

Kombinasi Ekstrak Batang Serai Wangi dan Ekstrak Biji Pinang Muda dalam Bentuk Spray

sebagai Bioinsektisida Alami terhadap Nyamuk Aedes Aegypti

Dwi Anggun , Khoirul Anam
STIKes Bhakti Al-Qodiri , Universitas Islam Jember
Email : an660en.lestari@gmail.com , cunam.212@gmail.com

Abstrak

Kasus DBD Kabupaten Jember menempati posisi kedua terbanyak setelah Kabupaten Jombang yaitu sebanyak 170 kasus yang dilaporkan dan 3 korban meninggal. Pengendalian vektor nyamuk Aedes aegypti secara kimia dengan menggunakan insektisida dapat ditujukan terhadap nyamuk dewasa maupun larva. Serai wangi dan biji pinang mengandung senyawa yang memiliki kemampuan sebagai insektisida. Tujuan penelitian ini adalah menganalisis potensi ekstrak serai wangi (Cymbopogon nardus) dan ekstrak biji pinang (Areca catechuL) dalam bentuk spray sebagai bioinsektisida alami untuk mengendalikan nyamuk Aedes aegypti. Penelitian ini termasuk kedalam rancangan penelitian murni (true experiment) dengan rancangan Factorial Design. penelitian ini menggunakan 25 ekor nyamuk untuk setiap unit penelitian. Dalam penelitian ini terdapat 10 unit penelitian dengan 3 kali pengulangan untuk setiap unit. Analisis data pada penelitian ini menggunakan uji statistik GLM dan analisis Probit. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak serai wangi, biji pinang dan kombinasi memiliki hasil uji $0.000 < 0.005$. kesimpulan penelitian didapatkan bahwa Ekstrak serai wangi memiliki potensi sebagai bioinsektisida alami nyamuk Aedes aegypti, Ekstrak biji pinang muda (Areca catechu L) tidak memiliki potensi sebagai bioinsektisida alami nyamuk Aedes aegypti sedangkan Kombinasi ekstrak batang serai wangi (Cymbopogon nardus) dan ekstrak biji pinang muda (Areca catechu L) memiliki potensi sebagai bioinsektisida alami nyamuk Aedes aegypti.

Kata kunci : Serai Wangi, Biji Pinang, Aedes aegypti

Abstract

The DHF case in Jember Regency was the second largest after Jombang, namely 170 reported cases and 3 deaths. Chemical control of the Aedes aegypt mosquito vector using insecticides can be directed against both adult mosquitoes and larvae. Lemongrass and areca nut contain compounds that have the ability as insecticides. The purpose of this study was to analyze the potential of fragrant lemongrass extract (Cymbopogon nardus) and areca seed extract (Areca catechuL) in the form of spray as a natural bioinsecticide to control Aedes aegypti mosquitoes. This research belongs to a pure research design (true experiment) with the design of Factorial Design. this study used 25 mosquitoes for each research unit. In this study there were 10 research units with 3 repetitions for each unit. Data analysis in this study using GLM statistical tests and Probit analysis. The results showed that lemongrass extract, areca nut and combination had a test result of $0.000 < 0.005$. The conclusions of the study showed that citronella extract had the potential as a natural bioinsecticide of Aedes aegypti mosquito. Areca catechu L did not have the potential as a natural bioinsecticide of Aedes aegypti mosquitoes while the combination of fragrant lemongrass extract (Cymbopogon nardus) and young areca seed extract (Areca catechu L) has the potential as a natural bioinsecticide of the Aedes aegypti mosquito

Keywords: areca seed, Frarant lemongrass, Aedes aegypti

Pendahuluan

WHO selaku organisasi kesehatan dunia telah memberikan rekomendasi dalam penggunaan insektisida untuk mengendalikan nyamuk Aedes aegypti sebagai vektor penyakit DBD (demam berdarah dengue) yaitu dengan menggunakan malathion pada nyamuk stadium dewasa dan pada stadium larva dengan menggunakan temephos 1% atau lebih sering disebut Abate. Penelitian yang dilakukan oleh Heny Prasetyowati dkk (2016) terhadap insektisida golongan organophosphate di wilayah DKI Jakarta didapatkan hasil bahwa telah terjadi resistensi nyamuk Aedes aegypti terhadap insektisida malathion dan temephos 1% di wilayah DKI Jakarta, sehingga perlu dicari insektisida yang baru serta teruji keefektifannya terhadap kematian nyamuk Aedes aegypti

Insektisida organophosphate adalah insektisida sintetik dengan waktu paruh yang panjang sehingga perlu diperhatikan dampak residu dari penggunaan insektisida organophosphate tersebut. Dampak penggunaan insektisida sintetik dalam jangka waktu yang lama selain resistensi serangga adalah terjadinya gangguan kesehatan manusia dan kesehatan lingkungan.

Resistensi yang terjadi akibat penggunaan insektisida sintetik golongan organophosphate secara terus menerus dalam pengendalian vektor nyamuk Aedes aegypti dapat dilihat dari gambaran data yang dirilis oleh Kemenkes RI pada tahun 2010 dan 2015 yang menunjukkan terjadi KLB demam berdarah dengue di beberapa kabupaten/kota di beberapa propinsi di Indonesia. Data yang dirilis oleh Balitbang Kemenkes RI per

Februari 2016 disebutkan telah terjadi fenomena KLB DBD di 7 propinsi dengan 9 kabupaten dan 2 kota di Indonesia, sedangkan pada bulan Maret 2016 telah bertambah 4 propinsi dan 6 kabupaten menetapkan status KLB DBD termasuk Kabupaten Situbondo di Jawa Timur Data kasus DBD untuk wilayah Jawa Timur periode Januari - Maret 2016 telah terjadi sebanyak 858 kasus dan 27 diantaranya meninggal dunia, sedangkan jumlah kasus DBD di Jawa Timur pada tahun 2015 sebanyak 19.942 kasus DBD dan 277 meninggal dunia. Berdasarkan jumlah kasus DBD di Jawa Timur periode Januari - Maret 2016, Kabupaten Jember menempati posisi kedua terbanyak setelah Kabupaten Jombang yaitu sebanyak 170 kasus yang dilaporkan dan 3 korban meninggal.

Serai wangi (*Cymbopogon nardus* L) yang mengandung senyawa alkaloid seperti geraniol dan sitronelol memiliki kemampuan sebagai insektisida yang bekerja layaknya pestisida golongan organophosphate yang bersifat kontak dengan menghambat enzim cholinesterase sehingga akan terjadi kontraksi otot secara terus menerus. Kontraksi otot yang terjadi secara terus menerus termasuk otot pernapasan serangga, maka akan terjadi gangguan pernapasan yang akan menyebabkan terjadinya kematian nyamuk karena kekurangan oksigen.

Biji pinang yang merupakan biji dari tumbuhan pinang (*Areca catechu* L) merupakan tumbuhan yang banyak tumbuh di wilayah Indonesia. Biji pinang berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Vanimakhal (2016) banyak mengandung senyawa aktif yang diantaranya adalah tannin.

Berdasarkan latar belakang di atas maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tentang "Pengaruh Kombinasi Ekstrak Batang Serai Wangi dan Ekstrak Biji Pinang Muda dalam Bentuk Spray sebagai Bioinsektisida terhadap Nyamuk *Aedes aegypti*". Tujuan penelitian ini adalah menganalisis potensi ekstrak serai wangi (*Cymbopogon nardus*) dan ekstrak biji pinang (*Areca catechu* L) dalam bentuk spray sebagai bioinsektisida alami untuk mengendalikan nyamuk *Aedes aegypti*.

Metode Penelitian

Jenis penelitian eksperimen adalah suatu penelitian dengan melakukan percobaan (experiment) yang dimaksudkan untuk mengetahui gejala atau pengaruh yang akan timbul akibat dari suatu perlakuan atau intervensi tertentu pada eksperimen tersebut.

Penelitian ini menggunakan 25 ekor nyamuk untuk setiap unit penelitian. Dalam penelitian ini terdapat 10 unit penelitian

dengan 3 kali pengulangan untuk setiap unit. Tempat penelitian dilakukan di Laboratorium Entomologi Lembaga Penyakit Tropis Universitas Airlangga Surabaya pada bulan Nopember 2018 sampai dengan Januari 2019.

Variabel terikat pada penelitian ini adalah jumlah kematian nyamuk *Aedes aegypti* setelah mendapat intervensi berupa penyemprotan atau spray ekstrak serai atau ekstrak biji pinang dan kombinasi ekstrak serai dan ekstrak biji pinang yang sudah ditentukan konsentrasinya. Variabel kendali adalah variabel yang berpotensi mengganggu hubungan variabel terikat dan variabel bebas namun dapat dikendalikan sehingga tidak mempengaruhi hasil hubungan antar variabel dalam penelitian. Suhu, kelembaban dan angin dalam penelitian ini merupakan variabel kendali. Analisis data pada penelitian ini menggunakan uji statistik GLM dan analisis Probit.

Hasil Dan Pembahasan

Hasil

Hasil uji statistik yang sudah dilakukan menggunakan aplikasi SPSS dengan uji statistik GLM (General Linier Model) didapatkan bahwa pengaruh potensi ekstrak serai wangi (*Cymbopogon nardus*) dalam bentuk spray sebagai bioinsektisida alami nyamuk *Aedes aegypti* sebesar 0.000. Nilai tingkat signifikansi 0.000 lebih kecil dari pada nilai T Tabel yang sudah ditentukan yaitu 0.005 sehingga H1 diterima yang menyatakan bahwa ekstrak batang serai wangi (*Cymbopogon nardus*) memiliki potensi sebagai bioinsektisida alami nyamuk *Aedes aegypti*. Pengaruh potensi ekstrak biji pinang (*Areca catechu* L) dalam bentuk spray sebagai bioinsektisida alami nyamuk *Aedes Aegypti* sebesar 0.000. Nilai tingkat signifikansi 0.000 lebih kecil dari pada nilai T Tabel yang sudah ditentukan yaitu 0.005 sehingga H2 diterima yang menyatakan bahwa Ekstrak biji pinang muda (*Areca catechu* L) tidak memiliki potensi sebagai bioinsektisida alami nyamuk *Aedes aegypti*.

Selanjutnya uji pengaruh potensi ekstrak kombinasi didapatkan bahwa pengaruh potensi ekstrak kombinasi/campuran ekstrak batang serai wangi (*Cymbopogon nardus*) dan ekstrak biji pinang muda (*Areca catechu* L) dalam bentuk spray sebagai bioinsektisida alami nyamuk *Aedes aegypti* sebesar 0.000. Nilai tingkat signifikansi 0.000 lebih kecil dari pada nilai T Tabel yang sudah ditentukan yaitu 0.005 sehingga H3 diterima yang menyatakan bahwa Kombinasi ekstrak batang serai wangi (*Cymbopogon nardus*) dan ekstrak biji pinang muda (*Areca catechu* L) memiliki potensi

sebagai bioinsektisida alami nyamuk *Aedes aegypti*.

Pembahasan

Serai wangi

Tanaman serai wangi atau *Cymbopogon nardus* merupakan tumbuhan monokotil dengan daun berwarna hijau runcing pada ujungnya, akar sirkuler, panjang batang 5,0 – 7,0 cm dengan lebar batang 5,0 – 15,0 mm berwarna merah kecoklatan. Tumbuhan ini tumbuh secara bergerombol dengan tinggi mencapai 1 – 1,5 meter. Tumbuhan ini dapat tumbuh subur di daerah beriklim tropis dan sub-tropis hingga pada ketinggian 900 meter dpl. Tumbuhan serai wangi tumbuh secara merata di seluruh dunia hingga Indonesia yang dimanfaatkan sebagai rempah – rempah untuk memasak makanan. Menurut Gunawan dan Mulyani (2010), kandungan bahan aktif dalam minyak atsiri daun *Cymbopogon nardus* adalah berupa alkaloid geraniol 97 % dan sisanya adalah sitronellol, sitral dan mentol. Sedangkan menurut Luciani Gaspar De Toledo (2016) yang dimuat dalam *Molecular Sciences* menyebutkan bahwa kandungan utama *Cymbopogon nardus* adalah geraniol, citronellal, sitral dan citronellol. Gunawan dan

Mulyani (2010) dalam bukunya *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi) Jilid 1* dikatakan bahwa kandungan utama minyak serai wangi adalah geraniol (97%), sitronela, sitronelol, sitral dan mentol. Hasil uji fitokimia terhadap ekstrak etanol daun serai yang dilakukan oleh Anita Verawati dkk (2013) didapatkan bahwa kandungan batang serai wangi adalah alkaloid, flavonoid, saponin, tannin, quinone dan terpenoid. Tumbuhan ini seringkali digunakan sebagai bahan kosmetik, parfum, dan repellen anti nyamuk (Gunawan,2010). Kandungan alkaloid yang terdapat pada ekstrak batang serai wangi terdiri dari geraniol, sitronellol, sitronella, sitral dan zat lain yang jumlahnya sedikit (Mulyani, 2010). Geraniol adalah fraksi alkaloid dengan jumlah 97 % dari semua fraksi alkaloid yang terkandung dalam ekstrak batang serai wangi (Toledo, 2016).

Geraniol Sitronelol Sitronelal

Cara kerja alkaloid geraniol, sitronelol dan sitronelal sebagai insektisida adalah dengan berikatan secara irreversible dengan molekul enzim cholinesterase pada celah sinaps yang menghubungkan saraf dan otot. Ikatan yang bersifat irreversible ini mengakibatkan hambatan pada cara kerja enzim cholinesterase dalam menghidrolisis neurotransmitter acetylcholine menjadi acetyl co-A dan cholin.

Acetylcholin atau asetilkolin merupakan salah satu neurotransmitter (zat penghantar

rangsangan saraf) yang mentransmisikan sinyal atau rangsangan yang diterima untuk diteruskan diantara sel-sel saraf yang berdekatan atau pada sambungan antara ujung akhir saraf dan otot atau neuro-muscular junction. Acetylcholine yang merupakan neurotransmitter yang terdapat pada sistem saraf pusat maupun sistem saraf tepi disintesis di ujung presinaps dari acetyl co-A dan choline dengan bantuan enzim choline acetyltransferase. Saat ada impuls listrik dari ujung saraf maka acetylcholine segera terbentuk dan gelembung acetylcholine ini bergerak kearah sinaps dengan membawa impuls listrik untuk diteruskan ke saraf yang lain atau ke otot. Acetylcholine yang membawa impuls saraf akan segera dipecah kembali untuk didaur ulang dengan bantuan enzim cholinesterase menjadi acetyl co-A dan choline untuk dibawa ke ujung saraf kembali dan dipergunakan untuk produksi acetylcholine yang baru (Victor W dkk, 2014).

Pemecahan acetylcholine menjadi acetyl co-A dan cholin agar dapat didaur ulang di celah sinaps memerlukan bantuan enzim cholinesterase. Enzim cholinesterase akan terganggu kerjanya apabila terdapat zat-zat yang dapat menghambat kerja enzim cholinesterase itu sendiri. Cholinesterase adalah enzim yang memecah acetylcholine dengan cara menghidrolisis acetylcholine menjadi acetyl co-A dan choline. Jika aktifitas enzim cholinesterase yang ada pada celah sinaps dan neuro-muscular junction menurun, maka akan mengakibatkan aktifitas acetylcholine akan terus berlangsung dan terjadi kontraksi otot yang terus-menerus (Zuraida,2012). Aktifitas otot yang terus – menerus berkontraksi ini terjadi pada semua otot termasuk otot-otot pernapasan sehingga akan menyebabkan terganggunya sistem pernapasan yang berakhir dengan kelelahan otot atau fatigue dan otot tidak mampu lagi untuk melakukan aktifitas depolarisasi dan repolarisasi yang berakibat terhentinya suplai oksigen keseluruh tubuh (Perumalsam, 2009).
Pinang muda

Tumbuhan pinang (*Areca catechu L*) tumbuh dan tersebar di wilayah Asia termasuk Indonesia. Pinang merupakan tumbuhan palm family arecaceae yang dapat tumbuh antara 12 – 30 meter, berakar serabut berwarna putih, batang tegak dengan bekas pelepah yang lepas terlihat jelas dan berdiameter 15 – 20 cm. Daun tebal dengan bersirip dalam dan mengumpul di bagian ujung atas pohon, panjang daun dapat mencapai 1 meter. Pelepah daun berbentuk tabung dengan panjang mencapai 2 meter dengan tangkai daun pendek. Pinang merupakan tumbuhan

berumah satu (monoecious) dimana bunga jantan dan betina berada pada satu tempat. Tongkol bunga dengan seludang panjang yang mudah rontok dan keluar dari bawah roset daun dengan panjang mencapai 75 cm. Bunga betina berada di bagian pangkal tongkol dan bunga jantan berada di ujungnya dengan ukuran lebih kecil dan mudah rontok. Bentuk buahnya bulat lonjong seperti telur dengan panjang antara 3,5 – 7 cm, berwarna hijau saat masih muda dan berubah orange kemerahan saat sudah tua dengan bagian kulit berserabut. Pada bidang irisan melintang tampak perisperm berwarna coklat tuadengan lipatan tidak beraturan yang menembus endosperm yang berwarna agak keputihan.

Uji fitokimia ekstrak etanol biji pinang yang dilakukan oleh Vanimakhal (2016) terdapat beberapa bahan metabolit sekunder dari ekstrak biji pinang yaitu; saponin, flavonoid, tannin, phenol, steroid, alkaloid dan protein. Penelitian kandungan biji pinang juga dilakukan oleh Wei Peng (2015) dari jurusan Kedokteran Tradisional Universitas Chengdu disebutkan bahwa kandungan ekstrak etanol biji pinang adalah flavonoid, alkaloid, tannin, steroid dan bahan – bahan yang lain termasuk protein dan asam lemak. Kandungan tannin biji pinang muda menurut Wei Peng dkk (2015) paling tinggi dan menurun seiring dengan bertambahnya usia buah pinang. Menurut Adediji (2015) dari bagian Anatomi Fakultas Kedokteran Dasar dari Universitas Bennin Nigeria disebutkan bahwa kandungan biji pinang adalah air 30%, karbohidrat 47%, protein 5%, lemak 3% dan alkaloid termasuk arecoline 0,5% - 0,7%. Penelitian yang dilakukan oleh Nursidika (2014) terhadap ekstrak biji pinang dengan pelarut etanol didapatkan kandungan bahan aktif terpenoid, flavonoid, tannin, alkaloid, saponin dan quinone. Tannin yang terdapat dalam ekstrak biji pinang muda merupakan metabolit sekunder dari polyphenol adalah bahan aktif yang dapat bekerja dengan cara menghambat kerja enzim α -amylase. Port de entry tannin pada tubuh serangga adalah melalui kulit dengan cara merusak kutikula kulit serangga dan berikatan dengan protein yang merupakan komponen utama enzim. Ikatan yang terjadi antara tannin dan protein ini mengakibatkan active site dari enzim tidak dapat mengikat substrat sehingga proses katalisis dari metabolisme amilum menjadi glukosa tidak dapat berlangsung (Moctezuma, 2014).

Enzim merupakan unit fungsional dari metabolisme sel yang hingga saat ini diketahui bahwa protein adalah komponen utama dari enzim dimana kemampuan katalitiknya tergantung pada integritas dari struktur

proteinnya (Victor W, 2014). Cara kerja enzim α -amylase terhadap amilum dibagi menjadi 2 tahap yaitu tahap pertama degradasi molekul amilum menjadi matosa dan maltosa yang terjadi secara acak. Tahap ke-2 adalah degradasi molekul amilum menjadi glukosa dan maltose yang terjadi secara lebih lambat dari tahap pertama. Teori cara kerja enzim terhadap substrat adalah dengan teori lock and key serta dengan teori kecocokan induksi (Induced Fit Theory), diantara kedua teori ini memiliki kesamaan yaitu sifat ikatan substrat dan enzim adalah ikatan sementara dan akan segera terlepas setelah reaksi terjadi (Victor, 2014).

Tannin adalah suatu senyawa fenolik dengan berat molekul cukup tinggi ($C_{72}H_{52}O_{46}$) yang mengandung hidroksil dan kelompok lain yang cocok (karboksil) untuk membentuk kompleks yang efektif dengan protein dan makromolekul yang lain dibawah kondisi lingkungan tertentu (Horvath, 1981). Berat molekul tannin yang tinggi dan memiliki gugus hidroksil mirip dengan berat molekul amilum ($C_6H_{10}O_5$)_n sangat memungkinkan tannin akan menggantikan posisi amilum pada metabolisme karbohidrat dalam tubuh serangga atau nyamuk. Cara kerja enzim α -amylase dan tannin adalah dengan membentuk ikatan yang bersifat reversible yang berakibat terjadinya inhibisi metabolisme amilum menjadi glukosa yang sangat dibutuhkan oleh serangga untuk kebutuhan energi. Terhentinya suplai glukosa akibat hambatan yang terjadi ini mengakibatkan serangga tidak memiliki sumber energy untuk keperluan metabolisme dan aktifitas seluler dan pada akhirnya menyebabkan kematian (Gelgel, 2006).

Hasil pengamatan terhadap penggunaan ekstrak batang serai wangi dalam bentuk spray sebagai bioinsektisida alami nyamuk *Aedes aegypti* sesuai dengan hasil penelitian, sejalan dengan penelitian yang dilakukan bahwa tumbuhan serai wangi seringkali digunakan sebagai bahan anti nyamuk [7]. Insektisida nabati adalah insektisida yang berasal dari tumbuhan yang mengandung bahan aktif seperti alkaloid (geraniol, sitronellol, rotenon, dll), saponin, tannin, flavonoid. Serai wangi (*Cymbopogon nardus*) yang mengandung bahan aktif geraniol dan sitronellol sebagai alkaloid utama telah banyak dipergunakan sebagai larvasida yang memiliki cara kerja menghambat kerja enzim cholinesterase.

Kandungan senyawa metabolit sekunder pada ekstrak kasar dengan menggunakan pelarut metanol dan fraksi etil asetat dari batang serai wangi (*Cymbopogon nardus*) adalah flavonoid, fenolik dan

terpenoid, sedangkan dengan menggunakan fraksi etil asetat hanya mengandung senyawa steroid. Penelitian lain menyatakan bahwa dalam mengurangi larva demam berdarah maka dilakukan dengan pemanfaatan ekstrak serai wangi. Dari penelitian tersebut didapatkan semua konsentrasi pada kelompok perlakuan memiliki hasil perbedaan secara bermakna dengan kelompok kontrol dengan nilai $p < 0,05$. Jumlah kematian larva tertinggi pada konsentrasi 2% yaitu 38% kematian larva dan terendah pada konsentrasi 0,05% dan konsentrasi 0,1% yaitu 8% kematian larva. Disimpulkan bahwa semua konsentrasi pada kelompok perlakuan efektif sebagai larvasida apabila dibandingkan dengan kontrol dengan nilai $p < 0,05$.

Berdasarkan beberapa penelitian yang dilakukan oleh peneliti sebelumnya tentang kandungan dan kemampuan ekstrak serai wangi yang sudah ada diatas didapatkan bahwa ekstrak batang serai wangi memang merupakan bahan yang efektif untuk mengendalikan nyamuk dan larva dari *Aedes aegypti*. Hal tersebut terlihat dari standar error penelitian ekstrak batang serai wangi dalam bentuk spray dengan menggunakan uji statistik GLM menunjukkan error paling kecil kedua diantara penggunaan ekstrak biji pinang maupun hasil kombinasi biji pinang dan serai wangi. Pada uji statistik Probit Analysis untuk mengetahui dosis efektif yang telah ditentukan yaitu dosis konsentrasi ekstrak yang dapat membunuh nyamuk sebanyak 60 % atau LC60 sampai dengan 90 % atau LC92 dalam waktu 240 menit setelah intervensi didapatkan bahwa konsentrasi ekstrak batang serai wangi yang dapat membunuh nyamuk *Aedes aegypti* sebesar 60 % dari sampel adalah pada konsentrasi $9.808E4$ ppm. Sedangkan konsentrasi ekstrak batang serai wangi dalam bentuk spray yang dapat membunuh sampel nyamuk sebesar 92 % adalah pada konsentrasi $1.675E5$ ppm. Rentang konsentrasi ekstrak batang serai wangi dalam bentuk spray yang dapat membunuh sampel nyamuk antara 60% sampai dengan 92 % tersebut merupakan dosis efektif yang dapat dipergunakan untuk mengendalikan nyamuk *Aedes aegypti*.

Hasil pengamatan terhadap penggunaan ekstrak biji pinang muda dalam bentuk spray sebagai bioinsektisida alami nyamuk *Aedes aegypti* sesuai dengan hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak biji pinang muda dapat digunakan sebagai bahan anti nyamuk. Biji pinang mengandung banyak sekali bahan aktif dimana bahan aktif terbesar adalah tannin yang mencapai 15% pada buah pinang yang masih muda dan menurun

dengan bertambahnya usia biji pinang. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan didapatkan bahwa tannin bekerja sebagai insektisida dengan cara membentuk ikatan protein-tannin complex dan bekerja dengan cara menghambat enzim α -amilase sehingga serangga tidak makan (anti feeding) serta merusak kutikula serangga.

Campuran atau kombinasi antara dua bahan aktif akan menimbulkan interaksi yang beragam. Interaksi ini dapat terjadi secara kimiawi yaitu dengan kombinasi dua atau lebih bahan aktif akan menimbulkan senyawa baru yang lebih toksik, saling menetralkan atau tidak mempengaruhi satu sama lain. Selain interaksi secara kimiawi, interaksi antara dua bahan atau lebih dapat terjadi secara biologi yaitu interaksi yang terjadi antara kombinasi bahan aktif dengan tubuh makhluk hidup. Interaksi ini sangat tergantung dari kondisi makhluk hidup itu sendiri, kondisi lingkungan dan kondisi dari campuran bahan tersebut (Gelgel, 2006). Pengaruh kombinasi antara dua bahan yaitu ekstrak batang serai wangi yang mengandung alkaloid dan ekstrak biji pinang muda yang mengandung tannin, saponin, alkaloid dan lain-lain terhadap nyamuk *Aedes aegypti* yang diberikan secara spray akan memberikan respon yang berbeda bila dibandingkan dengan pemberian ekstrak secara sendiri-sendiri.

Kombinasi atau campuran dua zat aktif atau lebih akan menyebabkan terjadinya interaksi yang bersifat antagonis, aditif atau sinergis. Sifat antagonis terjadi apabila antara dua zat atau lebih dikombinasikan akan menyebabkan hilangnya atau berkurangnya efek darimzat aktif tersebut karena terjadi kompetisi diantara keduanya, efek aditif terjadi apabila efek yang diakibatkan oleh dua zat aktif tersebut baru muncul setelah dikcampurkan dan efek sinergis terjadi apabila efek yang ditimbulkan oleh dua zat atau lebih akan menjadi lebih besar dari pada bila berdiri sendiri (Hodgson, 2011). Indikator terjadinya efek yang bersifat sinergis dari campuran ekstrak batang serai wangi dan ekstrak biji pinang muda dapat dilihat dari respon jumlah kematian nyamuk yang lebih banyak bila dibandingkan dengan respon kematian nyamuk yang diintervensi menggunakan ekstrak yang berdiri sendiri pada konsentrasi yang sama. Indikator berikutnya adalah waktu terjadinya respon berupa kematian nyamuk yang diamati menjadi lebih cepat terjadi apabila dua zat atau lebih dikombinasikan. Lamanya waktu yang dibutuhkan agar terjadi respon kematian nyamuk menjadi lebih cepat terjadi dengan pemberian kombinasi ekstrak batang serai wangi dan ekstrak biji pinang

muda dapat dilihat dari LT50 yang lebih pendek bila dibandingkan dengan LT50 masing-masing ekstrak tanpa dikombinasikan.

Interaksi antara dua bahan racun atau xenobiotik pada dasarnya dapat digolongkan menjadi interaksi yang bersifat antagonis, sinergis atau aditif. Interaksi yang bersifat aditif terjadi apabila apabila antara dua bahan atau lebih tersebut memiliki target organ yang sama, memiliki efek yang sama atau identik dan tidak memberikan efek terhadap target organ apabila diberikan secara sendiri-sendiri. Interaksi sinergis terjadi apabila kombinasi dua racun atau xenobiotik memiliki efek yang lebih besar dari pertambahan masing-masing racun atau xenobiotik. Pada interaksi sinergis target organ dapat berbeda dan cara kerja yang berbeda atau dengan yang lainnya, sehingga antara dua bahan atau lebih ini dapat bekerja secara bersama-sama. Interaksi antagonis terjadi apabila antara dua bahan atau lebih memiliki target organ yang sama dan cara kerja yang sama namun saling menetralkan satu dengan yang lainnya. Prinsip interaksi antagonis ini dipakai sebagai dasar terapi toksikasi yaitu dengan memberikan antidotum yang merupakan zat yang memiliki target organ yang sama sehingga terjadi kompetisi dan mengurangi efek toksik yang terjadi (Gelgel, 2006).

Proses interaksi yang terjadi antara racun dan enzim tidaklah sederhana seperti yang dibayangkan, bahwa untuk mencapai target organ racun harus melalui serangkaian perjalanan mulai dari luar tubuh makhluk hidup. Jenis racun menurut port de entry nya dapat dibedakan menjadi racun kontak, racun inhalan, racun lambung dan racun sistemik (Hodgson, 2011). Racun atau toksin yang bersifat racun kontak memiliki port de entry melalui kulit makhluk hidup, sehingga kondisi kulit sebagai barier pertama dari eksposur toksin memegang peranan yang sangat vital. Adanya lesi atau kerusakan kulit akan mempermudah penetrasi toksin yang bersifat kontak sehingga mempercepat masuk ke dalam system peredaran darah atau limfe dan mencapai target organ. Insektisida organophosphate adalah contoh racun kontak yang dapat masuk ke dalam tubuh melalui kulit makhluk hidup (Kemenkes, 2012). Alkaloid geraniol, sitronelol dan sitronela merupakan alkaloid yang terkandung dalam ekstrak batang serai wangi dan memiliki cara kerja dan cara masuk sama dengan golongan organophosphate (Partiban, 2015).

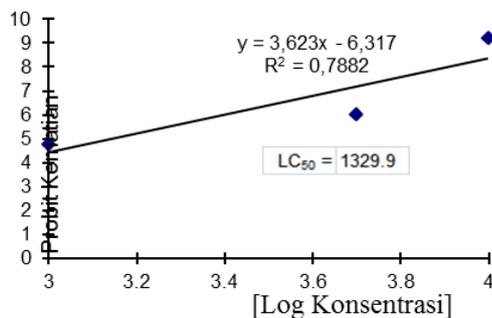
Port de entry dari tannin sebagai insektisida sebagaimana alkaloid adalah melalui kulit dengan cara berikatan dengan protein yang ada pada membran sel kulit

sehingga merusak kutikula kulit (Hammerbecker, 2014). Kerusakan kutikula akibat interaksi tannin dengan protein membentuk tannin-protein kompleks akan memudahkan toksin menembus barrier kulit termasuk alkaloid yang terkandung dalam ekstrak batang serai wangi yang dikombinasikan dengan ekstrak biji pinang muda. Perjalanan selanjutnya dari dua bahan yang berbeda ini akan terdistribusi ke seluruh tubuh nyamuk melalui peredaran darah untuk mencapai target sasaran yang berbeda. Perbedaan target sasaran ini karena antara kedua jenis bahan aktif yang terkandung pada kedua jenis ekstrak ini memiliki reseptor yang berbeda, yaitu alkaloid memiliki reseptor di celah sinaps berupa enzim cholinesterase sedangkan tannin memiliki reseptor enzim α -amylase. Perbedaan titik tangkap atau cara kerja (mode of action) akan memberikan efek yang saling mendukung terhadap kemampuan kombinasi ekstrak ini untuk menimbulkan respon terhadap nyamuk (Hodgson, 2011).

Mode of action ekstrak serai wangi dengan reseptor berada pada sisi aktif enzim cholinesterase pada celah sinaps atau pada neuro muscular junction yang secara umum bersifat irreversible akan menyebabkan acetylcholine tidak cepat didegradasi menjadi acetyl co-A dan cholin agar dapat didaur ulang kembali. Akibat dari acetylcholine yang tidak cepat didaur ulang ini menyebabkan impuls listrik dari ujung saraf akan terus dikirim ke saraf sekitarnya atau end target berupa otot akan terus berkontraksi (Ganong, 2008). Kontraksi otot yang terus menerus terjadi ini membutuhkan energi yang besar dimana kebutuhan energi dapat terpenuhi apabila glukosa sebagai sumber energi yang bisa dengan cepat dimetabolisme untuk menghasilkan ATP dari pada sumber energi yang lain seperti lemak ataupun protein di hambat produksinya oleh tannin yang berikatan secara reversible dengan enzim α -amylase sehingga kebutuhan ATP sel otot tidak dapat terpenuhi dan mempercepat kematian nyamuk.

Hasil pengujian data yang diperoleh dengan menggunakan uji statistik Repeated Measure GLM pada kematian sampel nyamuk akibat spray kombinasi ekstrak batang serai wangi dan ekstrak biji pinang muda didapatkan hasil bahwa kombinasi ekstrak batang serai wangi dan ekstrak biji pinang muda dalam bentuk spray memiliki pengaruh yang terhadap kematian nyamuk *Aedes aegypti*. Hal itu dapat dilihat dari nilai sig. 0,000 yang lebih rendah dari nilai α sebesar 0,05 sehingga dapat disimpulkan bahwa kombinasi ekstrak batang serai wangi dan ekstrak biji pinang muda

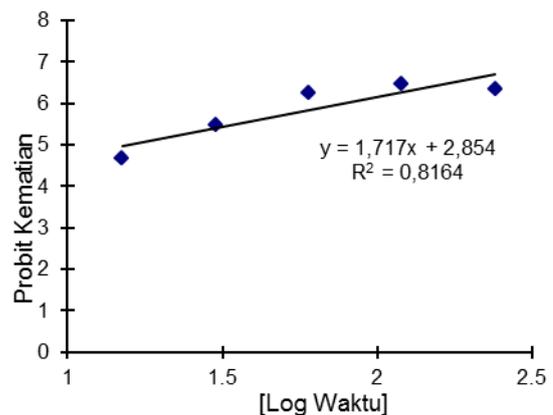
dalam bentuk spray memiliki pengaruh terhadap kematian nyamuk *Aedes aegypti*. Pengaruh kombinasi ekstrak terhadap kematian sampel nyamuk bila dibandingkan dengan pengaruh ekstrak serai wangi yang berdiri sendiri maupun ekstrak biji pinang muda secara berdiri sendiri masih lebih baik secara kombinasi. Hal itu dapat dilihat dari nilai error berdasarkan uji GLM diantara ketiga jenis ekstrak tersebut, yaitu nilai error ekstrak serai wangi sebesar 21.667, nilai error ekstrak biji pinang muda sebesar 32.333 dan sedangkan error kombinasi ekstrak batang serai wangi dan ekstrak biji pinang muda sebesar 17.333. Meskipun ada perbedaan berdasarkan nilai error namun berdasarkan Post Hoc Tukey diantara ketiga jenis bahan ekstrak tersebut tidak berbeda secara signifikan karena nilai p-value atau sig. dari ketiga jenis bahan tersebut $0,404 > 0,05$.



Gambar. Probit LC 50 kombinasi ekstrak batang serai wangi dan ekstrak biji pinang muda.

Pada uji statistik Probit Analysis untuk mengetahui dosis efektif yang telah ditentukan yaitu dosis konsentrasi ekstrak yang dapat membunuh nyamuk sebanyak 50 % atau LC50 didapatkan bahwa konsentrasi kombinasi ekstrak batang serai wangi dan ekstrak biji pinang muda dengan perbandingan 1:1 yang dapat membunuh nyamuk *Aedes aegypti* sebesar 50 % dari sampel adalah pada konsentrasi 1.329 ppm. Sedangkan waktu yang dibutuhkan untuk dapat membunuh 50 % dari populasi sampel dengan menggunakan kombinasi ekstrak batang serai wangi dan ekstrak biji pinang muda dalam bentuk spray atau LT50 adalah sebesar 17,795 menit setelah intervensi. LT50 pada spray dengan menggunakan ekstrak batang serai wangi membutuhkan waktu sebesar 27,490 menit setelah intervensi dan pada pemberian spray ekstrak biji pinang muda memiliki LT50 sebesar 56,967 menit. Berdasarkan lethal time dari ketiga jenis ekstrak tersebut dapat diketahui bahwa LT50 kombinasi ekstrak batang serai wangi dan ekstrak biji pinang

muda paling rendah atau paling toksis diikuti ekstrak batang serai wangi dan ekstrak biji pinang muda.



Gambar Grafik LT50 kombinasi ekstrak batang serai wangi dan ekstrak biji pinang muda.

Pengaruh ketiga jenis ekstrak terhadap kematian sampel nyamuk dapat diketahui perbedaan pengaruhnya signifikan atau tidak dengan menggunakan Post Hoc Tukey sebagai berikut:

Tabel 1. Pengaruh jenis ekstrak berdasarkan terhadap kematian nyamuk

Bahan	N	Subset
		1
Kombinasi	45	15.82
Batang serai wangi	45	16.36
Biji pinang muda	45	15.96
Sig.		.404

Berdasarkan hasil dari Post Hoc Tukey tersebut dapat diketahui bahwa dari ketiga jenis ekstrak tersebut tidak memiliki perbedaan yang signifikan untuk mempengaruhi kematian nyamuk *Aedes aegypti*. Hal itu dapat diketahui dari nilai p-value sebesar 0,404 yang lebih besar dari nilai α sebesar 0,05. Hasil uji dengan menggunakan Repeated Measure GLM dari masing –masing jenis ekstrak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap kematian sampel nyamuk, namun bila dilihat dari Post Hoc Tukey dari ketiga jenis ekstrak tidak memiliki perbedaan yang signifikan. Berdasarkan hasil uji tersebut dapat disimpulkan bahwa ketiga jenis ekstrak tersebut memiliki pengaruh yang signifikan terhadap kematian sampel nyamuk namun pengaruh ketiga jenis ekstrak tersebut tidak berbeda secara signifikan satu sama lain. Pengaruh jenis ekstrak serta konsentrasi dari

masing-masing ekstrak terhadap kematian sampel nyamuk dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu lamanya paparan atau waktu, faktor lingkungan seperti suhu, kelembaban dan angin atau juga faktor individu dari sampel nyamuk itu sendiri. Faktor lamanya waktu terpapar ikut diteliti pada penelitian ini, sedangkan faktor lingkungan tidak diteliti namun dikendalikan di laboratorium sehingga relative tidak berubah dan kecil kemungkinan mempengaruhi hasil. Sedangkan faktor individu dari sampel nyamuk tidak diteliti dan sangat mungkin mempengaruhi hasil penelitian ini. Faktor makhluk hidup atau faktor individu nyamuk dalam hal ini berkaitan dengan toksokinetik dan toksodinamik yang terjadi pada ketiga jenis ekstrak tersebut.

Toksokinetik berkaitan dengan proses perjalanan toksin (jenis ekstrak) mulai dari proses spray sampai dengan toksin berikatan dengan reseptor di target organ. Sedangkan toksodinamik berkaitan dengan proses biologi yang terjadi terhadap toksin setelah berikatan dengan reseptor sampai dengan dimetabolisme oleh tubuh makhluk hidup sampai dengan di ekskresi (Hodgson, 2011). Proses toksokinetik dimulai saat nyamuk ter-ekspos oleh toksin (Ekstrak batang serai wangi, ekstrak biji pinang muda atau kombinasi) melalui kulit, masuk sub-dermis dan ikut peredaran darah dan limfe ke seluruh tubuh sampai dengan target organ. Selama proses ini tidak semua toksin sampai dengan konsentrasi dan jumlah yang sama. Karen tentu nyamuk memiliki system pertahanan atau system imun mulai dari kulit sampai dengan target organ terhadap semua benda asing yang masuk ke dalam tubuhnya. Proses toksodinamik dimulai terhadap toksin yang telah berikatan dengan reseptor spesifik untuk dimetabolisme di dalam liver dan diekskresikan melalui system ekskresi nyamuk dalam bentuk metabolit sekunder. Kedua proses inilah yang menyebabkan adanya perbedaan respon nyamuk terhadap jenis ekstrak dan perbedaan konsentrasi dari masing-masing jenis ekstrak maupun lamanya waktu paparan nyamuk dengan toksin (Hodgson, 2011).

Desain penelitian faktorial ini ada dua variabel bebas yaitu variabel konsentrasi dan variabel waktu observasi yang diperlakukan secara bersama-sama terhadap variabel terikat yaitu jumlah kematian nyamuk. Pada uji Pos Hoc Tukey untuk mengetahui variabel yang mana diantara variabel konsentrasi dan waktu yang mempengaruhi kematian nyamuk didapatkan hasil sebagai berikut. Hasil Pos Hoc Tukey variabel konsentrasi terhadap kematian sampel nyamuk didapatkan hasil

bahwa dari ketiga macam konsentrasi yang dipakai dalam penelitian yaitu konsentrasi 1.000 ppm, konsentrasi 5.000 ppm dan konsentrasi 10.000 ppm didapatkan hasil bahwa pengaruh yang paling besar adalah pada konsentrasi 10.000 atau konsentrasi terbesar sehingga dapat diartikan bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak maka akan semakin besar pengaruhnya terhadap kematian nyamuk. Sedangkan variabel waktu berdasarkan hasil Post Hoc Tukey didapatkan hasil bahwa variabel durasi waktu observasi atau time effect terhadap kematian nyamuk dapat dikatakan bahwa waktu observasi pada menit ke 60 setelah intervensi sampai dengan menit ke 240 tidak memiliki perbedaan pengaruh yang signifikan, sedangkan pada menit ke-15 dan menit ke-30 memiliki perbedaan pengaruh yang signifikan.

Pengaruh waktu yang berbeda secara signifikan antara time effect menit ke-15 sampai menit ke-60, sedangkan pada menit ke-60 sampai dengan menit ke-240 berbeda namun tidak signifikan sangat mungkin terjadi karena pengaruh faktor farmakodinamik dari toksin tersebut dalam tubuh nyamuk. Suatu toksin yang masuk dalam tubuh makhluk hidup akan mengalami proses metabolisme dan ekskresi oleh makhluk hidup tersebut (Hodgson, 2011). Hasil metabolisme zat racun dalam tubuh serangga akan dibuang melalui pembuluh Malphigi yang merupakan organ ekskretori pada serangga. Proses metabolisme dan ekskresi ini mempengaruhi toksisitas racun yang masuk dalam tubuh serangga sehingga akan mempengaruhi dampak racun terhadap serangga itu sendiri. Lamanya proses metabolisme dan ekskresi ini akan mempengaruhi konsentrasi racun dalam tubuh serangga dan efek toksik dari racun tersebut (Hadi, 2009).

Hasil uji statistik yang sudah dilakukan didapatkan bahwa pengaruh potensi ekstrak biji pinang muda (*Areca catechu L*) dalam bentuk spray sebagai bioinsektisida alami nyamuk *Aedes aegypti* efektif untuk membunuh nyamuk dengan tingkat signifikansi mencapai $0.000 < 0.005$ sehingga dinyatakan bahwa terdapat pengaruh antara ekstrak biji pinang muda terhadap kematian nyamuk *Aedes aegypti* dengan nilai error sebesar 32.333. Pada uji statistik Probit Analysis untuk mengetahui dosis efektif yang telah ditentukan yaitu dosis konsentrasi ekstrak yang dapat membunuh nyamuk sebanyak 60 % atau LC60 sampai dengan 90 % atau LC92 dalam waktu 240 menit setelah intervensi didapatkan bahwa konsentrasi ekstrak biji pinang muda yang dapat membunuh nyamuk *Aedes aegypti* sebesar 60 % dari sampel adalah pada

konsentrasi 4.775 ppm. Sedangkan konsentrasi ekstrak biji pinang muda dalam bentuk spray yang dapat membunuh sampel nyamuk sebesar 92 % adalah pada konsentrasi 7.731 ppm. Rentang konsentrasi ekstrak biji pinang muda dalam bentuk spray yang dapat membunuh sampel nyamuk antara 60% sampai dengan 92 % tersebut merupakan dosis efektif yang dapat dipergunakan untuk mengendalikan nyamuk *Aedes aegypti*.

Hasil penelitian memperkuat hasil penelitian yang dilakukan peneliti sebelumnya yang menyatakan bahwa tannin yang terdapat dalam ekstrak biji pinang muda dapat dipergunakan sebagai bahan alternatif pengganti insektisida sintetik yang tidak ramah terhadap kesehatan, lingkungan dan juga memiliki dampak residu yang berbahaya. Hasil penelitian ini juga dikuatkan dengan hasil penemuan penelitian sebelumnya dengan menggunakan ekstrak biji pinang muda terhadap persentase mortalitas larva *Aedes aegypti* didapatkan bahwa pada konsentrasi 6,25% adalah 0%, pada konsentrasi 12,5% memiliki prosentase kematian larva sebesar 12%, pada konsentrasi 25% memiliki prosentase kematian larva sebesar 45%, pada konsentrasi 50% memiliki prosentase kematian larva sebesar 92% dan konsentrasi 100% memiliki prosentase kematian larva sebesar 100%. Infusa biji buah pinang pada konsentrasi 100% memiliki aktivitas larvasida terhadap *Aedes aegypti* yang serupa dengan temefos dan disimpulkan bahwa infusa biji buah pinang mempunyai aktivitas sebagai larvasida *Aedes aegypti*.

Penggunaan bioinsektisida alami termasuk salah satunya ekstrak biji pinang muda merupakan suatu hal yang positif dalam rangka pengurangan penggunaan insektisida. Hal tersebut dikarenakan penggunaan insektisida sintetik tidak selalu memiliki dampak positif bagi penggunanya yaitu manusia kondisi tersebut sesuai dengan hasil penelitian terdahulu yang sudah dilakukan mengenai dampak kesehatan yang terjadi dengan penggunaan pestisida sintetik yang menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang signifikan antara jenis pestisida yang digunakan, lama kerja dan frekuensi penyemprotan dengan keluhan kesehatan petani.

Berdasarkan beberapa penelitian yang sudah ada diatas didapatkan bahwa ekstrak biji pinang muda merupakan salah satu bahan yang efektif untuk membunuh nyamuk dan larva dari *Aedes aegypti*. Tingkat efektifitas penggunaan biji pinang muda sebagai bioinsektisida alami untuk nyamuk *Aedes aegypti* masih lebih rendah dari pada

penggunaan ekstrak batang serai wangi dan kombinasi antara ekstrak biji pinang muda dan ekstrak batang serai wangi. Hal tersebut terlihat dari error penelitian yang ada yaitu menunjukkan error paling besar diantara penggunaan ekstrak batang serai wangi maupun hasil kombinasi ekstrak biji pinang muda dan ekstrak batang serai wangi.

Kombinasi atau campuran ekstrak batang serai wangi (*Cymbopogon nardus*) dan ekstrak biji pinang muda (*Areca catechu L*) dengan perbandingan 1:1 memiliki kemampuan sebagai bioinsektisida alami terhadap nyamuk *Aedes aegypti*. Hal itu dapat dilihat dari hasil pengamatan kematian nyamuk tiap unit perlakuan dengan menggunakan kombinasi ekstrak batang serai wangi dan ekstrak biji pinang muda dengan perbandingan 1:1 pada konsentrasi 1.000 ppm, 5.000 ppm dan 10.000 ppm. Hasil uji statistik yang sudah dilakukan menggunakan aplikasi SPSS dengan uji statistik GLM (General Linier Model) didapatkan bahwa pengaruh potensi ekstrak kombinasi/campuran ekstrak batang serai wangi (*Cymbopogon nardus*) dan ekstrak biji pinang muda (*Areca catechu L*) dalam bentuk spray sebagai bioinsektisida alami nyamuk *Aedes aegypti* sebesar 0.000. Nilai tingkat signifikansi 0.000 lebih kecil dari pada nilai T Tabel yang sudah ditentukan yaitu 0.005 sehingga H3 diterima yang menyatakan bahwa Kombinasi ekstrak batang serai wangi (*Cymbopogon nardus*) dan ekstrak biji pinang muda (*Areca catechu L*) memiliki potensi sebagai bioinsektisida alami nyamuk *Aedes aegypti*.

Kesimpulan Dan Saran

1. Hasil uji statistic Repeated Measure GLM pada penelitian ini memberi bukti bahwa terdapat pengaruh yang signifikan antara variabel konsentrasi ekstrak batang biji pinang muda dan waktu observasi dalam bentuk spray sebagai bioinsektisida terhadap jumlah kematian sampel nyamuk *Aedes aegypti*.
2. Pada penelitian ini waktu observasi hanya sampai pada observasi menit ke-240 setelah intervensi, sedangkan menurut WHOPES ekstrak alami dari tumbuhan yang diujikan terhadap vector nyamuk sebaiknya diuji selama 24-48 jam sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut sesuai dengan panduan WHO.
3. Penelitian lebih lanjut terkait kemungkinan dampak negative dari penggunaan ekstrak batang biji pinang muda dalam bentuk spray terhadap

hewan non target termasuk dampak terhadap manusia perlu juga dilakukan untuk mengetahui keamanan ekstrak tersebut bila diaplikasikan secara luas di masyarakat.

Daftar Pustaka

- Atta, JP & Mannolo, MMQ. In Vitro Evaluation of Areca catechu Essential Oil Against Leaf Disease Fungus of Narra (*Pterocarpus indicus* Wild). *Int.Res.J.Biological Sci.* 3 (8): 56-59. College Laguna : University of the Philippines Los Banos; 2014
- Daniel, Cong, dkk. Optimal Extraction and Evaluation on The Oil Content of Citronella Oil Extracted from Areca catechu. *Malaysia. The Malaysian Journal of Analytical Sciences*; 2015.
- Ernest, Hodgson. *A Textbook of Modern Toxicology* Fourth Edition. North Carolina University. John Wiley & Sons. 2011.
- Johan, P.R. *Profil Kesehatan Indonesia. Katalog Dalam Terbitan.* Jakarta: Kemenkes RI ; 2016.
- Mahyuni, EL. Faktor Resiko Dalam Penggunaan Pestisida Terhadap Keluhan Kesehatan Petani di Kecamatan Berastagi Kabupaten Karo 2014. *Jurnal Kesmas* 9 (1): 79-89. Medan : Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Sumatera Utara; 2014.
- Moctezuma, Correll & Hammerbacker, A. 2014. Specific Polyphenols and Tannins are Associated with Defense Against Insects Herbivores in the Tropical Oak *Quercus oleoides*. *J Chem Ecol.* New York : Springer Science and Business Media.
- Niluh, Arcani, dkk. Efektifitas Ekstrak Etanol Biji pinang muda (*Areca catechu*) sebagai Larvasida *Aedes aegypti*. Denpasar. *E-Jurnal Medika Udayana*; 2017.
- Notoatmodjo, S. *Metodologi Penelitian Kesehatan.* KDT. Jakarta : Rineka Cipta; 2012.
- Peng, Wei, . 2014. *Areca catechu L. (Areaceae): A Review of Its Traditional Uses, Botany, Phytochemistry, Pharmacology and Toxicology.* *Journal of Ethnopharmacology.* 164 (2015): 340-356. Chengdu : Chengdu University of Traditional Chinese Medicine.
- Perumalsam, H. Larvicidal Activity of Compounds Isolated from *Asarum heterotrophoides* Against *Culex pipiens pallens*, *Aedes aegypti*, and *Ochlerotatus togoi*. *Jurnal of Medicine Entomology.* Seoul : Seoul National University; 2017.
- Prasetyowati, H & Hendri, J. Status Resistensi *Aedes aegypti* (Linn.) Terhadap Organofosfat di Tiga Kotamadya DKI Jakarta. *Jurnal. Pangandaran : Loka Litbang P2B2 Ciamis* ;2016.
- Sukanto dan Suheryadi. Biji pinang muda () sebagai Penghasil Minyak Atsiri, Tanaman Konservasi dan Pakan Ternak. Bogor. *Posiding Seminar Nasional*; 2011.
- Victor, Rodwell, dkk. *Biokimia Harper Edisi 30.* Jakarta. Penerbit Buku Kedokteran, EGC. 2008
- Victor, W, Rodwell. 2008. *Biokimia Harper Edisi 30.* Jakarta. Penerbit Buku Kedokteran, EGC.