



Online: <https://jurnal.fk.uisu.ac.id/index.php/ibnusina>

Ibnu Sina: Jurnal Kedokteran dan Kesehatan-Fakultas Kedokteran Universitas
Islam Sumatera Utara

ISSN 1411-9986 (Print) | ISSN 2614-2996 (Online)



Artikel Penelitian

PERBANDINGAN EFEK LARVASIDA DAUN KEMANGI DENGAN PENGECER TWEEN 80 DAN PEG 400 TERHADAP LARVA AEDES AEGYPTI

COMPARISON OF LARVICIDAL EFFECT OF BASIL LEAVES IN ADDITION OF TWEEN 80 AND PEG 400 AGAINST AEDES AEGYPTI LARVAE

Listiana Masyita Dewi^a, Devan Adil Syah^b, Rohmadina Suci Bestari^a, Devi Usdiana Rosyidah^a

^aDosen Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Surakarta, Jl A. Yani Tromol Pos I, Surakarta, 57169, Indonesia

^bMahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Surakarta, Jl A. Yani Tromol Pos I, Surakarta, 57169, Indonesia

Histori Artikel

Diterima:
7 Juni 2024

Revisi:
29 Juni 2024

Terbit:
6 Juli 2024

A B S T R A K

Pengendalian populasi *Aedes aegypti* sebagai vektor DBD merupakan upaya utama memutus rantai penularannya. Namun, resistensi *Aedes aegypti* terhadap larvasida temephos mulai banyak terjadi. Diperlukan alternatif larvasida berbasis bahan alam sebagai larvasida, yaitu dari daun kemangi. Penambahan pengencer seperti Tween 80 dan PEG 400 diharapkan dapat meningkatkan efektivitasnya. Penelitian ini bertujuan membandingkan efektivitas ekstrak daun kemangi dengan penambahan Tween 80 dan PEG 400 terhadap larva *Aedes aegypti*. Metode penelitian yang digunakan adalah *post-test only controlled group design*. Larva *Aedes aegypti* yang digunakan sebanyak 700 ekor, terbagi dalam 7 kelompok perlakuan, dan 4 kali pengulangan. Konsentrasi ekstrak daun kemangi yang digunakan adalah 0.5% dan 1%. Analisa data menggunakan uji Kruskal Wallis dan uji post-hoc Mann Whitney. Hasil uji Kruskal Wallis didapatkan nilai $p < 0.05$. Hasil uji post-hoc Mann Whitney, perbandingan antara kelompok dengan penambahan Tween 80 dan PEG 400 didapatkan nilai $p < 0.05$, sedangkan perbandingan kelompok dengan penambahan Tween 80 dan kontrol positif didapatkan nilai $p > 0.05$. Sebagai kesimpulan, ekstrak daun kemangi dengan penambahan Tween 80 sama efektifnya dengan temephos sebagai larvasida terhadap *Aedes aegypti*, dan lebih superior dibandingkan ekstrak daun kemangi dengan penambahan PEG 400.

Kata Kunci

Larvasida,
Kemangi, Tween
80, PEG 400,
Aedes aegypti

A B S T R A C T

Controlling *Aedes aegypti* population, as Dengue fever vector, is the main effort to break the chain of transmission. However, *Aedes aegypti* has begun to develop resistance to temephos. Alternative of natural larvicides, such as basil leaves, are needed. The addition of Tween 80 or PEG 400 diluents is expected to increase their efficacy. This study aims to compare the efficacy of basil leaf extract with the addition of Tween 80 and PEG 400 against *Aedes aegypti* larvae. This is a post-test only controlled group study. There were 700 *Aedes aegypti* larvae used, divided into 7 treatment groups and 4 replicates. Basil leaf extract's concentration was 0.5% and 1%. Data analysis was performed using Kruskal-Wallis test and Mann-Whitney post-hoc test. The p-value from Kruskal-Wallis test was < 0.05 . The results of Mann Whitney post-hoc test, the comparison between the groups with the addition of Tween 80 and PEG 400 obtained a value of $p < 0.05$, while the comparison between the groups with the addition of Tween 80 and positive control obtained a value of $p > 0.05$. In conclusion, basil leaf extract with the addition of Tween 80 is as effective as temephos as a larvicide against *Aedes aegypti* and superior to basil leaf extract with the addition of PEG 400.

Korespondensi

Tel.
082225583689
Email:
Imd123@ums.ac.id

PENDAHULUAN

Demam Dengue atau Demam Berdarah Dengue (DBD) merupakan salah satu penyakit menular yang secara alamiah dapat ditemukan di daerah beriklim tropis dan subtropis, namun kini juga dapat ditemukan di daerah lain sebagai penyakit yang berhubungan dengan perjalanan (*travel related disease*). Risiko penyebaran penyakit ini lebih tinggi di daerah perkotaan dan pemukiman.¹ Hingga Agustus 2023, telah dilaporkan bahwa infeksi Dengue telah mencapai lebih dari 3,7 juta kasus dan bertanggung jawab atas lebih dari 2.000 kematian di seluruh dunia pada tahun 2023. Selain itu, wabah Dengue juga telah dilaporkan terjadi di India, Bangladesh, Afganistan, Kamboja, Cina, Laos, Malaysia, Nepal, Filipina, Singapura, Sri Lanka, Thailand, dan Vietnam.² Di Indonesia, jumlah kasus dan kematian akibat infeksi Dengue selama satu dekade terakhir berfluktuasi. Jumlah kasus DBD yang dilaporkan pada tahun 2023, hingga Agustus, telah mencapai 57.884 kasus, atau *incidence rate* (IR) 21,06 per 100.000 penduduk, sementara kematian akibat infeksi DBD dilaporkan sebanyak 422 kasus, atau *case fatality rate* (CFR) 0,73%.³

Seperti diketahui, sebagai penyakit yang ditularkan melalui vektor, DBD disebarkan oleh nyamuk, terutama *Aedes aegypti*. Oleh karena itu, pengendalian populasi *Aedes aegypti* menjadi fokus utama untuk memutus rantai penularan DBD. Penggunaan larvasida dianggap sebagai metode yang cukup efektif untuk tujuan ini.⁴ Namun, adanya resistensi atau pencemaran lingkungan sebagai efek samping negatif dari penggunaan larvasida menjadi tantangan baru.⁵

Kejadian resistensi *Aedes aegypti* terhadap temephos telah dilaporkan di beberapa wilayah, seperti Pakistan⁶, Ekuador⁷, dan Peru⁸. Resistensi ini diduga terjadi karena adanya keterlibatan polimorfisme pada gen GSTE2.^{9,10} Pencemaran lingkungan akibat penggunaan temephos dalam jangka panjang juga telah dilaporkan sebelumnya. Hal ini diduga karena temephos rentan terhadap fotooksidasi, yang menyebabkan kerusakan DNA dan dapat berdampak pada kelainan tubuh, terutama pada perkembangan neurologis, atau bahkan dapat menyebabkan efek genotoksik.^{11,12} Oleh karena itu, modifikasi vektor DBD, seperti nyamuk ber-*Wolbachia*¹³, atau penggunaan larvasida berbasis bahan alam, perlu dieksplorasi lebih jauh lagi.

Hal ini merupakan peluang besar bagi Indonesia untuk dapat mengembangkan tanaman obat herbal sebagai biolarvasida potensial dalam mengatasi tingginya angka infeksi DBD di Indonesia. Indonesia merupakan salah satu negara terbesar di Asia Tenggara yang juga merupakan negara tropis yang kaya akan keanekaragaman hayati, termasuk tanaman obat herbal.¹⁴ Di sisi lain, *World Health Organization* (WHO) juga mendukung tanaman obat herbal, sebagai bagian dari pengobatan tradisional, untuk digunakan sebagai terapi standar dalam sistem kesehatan nasional, jika telah terbukti aman dan efektif.¹⁵ Salah satu tanaman obat herbal Indonesia yang diduga memiliki efek larvasida adalah daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.). Selain jumlahnya yang melimpah, bahan ini juga diketahui mengandung sejumlah zat aktif seperti flavonoid, alkaloid, tanin, atau saponin yang bersifat larvasida.¹⁶ Studi

terdahulu menunjukkan bahwa ekstrak dikloromethan daun kemangi pada konsentrasi 150-500mg/ml memiliki efek larvasida tertinggi terhadap larva *Aedes aegypti* setelah pemaparan dalam 24 jam, serta pada sediaan krim dari daun kemangi berbasis dikloromethan menunjukkan adanya efek repellent pada konsentrasi 84.5%.¹⁷

Berdasarkan *WHO Guidelines for Laboratory and Field Testing of Mosquito Larvicides*, uji larvasida dapat dilakukan di laboratorium, sebagai uji tahap pertama untuk mengetahui biopotensi yang melekat pada bahan yang diformulasikan sebagai larvasida.¹⁸ Dengan cara ini, penambahan pengencer mungkin diperlukan untuk meningkatkan kelarutan bahan aktif dalam air yang merupakan media yang digunakan untuk pengujian. Oleh karena itu, dalam penelitian ini, akan dilakukan perbandingan efek larvasida ekstrak etanol daun kemangi dengan penambahan pengencer Tween 80 dan PEG 400 terhadap larva *Aedes aegypti*.

METODE

Penelitian ini bersifat eksperimental laboratoris dengan metode *post-test only controlled group design*. Tahapan penelitian dimulai dari proses ekstraksi, persiapan larva, uji larvasida, dan analisa statistik. Proses ekstraksi dilakukan di Laboratorium Farmakologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Muhammadiyah Surakarta, sedangkan persiapan larva dan uji larvasida dilakukan di Laboratorium Parasitologi, Fakultas

Kedokteran, Universitas Muhammadiyah Surakarta. Proses ekstraksi menggunakan metode maserasi, dan dihasilkan ekstrak dengan konsentrasi 0.5% dan 1%. Persiapan larva diawali dengan menetasakan telur nyamuk *Aedes aegypti*, kemudian ditunggu hingga 3 hari sambil diberi makan, hingga menjadi larva instar III, dan disiapkan 25 ekor larva untuk tiap kelompok penelitian. Uji larvasida menggunakan penambahan pengencer Tween 80 2% dan PEG 400 1%. Larva yang sudah siap dibagi dalam 7 kelompok, yaitu 1) kontrol positif (temephos), 2) kontrol negatif Tween 80, 3) kontrol negatif PEG 400, 4) Tween 80 + ekstrak etanol daun kemangi pada konsentrasi 0.5%, 5) Tween 80 + ekstrak etanol daun kemangi pada konsentrasi 1%, 6) PEG 400 + ekstrak etanol daun kemangi pada konsentrasi 0.5%, dan 7) PEG 400 + ekstrak etanol daun kemangi pada konsentrasi 1%. Perlakuan pada tiap kelompok dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali. Pengamatan dilakukan pada jam ke 6, 12, 18, dan 24. Analisis statistik menggunakan uji Kruskal Wallis dan uji post-hoc Mann Whitney. Penelitian ini telah memenuhi uji kelaikan etik dari Komisi Etik Fakultas Kedokteran, Universitas Muhammadiyah Surakarta, melalui surat nomor 4660/B.1/KEPK-FKUMS/XI/2023.

HASIL

Data jumlah kematian larva dari hasil uji larvasida, pada tiap interval 6 jam, ditabulasi dan disajikan dalam tabel 1.

Tabel 1. Uji Larvasida

Kelompok	Perlakuan	Jumlah kematian larva (dalam jam)				Persentase kematian larva dalam 24 jam
		6	12	18	24	
1	Kontrol positif (temephos)	25±0	25±0	25±0	25±0	100%
2	Kontrol negatif (Tween 80)	0±0	0±0	0±0	0±0	0%
3	Kontrol negatif (PEG 400)	0±0	0±0	0±0	0±0	0%
4	Tween 80 + ekstrak etanol daun kemangi konsentrasi 0.5%	7±1	12±1.155	19±0.975	25±0	100%
5	Tween 80 + ekstrak etanol daun kemangi konsentrasi 1%	24±1	25±0	25±0	25±0	100%
6	PEG 400 + ekstrak etanol daun kemangi konsentrasi 0.5%	4±0.577	7±0.957	10±0.577	11±0	44%
7	PEG 400 + ekstrak etanol daun kemangi konsentrasi 0.5%	5±0.577	8±0.500	11±0.577	13±0	52%

Tabel 2. Uji Post-hoc Mann Whitney

Kelompok	1	2	3	4	5	6	7
1		0,008*	0,008*	1,000	1,000	0,013*	0,013*
2	0,008*		1,000	0,008*	0,008*	0,013*	0,013*
3	0,008*	1,000		0,008*	0,008*	0,013*	0,013*
4	1,000	0,008*	0,008*		1,000	0,013*	0,013*
5	1,000	0,008*	0,008*	1,000		0,013*	0,013*
6	0,013*	0,013*	0,013*	0,013*	0,013*		0,037
7	0,013*	0,013*	0,013*	0,013*	0,013*	0,037	

Keterangan :

- 1 : Kontrol positif (temephos)
- 2 : Kontrol negatif (Tween 80)
- 3 : Kontrol negatif (PEG 400)
- 4 : Tween 80 + ekstrak etanol daun kemangi konsentrasi 0.5%
- 5 : Tween 80 + ekstrak etanol daun kemangi konsentrasi 1%
- 6 : PEG 400 + ekstrak etanol daun kemangi konsentrasi 0.5%
- 7 : PEG 400 + ekstrak etanol daun kemangi konsentrasi 0.5%
- * : berbeda signifikan

Dalam 24 jam pengamatan, terlihat bahwa kelompok perlakuan dengan penambahan pengencer Tween 80 memiliki tingkat kematian larva hingga 100%, sebagaimana pada kelompok kontrol positif. Meskipun demikian, kematian seluruh larva pada kelompok kontrol positif telah terlihat sejak 6 jam pengamatan, sedangkan pada kelompok perlakuan dengan penambahan pengencer Tween 80, hasil tersebut baru diperoleh setelah 24 jam pengamatan. Di sisi lain, pada kelompok perlakuan dengan penambahan pengencer PEG 400, tingkat kematian larva tertinggi setelah 24 jam pengamatan hanya mencapai 52%. Data tersebut

kemudian dianalisis dengan uji Kruskal Wallis dan diperoleh nilai $p < 0.05$. Dengan demikian uji statistik perlu dilanjutkan dengan uji post-hoc Mann Whitney. Hasil uji post-hoc Mann Whitney disajikan pada tabel 2.

DISKUSI

Data pada tabel 1 menunjukkan bahwa pada kelompok kontrol positif yang menggunakan temephos 1% sebagai larvasida, didapatkan hasil persentase kematian larva sebesar 100%. Semua larva *Aedes aegypti* pada kelompok ini bahkan mengalami kematian sejak 6 jam pertama pengamatan. Ini membuktikan bahwa temephos memiliki efek larvasida yang

kuat. Temephos bersifat toksik terhadap larva, melalui proses akumulasi asetilkolin pada jaringan larva akibat penghambatan kolinesterase. Hal ini mengakibatkan hipereksitasi, tremor, dan kejang pada larva dan berdampak pada terjadinya kelelahan yang berujung pada kematian. Mekanisme tersebut telah dibuktikan dengan ditetapkannya temephos sebagai bagian dari program pemberantasan *Aedes aegypti* di Indonesia.¹⁹ Oleh karena itu, penetapan temephos sebagai kontrol positif dalam penelitian ini sudah tepat.

Data pada tabel 1 juga menunjukkan bahwa pada kelompok kontrol negatif, baik yang menggunakan Tween 80 maupun PEG 400, didapatkan hasil persentase kematian larva sebesar 0%. Ini menandakan bahwa kedua bahan tersebut tidak memiliki efek larvasida. Tween 80 adalah produk surfaktan yang memiliki berat molekul rendah, disintesis secara kimiawi dan dapat dengan cepat terserap ke permukaan tetesan dan mengurangi tegangan antarmuka.²⁰ Bahan ini terdiri dari cincin sorbat yang menghubungkan empat rantai etilen oksida dengan panjang bervariasi, satu atau lebih di antaranya diesterifikasi dengan asam lemak dengan panjang dan derajat kejenuhan yang bervariasi pula. Aplikasi farmasi meliputi stabilisasi bahan biologis dalam larutan dan pelarutan bahan aktif yang sulit larut dalam air.²¹ Bahan ini juga telah terbukti ramah lingkungan dan memiliki performa kimia yang tinggi, sehingga sudah banyak dimanfaatkan di bidang industri.²² PEG 400 adalah sejenis polimer hidrofilik yang murah, non-toksik, non-imunogenik, dan non-antigenik. PEG 400 juga memiliki kelarutan yang tinggi dalam air dan

pelarut lainnya, seperti alkohol dan aseton. Oleh karena sifat-sifat tersebut, PEG 400 telah diterima oleh *Food and Drug Administration* (FDA).²³ Penambahan PEG, atau disebut juga dengan PEGilasi, bertujuan untuk meningkatkan kelarutan bahan dalam air.²⁴ PEGilasi dianggap sebagai terobosan dalam distribusi obat di dalam tubuh. PEGilasi meningkatkan waktu paruh biologis biofarmasi sekaligus mengurangi toksisitas dan meningkatkan stabilitas obat.²⁵ Dengan demikian, penambahan ko-solven seperti Tween 80 dan PEG 400 diharapkan dapat meningkatkan kelarutan bahan aktif dalam air, sehingga zat aktif akan terdistribusi secara merata, dan dapat meningkatkan paparan terhadap larva.

Data kematian larva pada kelompok 4 dan 5, yaitu kelompok yang diberikan penambahan Tween 80 dan ekstrak etanol daun kemangi dengan konsentrasi 0.5% dan 1%, yang ditunjukkan dalam tabel 1, didapatkan kematian larva *Aedes aegypti* selama 24 jam pengamatan adalah sebesar 100%, sebagaimana hasil pada kelompok kontrol positif. Ini juga diperkuat dengan data pada tabel 2, dari hasil uji post-hoc Mann Whitney, yang menunjukkan nilai $p > 0.05$ pada perbandingan antara kelompok 4 dan 5 terhadap kelompok kontrol positif. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun kemangi dengan penambahan Tween 80 memiliki efek larvasida yang sama baiknya dengan temephos terhadap larva *Aedes aegypti*. Berbeda halnya dengan data kematian larva pada kelompok 6 dan 7, yaitu kelompok yang diberikan penambahan PEG 400 dan ekstrak etanol daun kemangi dengan konsentrasi 0.5% dan 1%, yang ditunjukkan dalam tabel 1,

didapatkan kematian larva *Aedes aegypti* selama 24 jam pengamatan adalah sebesar 44% dan 52%, pada masing-masing kelompok. Hal ini dikonfirmasi melalui hasil uji post-hoc Mann Whitney, yang menunjukkan nilai $p < 0.05$ pada perbandingan antara kelompok 6 dan 7 terhadap kelompok kontrol positif. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun kemangi dengan penambahan PEG 400 memiliki efek larvasida berbeda secara signifikan (lebih lemah) dibandingkan temephos terhadap larva *Aedes aegypti*. Hasil ini sedikit berbeda dengan studi lain sebelumnya yang juga menambahkan PEG 400 pada ekstrak etanol daun jeruk dan daun sirih dalam uji larvasida pada *Aedes aegypti*, dimana diperoleh tingkat kematian larva yang setara dengan temephos. Hal tersebut dapat dipengaruhi beberapa faktor lain, seperti jumlah dan jenis kandungan metabolit sekunder yang terdapat dalam tiap jenis bahan alam.^{5,26}

Berbagai literatur menyatakan bahwa daun kemangi mengandung sejumlah metabolit sekunder yang bersifat larvasida, seperti alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, minyak atsiri, dan masih banyak lagi. Sebagian besar dari mereka bekerja dengan cara mengganggu sistem saraf pusat melalui penyerapan kulit atau pernapasan. Pada jenis keracunan ini, terjadi penghambatan asetilkolinesterase (AChE) yang dapat menyebabkan kematian. Dan seperti yang kita ketahui, mekanisme ini mirip dengan cara kerja temephos. Beberapa mekanisme kerja lainnya melibatkan sistem *Gamma-Aminobutyric Acid* (GABA), yang menyebabkan kejang dan penghambatan aktivitas mitokondria.^{27,28} Kandungan utama dari daun kemangi, yaitu komponen minyak atsiri, dengan

beberapa senyawa utama seperti eugenol, linalool, dan citral. Linalool menghambat empat jenis enzim pada larva *Aedes aegypti*, yaitu asetilkolinesterase (AChE), monooksigenase (MO), α -esterase, dan β -esterase.²⁹ Citral adalah inhibitor kompetitif reversibel asetilkolinesterase (AChE), yang memengaruhi transmisi impuls saraf. Citral memiliki aktivitas penghambatan terhadap tirosinase, enzim yang bertanggung jawab atas berbagai proses biologis, termasuk konsolidasi eksoskeleton pada artropoda selama molting. target utama citral adalah mikrotubulus, yang secara langsung berinteraksi dengan tubulin dan menyebabkan kelainan pada membran sel baik pada hewan maupun tumbuhan.³⁰

KESIMPULAN

Ekstrak etanol daun kemangi memiliki efek larvasida terhadap larva *Aedes aegypti*. Ekstrak etanol daun kemangi dengan penambahan pengencer Tween 80 lebih efektif sebagai larvasida pada *Aedes aegypti* dibandingkan dengan penambahan pengencer PEG 400.

DAFTAR REFERENSI

1. CDC. Dengue _ CDC Yellow Book 2024. Published 2023. Accessed September 19, 2023. <https://wwwnc.cdc.gov/travel/yellowbook/2024/infections-diseases/dengue>
2. ECDC. Dengue Worldwide Overview. Published 2023. Accessed September 19, 2023. <https://www.ecdc.europa.eu/en/dengue-monthly>
3. Kementerian Kesehatan RI. Informasi Dengue 2023. Published 2023. Accessed September 19, 2023. <https://p2pm.kemkes.go.id/publikasi/infografis/info-dbd-minggu-ke-33-tahun-2023>

4. Wilson AL, Courtenay O, Kelly-Hope LA, et al. The importance of vector control for the control and elimination of vector-borne diseases. *PLoS Negl Trop Dis*. 2020;14(1):1-31. doi:10.1371/journal.pntd.0007831
5. Dewi LM, Ariffah HZ, Aisyah R, Nurhayani N. Bio-larvicidal Potential of Betel Leaves (Piper betle L) Ethanolic Extract in Addition of PEG 400 Diluent on *Aedes aegypti* Larvae. *Biology, Medicine, & Natural Product Chemistry*. 2023;12(2):451-455. doi:10.14421/biomedich.2023.122.451-455
6. Khan HAA, Akram W. Resistance Status to Deltamethrin, Permethrin, and Temephos Along With Preliminary Resistance Mechanism in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) From Punjab, Pakistan. *J Med Entomol*. 2019;56(5):1304-1311. doi:10.1093/jme/tjz057
7. Morales D, Ponce P, Cevallos V, Espinosa P, Vaca D, Quezada W. Resistance Status of *Aedes aegypti* to Deltamethrin, Malathion, and Temephos in Ecuador. *J Am Mosq Control Assoc*. 2019;35(2):113-122. doi:10.2987/19-6831.1
8. Palomino M, Pinto J, Yañez P, et al. First national-scale evaluation of temephos resistance in *Aedes aegypti* in Peru. *Parasit Vectors*. 2022;15(1). doi:10.1186/s13071-022-05310-x
9. Helvecio E, Romão TP, de Carvalho-Leandro D, et al. Polymorphisms in GSTE2 is associated with temephos resistance in *Aedes aegypti*. *Pestic Biochem Physiol*. 2020;165. doi:10.1016/j.pestbp.2019.10.002
10. Shettima A, Ishak IH, Lau B, Abu Hasan H, Miswan N, Othman N. Quantitative Proteomics Analysis of Permethrin and Temephos-Resistant *Ae. Aegypti* Revealed Diverse Differentially Expressed Proteins Associated with Insecticide Resistance from Penang Island, Malaysia. *PLoS Negl Trop Dis*. 2023;17(9):e0011604. doi:10.1371/journal.pntd.0011604
11. Satriawan DA, Sindjaja W, Richardo T. Toxicity of the Organophosphorus Pesticide Temephos. *Indonesian Journal of Life Sciences | ISSN: 2656-0682 (online)*. 2019;1(2):62-76. doi:10.54250/ijls.v1i2.26
12. Serrano-Lázaro A, Verdín-Betancourt FA, Jayaraman VK, et al. Tracing The Degradation Pathway of Temephos Pesticide Achieved with Photocatalytic ZnO Nanostructured Films. *Environ Sci Nano*. 2022;9(9):3538-3550. doi:10.1039/D2EN00384H
13. Firdausi RI, Bestari RS, Dewi LM. Peran Bakteri *Wolbachia* Terhadap Pengendalian Vektor Demam Berdarah Dengue (DBD) *Aedes aegypti*. In: *The 13th University Research Colloquium 2021*. ; 2021. Accessed June 7, 2024. <https://repository.urecol.org/index.php/proceeding/article/view/1440/1407>
14. Elfahmi, Woerdenbag HJ, Kayser O. Jamu: Indonesian traditional herbal medicine towards rational phytopharmacological use. *Journal of Herbal Medicine*. 2014;4(2):51-73.
15. Dewi LM, Nafi'ah MQ. Effectiveness of 96% Ethanol Extract of Clove Leaves (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr & Perry) as an Antibacterial Agent Against *Staphylococcus epidermidis* And *Providencia stuartii*. *MAGNA MEDICA Berkala Ilmiah Kedokteran dan Kesehatan*. 2022;9(2):139. doi:10.26714/magnamed.9.2.2022.139-146
16. Chan CA, Ho LY, Sit NW. Larvicidal Activity and Phytochemical Profiling of Sweet Basil (*Ocimum basilicum* L.) Leaf Extract against Asian Tiger Mosquito (*Aedes albopictus*). *Horticulturae*. 2022;8(5):443. doi:10.3390/horticulturae8050443
17. Alievi K, Caponi GT, Buzatto M, et al. *Ateleia glazioviana* and *Ocimum basilicum*: Plants with Potential Larvicidal and Repellent Against *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae). *Research, Society and Development*. 2021;10(17):e228101724733. doi:10.33448/rsd-v10i17.24733
18. World Health Organization. *Guidelines for Laboratory and Field Testing of Mosquito Larvicides*.; 2005. Accessed June 4, 2023. <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-CDS-WHOPES-GCDPP-2005.13>
19. Pambudi BC, Martini, Tarwotjo U, Hestningsih R. Efektivitas Temephos

- Sebagai Larvasida Pada Stadium Pupa *Aedes aegypti*. *JKM e-journal*. 2018;6:2356-3346.
<http://ejournal3.undip.ac.id/index.php/jkm>
20. Gomes A, Costa ALR, Cardoso DD, Náthia-Neves G, Meireles MAA, Cunha RL. Interactions of β -carotene with WPI/Tween 80 mixture and oil phase: Effect on the behavior of O/W emulsions during in vitro digestion. *Food Chem*. 2021;341:128155.
doi:10.1016/j.foodchem.2020.128155
 21. Knoch H, Ulbrich MH, Mittag JJ, Busch J, Garidel P, Heerklotz H. Complex Micellization Behavior of the Polysorbates Tween 20 and Tween 80. *Mol Pharm*. 2021;18(8):3147-3157.
doi:10.1021/acs.molpharmaceut.1c00406
 22. Aftab A, Ali M, Sahito MF, et al. Environmental Friendliness and High Performance of Multifunctional Tween 80/ZnO-Nanoparticles-Added Water-Based Drilling Fluid: An Experimental Approach. *ACS Sustain Chem Eng*. 2020;8(30):11224-11243.
doi:10.1021/acssuschemeng.0c02661
 23. Yadav D, Dewangan HK. PEGYLATION: an important approach for novel drug delivery system. *J Biomater Sci Polym Ed*. 2021;32(2):266-280.
doi:10.1080/09205063.2020.1825304
 24. Zhong X, Dou G, Wang D. Polyethylene Glycol (PEG-400): An Efficient and Recyclable Reaction Medium for the Synthesis of Pyrazolo[3,4-b]pyridin-6(7H)-one Derivatives. *Molecules*. 2013;18(11):13139-13147.
doi:10.3390/molecules181113139
 25. Ibrahim M, Ramadan E, Elsadek NE, et al. Polyethylene glycol (PEG): The nature, immunogenicity, and role in the hypersensitivity of PEGylated products. *Journal of Controlled Release*. 2022;351:215-230.
doi:10.1016/j.jconrel.2022.09.031
 26. Dewi LM, Mufidah F, Sutrisna E, Nurhayani. Larvicidal Effect of 96% Ethanol Extract of Lime (*Citrus aurantifolia*) Leaves with PEG 400 Diluent on *Aedes aegypti* Larvae. *J Trop Pharm Chem*. 2024;8(1):70-76.
doi:10.25026/jtpc.v8i1.574
 27. de Souza Wuillda ACJ, Campos Martins RC, Costa F das N. Larvicidal Activity of Secondary Plant Metabolites in *Aedes aegypti* Control: An Overview of the Previous 6 Years. *Nat Prod Commun*. 2019;14(7):1934578X1986289.
doi:10.1177/1934578X19862893
 28. Kumara CJ, Bestari RS, Dewi LM. Efektivitas Flavonoid, Tanin, Saponin dan Alkaloid terhadap Mortalitas Larva *Aedes aegypti*. In: *The 13 Th University Research Colloquium 2021*. ; 2021. Accessed June 6, 2023.
<http://repository.urecol.org/index.php/proceeding/article/view/1311>
 29. Huang Y, Lin M, Jia M, Hu J, Zhu L. Chemical composition and larvicidal activity against *Aedes* mosquitoes of essential oils from *Arisaema fargesii*. *Pest Manag Sci*. 2020;76(2):534-542.
doi:10.1002/ps.5542
 30. Castillo-Morales RM, Serrano SO, Villamizar ALR, Mendez-Sanchez SC, Duque JE. Impact of *Cymbopogon flexuosus* (Poaceae) essential oil and primary components on the eclosion and larval development of *Aedes aegypti*. *Sci Rep*. 2021;11(1):24291.
doi:10.1038/s41598-021-03819-2