2015). Research in mosquito control: current challenges for a brighter future. *Parasitology Research*, *114*(8), 2801–2805. <https://doi.org/10.1007/s00436-015-4586-9>
- Bernatchez, J. A., Tran, L. T., Li, J., Luan, Y., Siqueira-Neto, J. L., & Li, R. (2020). Drugs for the Treatment of Zika Virus Infection. *Journal of Medicinal Chemistry*, *63*(2), 470–489.
- Castillo-Morales, R. M., Serrano, S. O., Villamizar, A. L. R., Mendez-Sanchez, S. C., & Duque, J. E. (2021). Impact of *Cymbopogon flexuosus* (*Poaceae*) essential oil and primary components on the eclosion and larval development of *Aedes aegypti*. *Scientific Reports*, *11*(1), 24291.
- Cecep, D. S., Wahyudin, D., Santoso, H. J., Latho, I., & Gunawan, A. T. (2018). The Effectiveness of Insect Growth Regulator (IGR) on the Growth and the Development of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in Tangerang City, Indonesia. *Journal of Medical Science And Clinical Research*, *6*(4), 890–902.
- Centers for Disease Control and Prevention. (2023, December 7). Treatment & Prevention | Chikungunya virus / CDC. Centers for Disease Control and Prevention. <https://www.cdc.gov/chikungunya/hc/treatment-prevention.html>
- Devillers, J. (2020). Fate and ecotoxicological effects of *pyriproxyfen* in aquatic ecosystems. *Environmental Science and Pollution Research*, *27*(14), 16052–16068.
- Dwicahya, B., Arsin, A. A., Ishak, H., Hamid, F., & Mallongi, A. (2023). *Aedes Sp.* Mosquito Resistance and the Effectiveness of Biolarvicides on Dengue Vector Mortality. *Pharmacognosy Journal*, *15*(4), 541–546.
- Granados-Echegoyen, C., Pérez-Pacheco, R., Soto-Hernández, M., Ruiz-Vega, J., Lagunez-Rivera, L., Alonso-Hernandez, N., & Gato-Armas, R. (2014). Inhibition of the growth and development of mosquito larvae of *Culex quinquefasciatus* (*Diptera: Culicidae*) treated with extract from leaves of *Pseudocalymma alliaceum* (*Bignoniaceae*). *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, *7*(8), 594–601.
- Hustedt, J. C., Boyce, R., Bradley, J., Hii, J., & Alexander, N. (2020). Use of *pyriproxyfen* in control of *Aedes* mosquitoes: A systematic review. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, *14*(6), e0008205.
- Ilham, R., Lelo, A., Harahap, U., Widyawati, T., & Siahaan, L. (2019). The Effectivity of Ethanolic Extract from Papaya Leaves (*Carica papaya L.*) as an Alternative Larvacide to *Aedes spp.* *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, *7*(20), 3395–3399.
- Ishak, N. I., Kasman, & Chandra. (2019). Effectiveness of Lime Skin Extract (*Citrus Amblycarpa*) as Natural Larvacide *Aedes Aegypti* Instar III. *Media Kesehatan Masyarakat Indonesia*, *15*(3), 302–310.
- Jeon, J. H., Jeong, S. A., Kim, J.-A., Park, D.-S., Seo, B., & Oh, H.-W. (2022). Disruption of Juvenile Hormone Receptor Binding in Tobacco Cutworm Larvae by *Gladiolus gandavensis* extract. *The Korean Journal of Pesticide Science*, *26*(1), 74–82.
- Jian, R., Lin, Y., Li, Y., Wu, W., Ren, X., Liang, Z., Kong, L., Cai, J., Lao, C., Wu, M., Chen, W., Chen, J., Hong, W. D., & Sheng, Z. (2022). Larvicidal Activity of Two *Rutaceae* Plant Essential Oils and Their Constituents Against *Aedes albopictus* (*Diptera: Culicidae*) in Multiple Formulations. *Journal of Medical Entomology*, *59*(5), 1669–1677.
- Kaligis, E. C., Ratag, B. T., & Langi, F. F. L. (2023). Analysis Of Dengue Hemorrhagic Fever Surveillance Data (2012-2021) in Indonesia. *Indonesian Journal of Public Health and Preventive Medicine*, *2*(1).

- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (2021). *Strategi Nasional Penanggulangan Dengue 2021-2025*. Direktorat Jenderal Pencegahan dan Pengendalian Penyakit. <https://p2p.kemkes.go.id/strategi-nasional-penanggulangan-dengue-2021-2025/>
- Lubis, R., Ilyas, S., & Panggabean, M. (2018). The Effectivity Test of *Aloe Vera* Leaf Extract to Larvae *Aedes sp.* *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 11(7), 262.
- Maoz, D., Ward, T., Samuel, M., Müller, P., Runge-Ranzinger, S., Toledo, J., Boyce, R., Velayudhan, R., & Horstick, O. (2017). Community effectiveness of *pyriproxyfen* as a dengue vector control method: A systematic review. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 11(7), e0005651.
- Marin, G., Arivoli, S., & Tennyson, S. (2020). Larvicidal activity of two *rutaceae* species against the vectors of dengue and filarial fever. *Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences*, 8(2), 166–175.
- Masters, S. W., Knapek, K. J., & Kendall, L. V. (2020). Rearing *Aedes aegypti* Mosquitoes in a laboratory setting. *Laboratory Animal Science Professional*, 55(6), 42–45.
- Morais, H. L. M. D. N., Feitosa, T. C., Rodrigues, J. G. M., Lira, M. G. S., Nogueira, R. A., Luz, T. R. S. A., Silva-Souza, N., Lima, N. M., Andrade, T. D. J. A. D. S., & Miranda, G. S. (2020). Hydroalcoholic extract of *Caryocar brasiliense* Cambess. leaves affect the development of *Aedes aegypti* mosquitoes. *Revista Da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 53, e20200176.
- Moura, L., De Nadai, B. L., & Corbi, J. J. (2023). One does not simply apply larvicides: *Aedes aegypti* from Araraquara (Brazil) has reduced susceptibility to *pyriproxyfen*. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 41, 100875.
- Muema, J. M., Njeru, S. N., Colombier, C., & Marubu, R. M. (2016). Methanolic extract of *Agerantum conyzoides* exhibited toxicity and growth disruption activities against *Anopheles gambiae sensu stricto* and *Anopheles arabiensis* larvae. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16(1), 475.
- Oliveros-Díaz, A. F., Pájaro-González, Y., Cabrera-Barraza, J., Hill, C., Quiñones-Fletcher, W., Olivero-Verbel, J., & Castillo, F. D. (2022). Larvicidal activity of plant extracts from Colombian North Coast against *Aedes aegypti* L. mosquito larvae. *Arabian Journal of Chemistry*, 15(12), 104365.
- Onen, H., Luzala, M. M., Kigozi, S., Sikumbili, R. M., Muanga, C. J. K., Zola, E. N., Wendji, S. N., Buya, A. B., Balciunaitiene, A., Viškelis, J., Kaddumukasa, M. A., & Memvanga, P. B. (2023). *Mosquito-Borne Diseases and Their Control Strategies: An Overview Focused on Green Synthesized Plant-Based Metallic Nanoparticles*. MDPI.
- Paris, V., Hardy, C., Hoffmann, A. A., & Ross, P. A. (2023). How often are male mosquitoes attracted to humans? *Royal Society Open Science*, 10(10).
- Qonitah, F., Ariastuti, R., Ahwan, & Nurul Astia Wuri, P. M. (2022). Skrinning Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix*) dari Kabupaten Klaten. *GEMA*, 34(01), 47–51.
- Redo, T., Triwani, T., Anwar, C., & Salni, S. (2019). Larvicidal Activity of Ketapang Leaf Fraction (*Terminalia catappa* L) on *Aedes aegypti* Instar III. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, 7(21), 3526–3529.
- Shahid, A., Zaidi, S. D.-S., Akbar, H., & Saeed, S. (2019). An investigation on some toxic effects of *pyriproxyfen* in adult male mice. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 22(9), 997–1003.

- Silvério, M. R. S., Espindola, L. S., Lopes, N. P., & Vieira, P. C. (2020). Plant Natural Products for the Control of *Aedes aegypti*: The Main Vector of Important Arboviruses. *Molecules*, 25(15), 3484.
- Smykal, V., Daimon, T., Kayukawa, T., Takaki, K., Shinoda, T., & Jindra, M. (2014). Importance of juvenile hormone signaling arises with competence of insect larvae to metamorphose. *Developmental Biology*, 390(2), 221–230.
- Yankanchi, S. R., Kallapur, V. L., & Holihosur, S. N. (2015). In vitro and in vivo inhibition of haemolymph juvenile hormone esterase activity by the ethanol extract of *Clerodendrum inerme* in fifth instar larva of castor semilooper, *Achaea janata* (L.). *Current Science*, 108(8), 1516–1520.