

EFEKTIVITAS EKSTRAK ETANOL DAUN SIRIH MERAH (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) SEBAGAI REPELEN TERHADAP NYAMUK *Aedes aegypti*

Mayang Rustia Anggraini Putri¹, Erida Wydiamala^{2,3}, Lisda Hayatie^{2,3}

¹Program Studi Kedokteran Program Sarjana, Fakultas Kedokteran, Universitas Lambung Mangkurat Banjarmasin

²Departement Mikrobiologi dan Parasitologi Fakultas Kedokteran, Universitas Lambung Mangkurat Banjarmasin

³Unit Pusat Riset Fakultas Kedokteran, Universitas Lambung Mangkurat Banjarmasin

Email koresspondensi: rustiaap@gmail.com

Abstract: *Dengue Hemorrhagic Fever (DHF) is a disease caused by the dengue virus and transmitted through the bite of the Aedes aegypti mosquito. One effective option to prevent the transmission of the disease is by avoiding the bite of the Aedes aegypti mosquito by using a repellent-type insecticide. The use of chemical insecticides widely circulated in the market often has negative effects, such as irritation to the skin. Red betel leaf contains several active compounds that may act as contact poisons and are effective as repellents. The purpose of this study was to test the effectiveness of ethanol extract of red betel leaf against Aedes aegypti mosquitoes. This study was an true experimental post-test only with a control group design, consisting of 4 concentrations of ethanolic extract of red betel leaf (12.5%, 25%, 50%, 100%), DEET 15% K(+), and aquades K(-) with four replications. Serial concentrations ethanol extract of red betel leaf K(+), and K(-) were applied to the back skin of mice exposed to mosquitoes for 5 minutes for every minute. The concentration of 100% at every minute had no significant difference with the positive control ($p>0.05$). The conclusions from this research were red betel leaf ethanol extract with concentrations of 12.5%, 25%, 50%, and 100% was effective as a mosquito repellent Aedes aegypti, and red betel leaf ethanol extract with a concentration of 100% was equivalent to 15% DEET.*

Keywords: *Red Betel, Repellent, Aedes Aegypti*

Abstrak: Demam berdarah dengue (DBD) merupakan penyakit yang di sebabkan oleh virus dengue dan di tularkan melalui gigitan nyamuk *Aedes aegypti*, Salah satu cara yang paling efektif untuk mencegah penularan penyakit ini adalah dengan cara menggunakan repelen untuk mencegah gigitan nyamuk *Aedes aegypti*. Penggunaan insektisida kimiawi yang banyak beredar di pasaran sering memberikan efek negatif antaralain dapat mengiritasi kulit. Daun sirih merah memiliki kandungan senyawa aktif yang kemungkinan berperan sebagai racun kontak dan efektif sebagai repelen. Tujuan penelitian adalah untuk menguji efektifitas repelen ekstrak etanol daun sirih merah terhadap nyamuk *Aedes aegypti*. Penelitian merupakan penelitian yang bersifat *true experimental post test only with control group design*, terdiri dari 4 konsentrasi ekstrak

etanol daun sirih merah (12,5%, 25%, 50%, 100%), DEET 15% K (+), dan aquades K (-) dengan pengulangan 4 kali. Serial konsentrasi ekstrak etanol daun sirih merah, K (+), dan K (-) dioleskan ke kulit punggung mencit yang dipaparkan nyamuk selama 5 menit pada semua menit. Konsentrasi 100% pada semua menit tidak memiliki perbedaan bermakna dengan kontrol positif ($p > 0,05$). Simpulan dari hasil penelitian adalah ekstrak etanol daun sirih merah dengan konsentrasi 12,5%, 25%, 50%, dan 100% efektif sebagai repelen nyamuk *Aedes aegypti* dan ekstrak etanol daun sirih merah dengan konsentrasi 100% efektif sebagai repelen setara dengan DEET 15%.

Kata-kata kunci: Sirih Merah, Repelen, *Aedes Aegypti*

PENDAHULUAN

Demam berdarah dengue (DBD) merupakan penyakit yang disebabkan oleh virus dengue dan penularan demam berdarah dari gigitan nyamuk. Daerah yang sering terjadi demam berdarah dengue umum beriklim tropis dan subtropics. Gigitan nyamuk *Aedes aegypti* dan *Aedes albopictus* membawa virus dengue tersebut. Vektor utama DBD adalah *Aedes aegyptii* yang berjenis betina, nyamuk ini menyukai darah manusia dari pada hewan (antropofilik) dan memiliki kebiasaan menghisap darah berulang kali.¹

Pada tahun 2007, demam berdarah ditemukan di 65 negara, dengan jumlah kasus tahunan rata-rata 925.896, menurut Organisasi Kesehatan Dunia (WHO).² data Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, jumlah kasus DBD di Indonesia berfluktuasi karena jumlah DBD tahun 2017 mengalami penurunan dibandingkan dengan DBD tahun 2016.³ Pada tahun 2016, Kementerian Kesehatan Republik Indonesia menemukan bahwa 201.885 orang terinfeksi demam berdarah di seluruh wilayah Indonesia, di mana 1.585 pasien di antaranya meninggal karena serangan virus dengue dengan menginfeksi tubuh manusia dengan nyamuk *Aedes aegypti*. Jumlah kasus demam berdarah juga meningkat di beberapa negara

bagian.⁴ Provinsi Kalimantan Selatan salah satu provinsi yang mengalami peningkatan kasus atau kejadian luar biasa (KLB) DBD, dengan jumlah kasus DBD di 13 kabupaten dan kota mencapai 1080 kasus pada tahun 2013, 11 orang diantaranya meninggal dunia. Pada tahun 2014, jumlah kasus DBD mencapai 828 kasus, dengan 17 diantaranya meninggal dunia, tercatat sebagai salah satu provinsi case fatality rate (CFR) tertinggi. Pada tahun 2015 kasus DBD meninggal dunia dengan Incidences Rate (IR) sebesar 95,36/ 100.000 penduduk dengan CFR sebesar 1,09%, sedangkan pada 2016 yang meninggal dunia sebanyak 22 orang dengan IR 86,62 dan CFR sebesar 0,66% per 100.000 populasi.⁵

Upaya pemerintah Indonesia dalam pengendalian penyakit demam berdarah dengue melalui pelayanan kesehatan telah menyebarluaskan kepada masyarakat luas tentang pengendalian vektor dengue yang dapat dilakukan oleh masyarakat sekitar secara mandiri. Program ini dikenal dengan Penghancuran sarang nyamuk dengan menyegel, membuang dan mendaur ulang plus (PSN3M Plus) Plus adalah jenis tindakan pencegahan khusus seperti memelihara ikan yang memakan jentik nyamuk, diimplementasikan obat anti

$$DT \text{ Nyamuk} = \frac{\text{Jumlah nyamuk hinggap pada kontrol} - \text{jumlah yang hinggap pada perlakuan}}{\text{Jumlah yang hinggap pada kontrol}} \times 100\%$$

nyamuk, memasang jarring kawat di jendela dan ventilasi, serta gotong royong membersihkan lingkungan.² Masyarakat perkotaan dan pedesaan telah melakukan perlindungan diri dengan menggunakan antinyamuk bakar, eros ol, dan repelen. Repelen adalah bahan aktif yang memiliki fungsi untuk mencegah dan melindungi manusia dari gigitan serangga. Repelen di bagi menjadi dua kategori yaitu kimia dan alami. Produk repelen yang biasa digunakan di pasaran adalah bentuk lotion, minyak dan krim. Bahan yang terkandung di dalam repelen biasanya DEET. DEET (*diethylmetatoluamide*) adalah bahan yang sering di pakai sebagai repelen atau pengusir nyamuk kimia. Kerugian dari penggunaan DEET adalah dapat menimbulkan dampak yang negatif terhadap kesehatan manusia, seperti iritasi kulit dan gatal-gatal pada manusia sehingga perlu bahan lain yang berefek repelen dan memiliki efek samping minimal seperti bahan alam.⁶

Beberapa famili tumbuhan yang dianggap sumber potensial repelen alami adalah *Laminaceae*, *Piperaceae* dan *Zingiberaceae*. Daun sirih merah termasuk dalam family *Piperaceae*.^{7,8,9} bahan aktif yang terdapat di daun sirih merah antarlain flavonoid, alkaloid, tanin, polifenol dan minyak atsiri¹⁰ memiliki kemampuan sebagai racun kontak terhadap larva, sehingga mampu menjadi repelen.¹⁰

Menurut penelitian Betrion (2013), daun sirih hijau (*Piper betle L*) mengandung senyawa kimia diantaranya flavonoid, minyak atsiri, folipenol, tanin, alkaloid, dan saponin. Dari serbuk daun sirih hijau terbukti menjadi ekstrak yang paling aktif terhadap kematian larva nyamuk *Aedes aegypti* instar IV.¹¹

Daun sirih merah adalah tanaman asli Peru (Amerika Selatan), namun keberadaannya di Indonesia tidak diketahui secara pasti. Sirih merah dapat tumbuh di iklim dingin. Sirih merah tumbuh dengan baik di bawah sinarmatahari 60-70% dan sulit tumbuh di daelah iklim panas.¹²

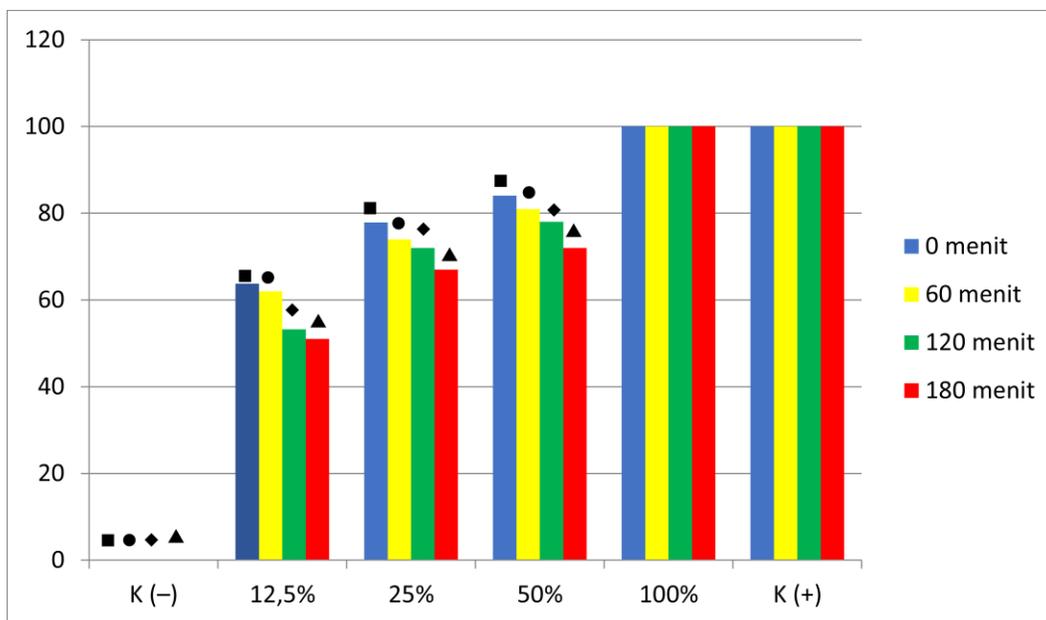
Penelitian terkait tanaman daun sirih merah sampai saat ini belum pernah dilakukan uji aktivitas sebagai repelen. Berdasarkan latar belakang diatas, peneliti tetarik lakukan penelitian tentang efektivitas ekstrak etanol daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) sebagai repelen terhadap nyamuk *Aedes aegypti*.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini bersifat *eksperimental post test only with control group design* Penelitian ini dengan enam perlakuan, yaitu empat konsentrasi ekstrak daun sirih merah yaitu 12,5%, 25%, 50%, dan 100 DEET 15 % (kontrol positif dan *aquadest* (kontrol negatif). Semua perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak empat kali berdasarkan perhitungan menurut rumus Federrer¹³

Subjek penelitian ini adalah nyamuk dewasa *Aedes aegypti* betina berumur 5 hari dari *strain Liverpool* yang, dipuaskan dan dipastikan bebas dari virus dengue. Nyamuk dewasa *Ae. aegypti* tersebut ditetaskan dari telur yang dikolonisasi di Laboratorium Parasitologi FK Unlam Banjarmasin. Telur *Aedes aegypti* tersebut diperoleh dari Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor.

Penelitian ini menggunakan daun sirih merah yang tidak terlalu tua, tidak rusak, dan busuk yang kemudian dicuci dan dikeringkan, lalu dihaluskan dengan blender



Gambar 5.1 Efektivitas Repelen Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah pada Konsentrasi 12,5%, 25%, 50%, 100%, K(-), K(+) terhadap Nyamuk *Aedes aegypti* selama 0 Menit, 60 Menit, 120 Menit, dan 180 Menit Pemaparan. Data disajikan rerata \pm SD (n=4). Data diikuti dengan hasil uji Pos-Hoc Mann-Whitney (simbol jika $p < 0,05$ terhadap K(+)). (K(+)= Kontrol positif (DEET 15%), K(-)=Kontrol negatif (auquadest)

sehingga menjadi serbuk simplisia. Selanjutnya serbuk di ekstrak menggunakan metode maserasi dengan etanol 70%, kemudian dilakukan pengadukan setiap 8 jam dan difiltrat, kemudian diremaserasi selama 24 jam dan diulangi 3 kali. Maserat yang didapatkan kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator*. Sediaan ekstrak kemudian dilakukan pengenceran dengan mencampurkan ekstrak daun sirih merdeng dengan *aquadest* sesuai besaran konsentrasi yang diperlukan

Penelitian dilakukan di laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Lambung Mangkurat. Periode penelitian dilakukan dari bulan Juli hingga Desember 2021. Metode pengumpulan data dilakukan dengan mengamati nyamuk yang hinggap pada kontrol, dikurangi jumlah nyamuk yang hinggap pada perlakuan dibagi jumlah nyamuk yang hinggap pada kontrol dibagi 100%. Perhitungan jumlah nyamuk yang

hinggap di hitung dalam 0 menit, 60 menit, 120 menit, dan 180 menit. Daya tolak nyamuk dihitung dalam rumus sebagai berikut: ¹⁴

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini telah mendapatkan surat layak etik dari komisi etik dengan No. 840/KEPK-FK ULM/EC/X/2021 (Lampiran 4) dan menggunakan bahan uji berupa ekstrak etanol tanaman sirih merah yang dideterminasi di laboratorium biologi Fakultas MIPA Universitas Lambung Mangkurat Banjarbaru dengan nomor sertifikat 166/LB.LABDASAR/X/2021. Proses pengeringan dan penghalusan bahan uji diperoleh 1000gram bubuk daun sirih merah dimaserasi lalu didapatkan ekstrak kental berwarna coklat kehitaman sebanyak 180 gram.

Teknik ekstraksi yang digunakan dalam penelelitian ini adalah Teknik maserasi.

Teknik maserasi adalah Teknik ekstraksi yang murah, sederhana dan peralatannya mudah didapat. Pelarut yang digunakan pada proses ekstraksi ini adalah etanol 70%. Pelarut yang dapat melarutkan banyak senyawa aktif dalam tumbuhan adalah air, etanol, dan methanol.^{15,16} Etanol dan methanol merupakan pelarut yang sangat baik melarutkan senyawa metabolit sekunder pada tanaman dibandingkan air. Sedangkan pelarut metanol bersifat toksik sehingga pada penelitian ini di pakai etanol 70% terdapat kandungan kandungan 70% dan air 30% sehingga penarikan senyawa aktif menjadi baik.^{17,18}

Dalam penelitian digunakan metode eksperimental dengan post test-only with control group design. Berdasarkan hasil pengamatan selama 3 jam didapatkan hasil sebagai berikut:

Gambar 5.1 menunjukkan gambaran dari grafik persentase repelen. Kontrol negatif tidak terdapat daya repelen. Kontrol positif menggunakan DEET 15% memiliki daya repelen dengan rerata sebesar 100%. Grafik tersebut umumnya terjadi peningkatan angka daya repelen seiring meningkatnya konsentrasi bahan uji. Grafik diatas menunjukkan pada konsentrasi 12,5%, 25%, dan 50% memiliki daya repelen $\leq 90\%$. Konsentrasi 100% memiliki daya repelen 100% pada seluruh waktu uji baik menit ke 0, menit ke 60, menit ke 120, dan menit ke 180. Hal tersebut menunjukkan hasil penelitian ini sesuai dengan standar ketentuan Komisi Pestisida Departemen Pertanian yang mensyaratkan bahan anti nyamuk memiliki aktivitas repelen sebesar $\geq 90\%$. Namun, penelitian ini tidak memenuhi persyaratan standar menurut Komite Pestisida Kementerian Pertanian (2012), bahan pengusir nyamuk memiliki efek perlindungan efektif 90% dalam 6 jam karena keterbatasan waktu penelitian hanya sampai 180 menit atau 3 jam.¹⁹

Berdasarkan hasil diatas, rerata persentase daya repelen meningkat seiring dengan bertambahnya konsentrasi, kemungkinan karena meningkatnya kandungan senyawa aktif pada daun sirih merah. Sesuai penelitian Shinta 2012 yang menyatkan bahwa semakin banyak konsentrasi dari kandungan bahan aktif yang terdapat dalam suatu tanaman, semakin besar kemampuan tanaman tersebut untuk menolak nyamuk. Menurut penelitian Musdalifah (2016) menggunakan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi semakin tinggi daya repelen.^{20,21}

Grafik diatas juga menunjukkan adanya penurunan persentase daya repelen seiring dengan bertambahnya waktu. Hal ini sesuai dengan penelitian Zen (2017) yang menyatakan bahwa repelen akan terabsorpsi pada kulit hewan uji karena dipengaruhi besar kecilnya pori-pori tubuh, semakin besar pori-pori maka repelen akan cepat terabsorpsi. Absorpsi juga akan menurun jika suhu tubuh pada hewan uji meningkat. Repelen akan terabsorpsi pada kulit karena proses tersebut dipengaruhi oleh ukuran pori tubuh.²² Hal ini sesuai dengan penelitian Ratnasari dari tahun 2014, hal ini juga menunjukkan bahwa semakin lama waktu perlakuan semakin kurang efektif minyak atsiri bunga kenaga sebagai repelen. Sehingga daya repelen tergantung kepada konsentrasi dan lama pemaparan.²³

Hasil daya repelen nyamuk dianalisis menggunakan SPSS 26. Dilakukan uji normalitas dan homogenitas dengan uji *Saphiro-Wilk dan Levene's test* pada hasil daya repelen nyamuk selama dilakukan pemaparan dalam waktu 0 menit, 60 menit, 120 menit, dan 180 menit. Hasil uji statistik *Shapiro-wilk* (Lampiran 9) pada menit ke 0 menunjukkan nilai signifikansi pada P1 (12,5%) sebesar $p = 0,458$, P2 (25%) sebesar $p = 0,123$, P3 (50%) sebesar $p = 0,192$, dan untuk P4 (100%) = 0. Berdasarkan hasil uji Shapiro wilk tersebut, data P1, P2, dan P3

berdistribusi normal karena memiliki nilai ($p > 0,05$), sedangkan P4 memiliki keseragaman nilai sehingga diasumsikan tidak berdistribusi normal. Hasil uji *Homogenitas Levene Test* didapatkan nilai signifikansi sebesar $p = 0,005$ yang menunjukkan bahwa data bersifat tidak homogen karena memiliki nilai ($p < 0,05$). Hasil data tidak berdistribusi normal dan tidak homogen, maka dilakukan transformasi data. Setelah data di transformasi, hasil uji normalitas dan homogenitas tetap tidak menunjukkan bahwa data berdistribusi normal dan homogen sehingga untuk analisis selanjutnya dilanjutkan dengan uji Non-Parametrik untuk uji beda k sampel bebas yaitu uji *Kruskall-Wallis*.

Hasil uji *Kruskal-Wallis* pada hasil daya repelen nyamuk selama 0 menit pemamparan didapatkan nilai sigifikansi sebesar $p = 0,002$, sedangkan 60 menit, 120 menit, dan 180 menit pemaparan didapatkan nilai signifikansi $p = 0,001$ ini menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan antara persentase daya repelen nyamuk pada kontrol negatif dengan P1, P2, P3, P4, dan kontrol positif karena memiliki nilai ($p < 0,05$). Oleh karena itu, uji statistik dapat dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* untuk mengetahui letak perbedaan antar perlakuan.

Berdasarkan hasil dari uji *Mann-Whitney* pada Hasil daya repelen nyamuk selama 0, 60, 120, dan 180 menit pemaparan menunjukkan antara kontrol negatif dengan P1, P2, P3 dan P4 memiliki nilai signifikansi ($p < 0,05$) yang menunjukkan terdapat perbedaan yang bermakna. Dari pernyataan tersebut, dapat ditarik kesimpulan bahwa konsentrasi 12,5%, 25%, 50% dan 100% memiliki aktivitas repelen.

Hasil uji *Mann-Whitney* terdapat kesamaan pada menit ke-0, 60, 120 dan 180. Hasil uji *Mann-Whitney* pada menit tersebut yaitu pemaparan menunjukkan bahwa perbandingan antara kontrol positif terhadap P1, P2 dan P3 memiliki nilai signifikansi ($p < 0,05$) yang menunjukkan bahwa terdapat

perbedaan yang bermakna antara kontrol positif dan P1, P2 dan P3. Dari hasil tersebut menunjukkan bahwa konsentrasi 12,5%, 25% dan 50% tidak memiliki aktivitas repelen setara dengan DEET 15%. Pada perbandingan antara kontrol positif dengan P4 pada menit ke 0, menit ke 60, menit ke 120, dan menit ke 180 didapat kesamaan nilai signifikansi sebesar $p = 1,000$ dimana nilai ($p > 0,05$), hal ini menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara kontrol positif dengan P4. Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa konsentrasi 100% memiliki aktifitas repelen yang setara dengan DEET 15%. Sehingga pada menit ke 0, 60, 120, dan 180 dapat disimpulkan bahwa, ekstrak etanol daun sirih merah dengan konsentrasi 12,5%, 25% dan 50% memiliki aktifitas repelen yang tidak setara dengan DEET 15%. Sedangkan ekstrak etanol daun sirih merah dengan konsentrasi 100% memiliki aktivitas repelen yang setara dengan DEET 15%.

Hampir semua tanaman memiliki bahan aktif yang dapat digunakan untuk pencegahan gigitan nyamuk.²⁴ Berdasarkan hasil uji fitokimia (lampiran 6), kandungan senyawa sekunder yang terdapat pada ekstrak etanol daun sirih merah yaitu flavonoid, dan fenol, tetapi berdasarkan penelitian sebelumnya oleh Puspa J (2019)²⁵, daun sirih merah memiliki kandungan alkaloid, tanin, dan steroid berdasarkan sifat dan ciri senyawa aktif tersebut, kandungan aktif daun sirih merah yang memiliki aktifitas repelen adalah flavonoid, alkaloid, dan tanin. Flavonoid memiliki bau khas yaitu menyengat dan berasa pahit yang dapat bertindak sebagai racun bagi perut. flavonoid masuk ke dalam permukaan tubuh serangga memalalui sistem pernafasan yang dapat menyebabkan kelayuaan pada sistem syaraf, lama kelamaan serangga tidak dapat bernafas dan mati. Oleh karena itu bau dan rasa pahit dari senyawa flavonoid, mencegah nyamuk mendekat dan menggigit.²⁶ Polifenol adalah senyawa dengan cincin aromatic yang

memiliki dengan satu atau lebih gugus hidroksil. Senyawa fenolik memiliki kemampuan untuk menghilangkan radikal bebas dan peroksida, sehingga berperan sebagai antioksidan dan efektif menekan oksidasi lipid.²⁷ Menurut penelitian oleh Gunawan (2021) daun sirih pada konsentrasi 100 ppm membunuh larva nyamuk *Aedes aegypti*.²⁸ Menurut teori, komponen senyawa yang diyakini dominan membunuh larva *Aedes aegypti* adalah eugenol dan chavicol, yang mengandung turunan fenolik (eugenol dan chavicol) yang terdapat pada daun sirih. Fenol memiliki efek sinergis yang membantu membunuh larva *Aedes aegypti*.²⁹

Batasan dari penelitian ini adalah tingkat aktivitas mencit. Tingkat aktivitas hewan uji mempengaruhi hinggap nyamuk. Semakin banyak hewan uji bergerak maka semakin tinggi daya repeleanya. Saat penelitian, mencit aktif bergerak sehingga nyamuk tidak dapat hinggap atau dapat hinggap tetapi hanya beberapa saat. Menurut penelitian Hutagalung yang memakai kelinci sebagai hewan uji mengatakan ada beberapa nyamuk yang tinggal cukup lama dan ada juga yang terbang sementara karena digigit nyamuk dan menghambat pergerakannya.³⁰

PENUTUP

Merujuk pada keseluruhan hasil dan pembahasan, dapat dibuat suatu simpulan bahwa, Ekstrak etanol daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) efektif sebagai repelen terhadap nyamuk *Aedes aegypti* pada konsentrasi 12,5%, 25%, 50%, dan 100%. Selain itu juga ekstrak etanol dari daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) efektif sebagai repelen terhadap nyamuk *Aedes aegypti* setara dengan DEET 15% pada konsentrasi 100%

Saran dari penelitian ini yaitu perlu dilakukan uji efektivitas repelen ekstrak etanol daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) terhadap nyamuk *Aedes aegypti* dengan menggunakan tangan

manusia, selain itu juga perlu dilakukan efektivitas repelen menggunakan ekstrak mintak atsiri dengan metode distilasi dari daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) untuk mencit dan manusia.

DAFTAR PUSTAKA

1. Tim Field Lab FK UNS. Modul Field Labprogram Pengendalian Penyakit Menular: Demam berdarah dengue. Journal of Petrology. 2013;1689–1699(369).
2. Priesley F, Reza M, Rusdji SR. Hubungan perilaku pemberantasan sarang nyamuk dengan menutup, menguras dan mendaur ulang plus (psn m plus) terhadap kejadian demam berdarah dengue (dbd) di Kelurahan Andalas. Journal Kesehatan Andalas. 2018;7(1):124.
3. Syamsir S, Pangestuty DM. Autocorrelation of spatial based dengue hemorrhagic fever cases in air putih area, Samarinda City. Journal Kesehatan Lingkungan. 2020;12(2):78.
4. Jacob, Sandjaya. Faktor - faktor yang mempengaruhi kualitas hidup masyarakat karubaga district sub district tolikara Propvinsi Papua. Jurnal Nasional Ilmu Kesehatan (Jnik). 2018;1(69):1–16.
5. Dinas Kesehatan Provinsi Kalimantan Selatan Banjarmasin. Data Kasus demam berdarah dengue (DBD) Provinsi Kalimantan Selatan. Banjarmasin: Dinas Kesehatan; 2016.
6. Fajarini DA, Murruckmihadi M. Uji aktivitas repelen minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum basilicum* (L.) f. (*Citratum back*) terhadap nyamuk *Aedes aegypti* dalam sediaan lotion dan uji sifat fisik lotion. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada. 2015; 20(2):91-97.
7. Handayni A. Keanekaragaman *Lamiaceae* berpotensi obat koleksi tanaman tumbuhan Kebun Raya Cibodas,

- Jawa Barat. Cibodas: UPT Balai Konsevasi Tumbuhan Kebun Raya. 2015; 1(6):1324-1327.
8. Widawati M. Sediaan losion minyak atsiri (*Piper betle L.*) dengan penambahan minyak nilam sebagai repelen nyamuk *Aedes aegypti*. Ciamis: Loka Litbang P2B2. 2014;10(02):77–82.
 9. Gurning DMR, Marsaulina MSI, Hasan W. Efektivitas ekstrak bunga kecombrang (*Etlingera elatior*) sebagai repellent nyamuk *Aedes aegypti*. Dosen Fakultas Kesehatan Masyarakat. Universitas Sumatera Utara 2016;4(1):1-11
 10. Hebert A, Yotopranoto S, Hamidah. Efektivitas ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix*), jeruk limau (*Citrus amblycarpa*), dan jeruk bali (*Citrus maxima*) terhadap larva *Aedes aegypti*. Jurnal Penelitian Penyakit Tular Vektor. 2014. 6(1): 1- 6.
 11. Betrion, Yayha. Potensi serbuk daun sirih (*Piper betel Linn*) sebagai lavarsida nyamuk *Aedes aegypti*. Fokus Utama. 2013; 20-8.
 12. Setiawan B, Zarqya I, Putro S, Khasanah F. The effect of red betel leaf's essential oil (*Piper crocatum Ruiz & Pav.*) against third instar *Aedes aegypti* larvae. Pakistan Journal of Medical and Health Sciences. 2019;13(4):1162–4.
 13. Federrer W. Statistic and society data collection and interpretation. 2nd ed. New York: Marcel Dekker; 1991.
 14. WHOPEs. Guidelines for Efficacy Testing of Mosquito Repellents for Human Skin. World Health Organization Pesticide Evaluation Scheme. 2009.
 15. Kumoro AC. Teknologi ekstraksi senyawa bahan aktif dari tanaman obat. Yogyakarta: Plantaxia; 2015.
 16. Martha K, Vika L, Maria N. Efektivitas ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle L.*) terhadap mortalitas larva nyamuk *Aniopheles sp.* Dan *Culex*. Molucca Medica 2012;4(1):88-105
 17. Tiwari P. Phytochemical screening and extraction: a review. Internationale Pharmaceutica Scientia. 2011;1(1)98-106.
 18. Aziz T, Febrizky S, Mario AD. Pengaruh jenis pelarut terhadap persen yield alkaloid dari daun salam India (*Murayya koenigio*). Teknik Kimia. 2014;2(20):1-6.
 19. Zen S, Asih T. Potensi ekstrak bunga tahi kotok (*Tagetes Erecta*) sebagai Repellent terhadap nyamuk *Aedes aegypti* yang aman dan ramah lingkungan. Lampung: Pendidikan Biologi FKIP Universitas Muhammadiyah Metro Jurnal Pendidik Biologi. 2017;8(2):142-149.
 20. Shinta. Potensi minyak atsiri daun nilam (*Pogostemon cablin B.*), daun babadotan (*Cananga odorata hook F & Thoms*) dan daun rosemary (*Resemarius officinalis L*) sebagai repelan terhadap nyamuk *Aedes aegypti L.* [Skripsi]. Jakarta: Media Litbang Kesehatan. 2012; 22(2): 61-69.
 21. Musdalifah. Uji efektivitas ekstrak kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) sebagai insektisida hayati terhadap nyamuk *Aedes aegypti* [Skripsi]. Makassar: UIN Alauddin Makassar; 2016.
 22. Dharmawan ESNA. Aktivitas lavarsida ekstrak etanol daun sirih merah (*Piper crocatum Ruiz & Pav.*) terhadap nyamuk *Aedes aegypti* [Skripsi]. Banjarmasin: Fakultas Kedokteran Universitas Lambung Mangkurat; 2017.
 23. Ratnasari N. Perbedaan efektifitas minyak atsiri bunga kenanga (*Cananga odorata*) sebagai repelan terhadap gigitan nyamuk *Aedes aegypti* dengan konsentrasi 5%, 15% dan 25% [Skripsi]. Denpasar: Universitas Udayana; 2014.
 24. Santya RNRE, Hendri J. Daya proteksi ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus hystrix*) terhadap nyamuk demam berdarah. Jakarta: Aspirator. 2013;5(2)61-6.
 25. Puspita Puspa J, Safithri M, Sugihartati Nirmala P, Aktivitas antibakteri ekstrak daun sirih merah 2019;5(3):1–10.

26. Hamzah SR. Uji efektifitas ekstrak daun sirih merah dan daun sirih hijau terhadap kematian larva *Aedes sp.* 2018;4.
27. Ayu, Nurdini DA. Efektivitas ekstrak kayu manis (*Cinnamomum burmanni*) terhadap kematian larva *Aedes sp.* 2015;3(2), 54–67. Retrieved from <http://repositorio.unan.edu.ni/2986/1/5624.pdf>.
28. Gunawan D, Kurniaty R. Pemanfaatan minyak atsiri daun sirih (*Piper Betle* Linn) sebagai anti nyamuk. *Journal of Pharmaceutical and Health Research.* 2021;2(2):46–9.
29. Oka Adi Parwata I, Rahayu Santi S, Sulaksana I, Alit Widiarthini I. Aktivitas larvasida minyak atsiri pada daun sirih (*Piper Betle* Linn) terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*. *Journal Kimia.* 2012;5(2):88–93.
30. Hutagalung D, Marsaulina I, Naria E. Pengaruh ekstrak daun kenikir (*Tagetes erecta* L.) sebagai *repellent* terhadap nyamuk *Aedes sp.* Medan: Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Sumatra Utara.2013