

ARTIKEL PENELITIAN

EFEKTIVITAS INFUSA DAUN BINTARO (*Cerbera manghas*)
TERHADAP LARVA INSTAR III *Musca domestica*
(EFFECTIVITY OF BINTARO LEAVES (*Cerbera manghas*) INFUSION
ON INSTAR III *Musca domestica* LARVAE)

Lutfhi Nurlaela¹, Tsana Makarim Dika Nurulloh³, Siska Telly Pratiwi², Emma
Mardiyah Hidayat¹

¹Departemen Parasitologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Jenderal Achmad Yani, Cimahi,
Jawa Barat, Indonesia

²Departemen Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Jenderal Achmad Yani, Cimahi,
Jawa Barat, Indonesia

³Program Studi Sarjana Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Jenderal Achmad Yani,
Cimahi, Jawa Barat, Indonesia

Email korespondensi: lutfhinurlaela.lecturer@unjani.co.id

ABSTRAK

Lalat rumah (*Musca domestica*) merupakan salah satu lalat yang paling sering berada di sekitar hunian rumah. *Musca domestica* berperan sebagai vektor penyakit (vektor mekanis) agen patogen yang dibawa dari tempat tinggal/tempat berkembang biaknya pada lingkungan yang banyak mengandung bahan organik seperti di tempat sampah, tinja, limbah buangan, atau kotoran hewan ke hunian atau makanan yang akan dikonsumsi manusia. Penggunaan insektisida kimia ataupun sintetik dapat menyebabkan resistensi *M. domestica*, dan mencemari lingkungan. Upaya yang dilakukan untuk menanggulangi hal tersebut ialah penggunaan insektisida alami yang mengandung zat aktif yang dapat mengganggu pertumbuhan dan perkembangan dari larva *M. domestica* seperti daun bintaro (*Cerbera manghas*). Tujuan penelitian ini untuk mengetahui efektivitas infusa daun bintaro terhadap larva *M. domestica*. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental menggunakan infusa daun bintaro dalam berbagai konsentrasi yaitu 30%, 50%, 70%, dan 90%. Hasil penelitian membuktikan infusa konsentrasi 30% dapat mematikan 30% larva dan rata-rata kematian terus meningkat sampai 76,5% pada konsentrasi 90%. Hasil uji *One-Way ANOVA* bahwa konsentrasi 70% dan 90% memiliki efektivitas yang sama, dan hasil analisis probit didapatkan nilai LC_{50} adalah 74% dan nilai LC_{90} adalah 137%. Hal ini membuktikan seluruh konsentrasi infusa daun bintaro dapat mematikan larva instar III *M. domestica*. Sehingga infusa daun bintaro dapat dipergunakan oleh masyarakat sebagai larvasida alami.

Kata kunci: *Cerbera manghas*, lalat rumah, larvasida, *Musca domestica*

ABSTRACT

The house fly (Musca domestica) is one of the most common flies around the house. Musca domestica is a disease vector as it carries pathogenic agents from their habitats in carcasses, feces, sewage, or animal waste to human dwellings. The use of chemical or synthetic insecticides can cause resistance in M. domestica and pollutes the environment. One way of avoiding this is by using natural insecticides containing active substances that can interfere with the growth and development of M. domestica larvae, such as bintaro leaves (Cerbera manghas). The purpose of this study was to determine the effectiveness of bintaro leaves infusion against M. domestica larvae. This was an experimental study using bintaro leaves infusion in various concentrations, namely 30%, 50%, 70%, and 90%. The results showed that the 30% concentration infusion could kill 30% of larvae and the average mortality continued to increase up to 76,5% at 90% concentration. Results of the One-Way ANOVA test showed that the 70% and 90% concentration had the same effectiveness, and results from the probit analysis showed that the LC₅₀ value was 74% while the LC₉₀ value was 137%. This proves that all concentration of bintaro leaves infusion can kill third instar M. domestica larvae. Therefore, bintaro leaves infusion can be used as a natural larvicide.

Keywords: Cerbera manghas, housefly, larvicides, Musca domestica

PENDAHULUAN

Lalat rumah (*M. domestica*) memiliki peran dalam penyebaran penyakit pada manusia karena lingkungan hidupnya yang sangat luas sebarannya. Lalat rumah biasa berkembang biak pada tinja, karkas, limbah buangan, kotoran hewan, dan sampah yang merupakan tempat bermuaranya agen penyakit, sehingga mudah membawa agen patogen seperti *E. coli*, *Salmonella*, *Shigella* dan lainnya yang terdapat pada isi perut, mulut, dan tungkainya, dia berperan sebagai vektor mekanis. Patogen ini kemudian ditularkan pada manusia saat lalat menempel di makanan atau lalat memuntahkan makanannya (regurgitasi yang secara alami sebelum menelan makanan) pada makanan yang akan dikonsumsi manusia.¹ Laporan *Global Burden of Foodborne Diseases* WHO memperkirakan bahwa lebih dari 300

juta penyakit dan hampir 200.000 kematian disebabkan oleh *E. coli* diaregenik secara global setiap tahunnya sejak 2007 sampai 2015 dimana *foodborne disease* ini dapat ditularkan oleh lalat yang merupakan vektor mekanik.² Diare merupakan penyakit infeksi penyumbang kematian terbesar di Indonesia, berdasarkan kelompok umur, umur tertinggi pada kelompok 1-4 tahun sebesar 11,5% pada bayi sebesar 9%.³ Pada kelompok umur 75 tahun ke atas merupakan kelompok umur dengan prevalensi tinggi yaitu 7,2%.⁴ Peningkatan pertumbuhan lalat di lingkungan, memiliki kemungkinan tertinggi agen patogen tersebar. Pada siklus hidupnya, lalat rumah biasanya meletakkan telur pada tempat yang banyak mengandung zat organik misalnya pada tempat sampah, pembuangan air limbah manusia, pada peternakan unggas, kandang binatang, tempat

pembuangan akhir sampah, pada lingkungan sekitar terutama di daerah pedesaan atau daerah pemukiman padat yang kumuh dan kotor.^{1,5,6}

Peranan insektisida dan larvasida sintetik memberikan dampak negatif seperti pencemaran lingkungan dan resistensi pada larva.⁵ Perlu dilakukan strategi pengendalian juga pengontrolan vektor untuk memutus rantai siklus hidup vektor penyebab penyakit yang tidak menimbulkan efek negatif bagi lingkungan dan resistensi terhadap insekta.⁷ Penggunaan tumbuhan sebagai insektisida atau larvasida terbukti efektif karena beberapa tumbuhan memiliki zat aktif yang memberikan efek toksik terhadap larva. Pohon bintaro (*Cerbera manghas*) memiliki zat aktif tersebut.⁸

Pohon bintaro dikenal sebagai pohon untuk reboisasi, tanaman penghijau, energi alternatif, tanaman baku kerajinan dan biopeptisida.⁹ Zat aktif yang dimiliki seperti saponin, steroid, flavonoid, dan tanin.⁸ Steroid pada daun bintaro dalam menghambat proses pergantian kulit dari larva.¹⁰ Tanin dan flavonoid menyebabkan penurunan penyerapan pada saluran cerna sehingga makanan tidak dapat diabsorpsi secara sempurna. Saponin dapat merusak kutikula larva sehingga larva kehilangan cairan tubuh.¹¹ Banyaknya zat aktif yang dikandungnya, pemanfaatan yang minim, dan ketersediaan yang banyak membuat

pohon bintaro merupakan pilihan yang tepat untuk menjadi larvasida alami untuk pengendalian larva *M. domestica*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas infusa daun bintaro terhadap larva *M. domestica*, digunakan infusa agar lebih aplikatif dan mudah digunakan oleh masyarakat sebagai larvasida.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan pada bulan Oktober 2021 di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Achmad Yani (FK Unjani) Cimahi dan pembuatan infusa dilakukan di Laboratorium Biokimia FK Unjani Cimahi. Penelitian ini telah disetujui oleh Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Achmad Yani dengan persetujuan etik No. Protokol: H1.2110.015.

Rancangan penelitian: Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan *Post Test Only Control Group Design*. Pengelompokan dan pemberian perlakuan pada hewan uji coba menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap. Prosedur penelitian meliputi pembiakan dan pemeliharaan larva instar III *M. domestica*, pembuatan infusa daun bintaro, uji pendahuluan dan uji penelitian.¹²⁻¹⁴

Subjek penelitian: merupakan larva instar III *M. domestica* yang dikembangkan di Laboratorium Parasitologi FK Unjani

Cimahi sebanyak 260 larva instar III yang dibagi menjadi 5 kelompok, 1 kelompok kontrol 4 kelompok perlakuan.

Objek penelitian: Infusa daun pohon bintaro (*Cerbera manghas*) tua berwarna hijau gelap dan segar yang diperoleh dari perkebunan Balitri Sukabumi.

Bahan penelitian: akuades, panci infusa, susu bubuk *full cream*, gula halus, ragi kue, tisu toilet, pakan ayam B12L, dedak, sekam, air untuk mengembangkan larva.

Pembiakan larva instar III *M. domestica*: Larva instar III *M. domestica* didapatkan dari lalat rumah yang telah diidentifikasi oleh dosen Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Achmad Yani. Menyiapkan pakan berupa campuran susu *full cream*, gula halus dan ragi kue yang disimpan pada kandang lalat, lalu menyiapkan tempat minum untuk lalat yaitu pot plastik dengan spons yang telah dibasahi dengan air dan simpan pada kandang lalat. Media peletakan telur berupa larutan susu *full cream* yang dituangkan pada gulungan tisu yang ditempatkan pada gelas plastik hingga seluruh tisu basah dan sedikit menggenang media peletakan telur ini disimpan pada kandang lalat. Media pemeliharaan larva berupa dedak dan pakan ayam yang dicampurkan dengan air lalu media dibagi menjadi 2-3 bagian dan

diletakkan dalam stoples plastik untuk pemeliharaan larva. Tisu tempat peletakan telur setelah 3-4 hari dipindahkan pada media pemeliharaan larva lalu bagian atas ditutup dengan sekam setebal 3 cm, lalu media pemeliharaan larva diletakkan di luar kandang lalat pada suhu ruangan selama 4-5 hari sampai mencapai stadium instar III dimana larva mencapai panjang 12-13 mm.^{15,16}

Pembuatan infusa daun bintaro: Daun bintaro sebanyak 250g dicuci bersih dengan air mengalir lalu dikeringkan selama satu malam dengan cara diangin-anginkan. Setelah kering, dipotong-potong kecil. Potongan daun bintaro di infusa menggunakan panci infusa dengan aquades hingga 90°C selama 15 menit sambil sesekali diaduk lalu dilakukan penyaringan dalam keadaan panas. pembuatan konsentrasi infusa dengan rumus konsentrasi larutan sebagai berikut:

$$C = m/V$$

Keterangan:

C: konsentrasi

M: massa (gram)

V: volume (mL)

Untuk konsentrasi 30%

$$C = 30 \text{ gr} / 100 \text{ ml}$$

$$C = 30\%$$

Pembuatan larutan uji: Variasi pembuatan konsentrasi pada uji larvasida sesuai pedoman WHO 2005 sebanyak 4-5 konsentrasi. Pada penelitian ini dibuat 4 konsentrasi yang berbeda. Variasi dan

interval konsentrasi infusa daun bintaro akan didapatkan dari uji pendahuluan yang selanjutnya digunakan untuk uji penelitian. Konsentrasi yang dipakai merupakan konsentrasi yang memberikan efek diantara konsentrasi 10% sampai 95%. Minimal 2 konsentrasi di bawah LC_{50} dan 2 konsentrasi diatas LC_{50} . Konsentrasi yang dipilih berdasarkan uji pendahuluan yaitu 30% dan 50%, berdasarkan pedoman maka akan di tambahkan konsentrasi dengan penambahan 20% tiap konsentrasi.

Perlakuan hewan coba: Penelitian dilakukan pada 5 kelompok larva instar III *M. domestica* yaitu:

1. Kelompok K: ditetesi aquades.
2. Kelompok A1: ditetesi infusa daun bintaro konsesntrasi 30%
3. Kelompok A2: ditetesi infusa daun bintaro konsesntrasi 50%

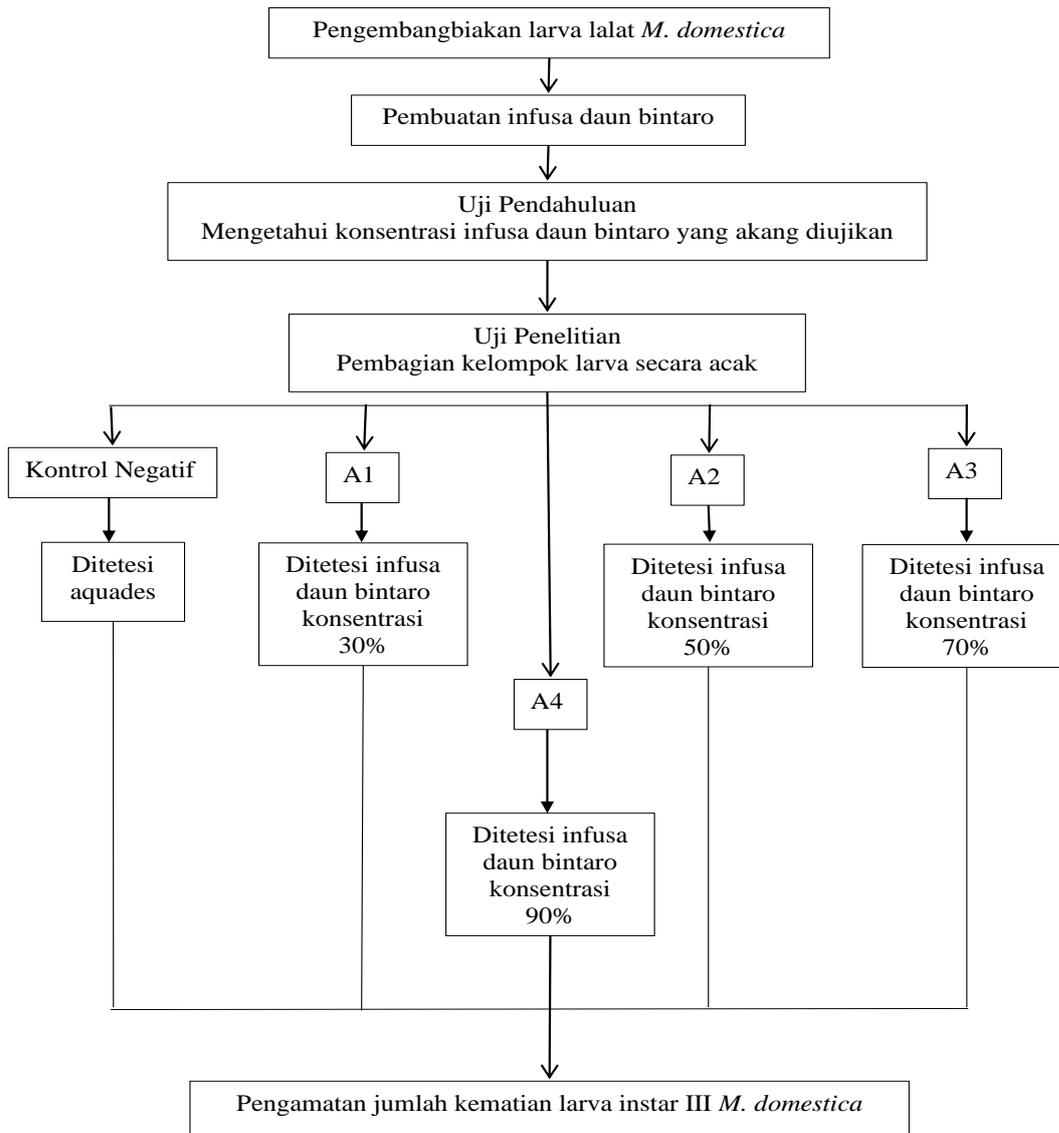
4. Kelompok A3: ditetesi infusa daun bintaro konsesntrasi 70%

5. Kelompok A4: ditetesi infusa daun bintaro konsesntrasi 90%

Setiap kelompok berisikan larva instar III *M. domestica* sebanyak 20 ekor didalam *petri disc*. Pemberian infusa daun bintaro dilakukan dengan metode kontak langsung dengan meneteskan infusa daun bintaro dengan konsentrasi tertentu kepada larva instar III *M. domestica* dalam cawan petri. Pengamatan kematian larva dilihat 24 jam setelah perlakuan. Perlakuan diulang sebanyak 3 kali.^{1,17-19}

Analisis statistik: Data hasil penelitian dianalisis menggunakan uji *One Way ANOVA* dan analisis probit untuk memperoleh nilai *Lethal Concentration 90* (LC_{90}).²⁰

Alur Penelitian



Gambar 1 Alur penelitian.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian mengenai efektivitas infusa daun bintaro terhadap larva instar III *M. domestica* dilakukan kepada 20 larva instar III *M. domestica* kepada masing-masing kelompok uji selama 24 jam dengan 3 kali pengulangan. Jumlah kematian larva *M. domestica* tidak ditemukan pada kelompok perlakuan kontrol. Jumlah

kematian rata-rata terendah ada pada konsentrasi infusa daun bintaro 30% sebanyak 6,3 (31,5%) ekor dan jumlah kematian larva meningkat hingga tertinggi pada konsentrasi 90% dengan rata-rata jumlah kematian sebanyak 15,3 (76,5%) ekor. Rata-rata kematian larva dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1 Rata-rata mortalitas larva

Kelompok Perlakuan	Jumlah Kematian Larva Pengulangan ke-						Rata-rata	
	1		2		3		n	%
	n	%	n	%	n	%		
Kontrol	0	0	0	0	0	0	0	0
Infusa bintaro 30%	7	35	6	30	5	25	6	30
Infusa bintaro 50%	8	40	10	50	9	45	9	45
Infusa bintaro 70%	10	50	13	65	12	60	11,6	63
Infusa bintaro 90%	15	75	17	85	14	70	15,3	76,5

Data kematian larva dilakukan uji normalitas *Saphiro-Wilks*. Hasil uji normalitas ditampilkan dalam Tabel 2, bahwa keseluruhan data berdistribusi

normal dengan nilai $p > 0,05$ sehingga pengujian dilanjutkan dengan uji *One Way ANOVA*, ditampilkan dalam Tabel 3.

Tabel 2 Hasil uji *Saphiro-Wilks*

Kelompok perlakuan	Uji normalitas	
	Nilai p	Distribusi data
Infusa bintaro 30%	1,000	Normal
Infusa bintaro 50%	1,000	Normal
Infusa bintaro 70%	0,637	Normal
Infusa bintaro 90%	0,637	Normal

Keterangan: $p > 0,05$ (distribusi normal)

Tabel 3 Hasil uji *One Way ANOVA* infusa daun bintaro

Kelompok perlakuan	Rata-rata kematian larva (%) ± SD	p
Kontrol	0,000 ± 0,000	0,000*
Infusa bintaro 30%	6,00 ± 1,000	
Infusa bintaro 50%	9,00 ± 1,000	
Infusa bintaro 70%	11,67 ± 1,528	
Infusa bintaro 90%	15,33 ± 1,528	

Keterangan: $p \leq 0,05$ terdapat perbedaan bermakna

Hasil uji *One Way ANOVA* pada Tabel 3 menunjukkan nilai $p < 0,05$ menandakan terdapat perbedaan yang bermakna setiap kelompok sehingga untuk

mengetahui perbandingan tiap kelompok dilakukan uji *Post Hoc Tukey* yang ditampilkan dalam Tabel 4.

Tabel 4 Perbandingan setiap kelompok uji

Konsentrasi	Kontrol	30%	50%	70%	90%
Kontrol		0,001	0,000	0,000	0,000
30%	0,001		0,408	0,007	0,000
50%	0,000	0,408		0,306	0,004
70%	0,000	0,007	0,306		0,060
90%	0,000	0,000	0,004	0,060	

Keterangan: $p \leq 0,05$ terdapat perbedaan bermakna

Pada Tabel 4 terdapat perbedaan bermakna antara kelompok kontrol terhadap kelompok perlakuan. Pada konsentrasi 30% terdapat perbedaan dengan konsentrasi 70% dan 90%. Perbedaan juga terdapat pada konsentrasi 50% terhadap 90%. Tidak terdapat perbedaan pada konsentrasi 30% dan 50% juga pada konsentrasi 70% dan 90%. Terlihat bahwa antara konsentrasi 30% dan 50% juga konsentrasi 70% dan 90% memiliki efektivitas yang sama terhadap mortalitas larva instar III *M. domestica*.

Penelitian ini menunjukkan bahwa infusa daun bintaro memberikan efek mortalitas terhadap larva instar III *M. domestica*. Hal ini terlihat juga pada penelitian Asikin tahun 2019 ekstrak daun bintaro juga memberikan efek mortalitas terhadap ulat krop kubis sebanyak 84% dan dapat mempengaruhi larva menjadi pupa dan dewasa.⁹ Pada penelitian Kristiana tahun 2015 menyatakan bahwa ekstrak daun bintaro terhadap larva *Aedes aegypti* dengan konsentrasi optimal yaitu 1,0% yang dapat menyebabkan rerata mortalitas sampai 85%.²¹

Pengaruh larvasida infusa daun bintaro kemungkinan besar disebabkan oleh berbagai zat aktif yang terkandung pada daun bintaro. Beberapa zat aktif tersebut diantaranya steroid, saponin, flavonoid dan tanin. Kandungan steroid pada daun bintaro berfungsi menghambat proses pergantian kulit atau *molting* pada larva karena strukturnya yang mirip dengan hormon yang berperan pada proses terjadinya *molting*.¹⁰ Tanin dan flavonoid pada daun bintaro mengakibatkan penurunan aktivitas penyerapan makanan pada saluran cerna sehingga makanan yang dimakan larva tidak dapat diabsorpsi secara sempurna. Zat lain seperti saponin pada daun bintaro merusak kutikula pada larva menyebabkan kehilangan cairan tubuh larva, selain itu saponin dapat meningkatkan permeabilitas tubuh larva yang mengakibatkan rusaknya membran sel yang mempermudah zat toksin masuk ke dalam tubuh larva, efek lainnya saponin memiliki sifat inhibitorik dari enzim asetilkolinesterase sehingga menyebabkan kejang dan paralisis.¹¹

Setiap konsentrasi infusa daun bintaro untuk memberikan efek mortalitas

terhadap larva instar III *M. domestica* dapat diketahui dengan melakukan analisis probit. Berdasarkan analisis probit dosis efektif yang dapat mematikan 50% larva uji terdapat di konsentrasi 74% dan yang dapat mematikan 90% larva uji atau nilai probabilitas 90 terdapat pada estimasi konsentrasi 137% dengan interval 106% sampai 2035%.

Faktor yang dapat mempengaruhi nilai LC₉₀ yang tinggi pada penelitian ini ialah peran metabolit yang terkandung pada daun bintaro itu sendiri. Semakin banyak zat aktif yang terkandung pada infusa, semakin besar pula potensi larvasida dari infusa tersebut. Pada penelitian ini diduga pengambilan zat aktif dengan cara infusa membuat zat aktif tidak keluar sepenuhnya dan kemungkinan adanya kerusakan zat aktif akibat pemanasan saat proses pembuatan infusa daun bintaro. Kemungkinan lainnya terletak pada waktu observasi yang terbatas hanya 24 jam setelah perlakuan. Beberapa penelitian memperlihatkan kematian tertinggi setelah 72 jam perlakuan.^{9,17}

Keterbatasan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek larvasida infusa daun bintaro terhadap larva instar III *M. domestica*. Penelitian menggunakan infusa daun bintaro dilakukan agar lebih aplikatif untuk digunakan di kehidupan sehari-hari namun pada penggunaan infusa, zat aktif

yang ditarik dari daun tidak sebanyak bila dilakukan dengan cara ekstraksi, pada penelitian ini tidak dilakukan uji fitokimia pada infusa daun bintaro, sehingga tidak diketahui manakah yang terbanyak dan yang memberikan efek mortalitas terhadap larva.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan disimpulkan bahwa infusa daun bintaro (*Cerbera manghas*) memiliki efek mortalitas terhadap larva instar III *M. domestica*. Dosis efektif pada penelitian ini adalah 74% dan nilai *Lethal Concentration* (LC₉₀) adalah 137%.

KONFLIK KEPENTINGAN

Dengan ini, peneliti menyatakan bahwa tidak terdapat konflik kepentingan dalam karya ilmiah yang peneliti tulis.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada semua pihak yang telah membantu penelitian dan penyusunan makalah.

DAFTAR PUSTAKA

1. Wiharyono LS, Nurdasmiati D, Nazifa AT, Fatonah S. Insektisida nabati lalat dalam pengharum ruangan dari ekstrak daun babadotan. *J Pengabdian Untuk Masyarakat*. 2019;3(2):223–9.
2. World Health Organization. WHO estimates of the global burden of

- foodborne diseases: foodborne diseases burden epidemiology reference group 2007-2015. 2015;
3. Yanti CA, Ediana D, Rizki M. Hubungan Perilaku Dan Tingkat Kepadatan Lalat Dengan Kejadian Diare Di Pasar Sarilamak. Hum Care J. 2018;3(1).
 4. Kemenkes RI. Profil Kesehatan Indonesia 2019. 2020;
 5. Ahmad I, Susanti S, Kustiati K, Yusmalinar S, Rahayu R, Hariani N. Resistensi lalat rumah, *Musca domestica* Linnaeus (Diptera: Muscidae) dari empat kota di Indonesia terhadap permetrin dan propoksur. Indones J Entomol. 2016;12(3):99073.
 6. Mullen GR, Durden LA. Medical and veterinary entomology. Elsevier; 2018.
 7. Saenong MS. Tumbuhan Indonesia potensial sebagai insektisida nabati untuk mengendalikan hama kumbang bubuk jagung (*Sitophilus* Spp.). 2016;
 8. Sa'diyah NA, Purwani KI, Wijayanti L. Pengaruh ekstrak daun bintaro (*Cerbera odollam*) terhadap perkembangan ulat grayak (*Spodoptera litura* F.). J Sains dan Seni ITS. 2013;2(2):E111–5.
 9. Asikin S, Akhsan N. Efektivitas ekstrak daun tumbuhan bintaro (*Cerbera odollam*), bayam jepang (*Amaranthus viridis*) dan paku perak (*Niprolepis hirsutula*) terhadap ulat krop kubis (*Crociodolomia pavartata*). J Agroekoteknologi Trop Lembab ISSN. 2019;2622.
 10. Nation Sr JL. Insect physiology and biochemistry. CRC press; 2022.
 11. Abdelrahman M, Jogaiah S, Abdelrahman M, Jogaiah S. Saponins versus plant fungal pathogens. Bioact Mol Plant Def Sapon. 2020;37–45.
 12. Rizal S, Dewi H. Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daging Dan Biji Buah Bintaro (*Cerbera manghas* L.). J Teknol Ind Has Pertan Vol 20 No 1, Maret 2015. 2015;20(1):51–64.
 13. Wulandari K, Ahyanti M. Efektivitas ekstrak biji bintaro (*Cerbera manghas*) sebagai larvasida hayati pada larva *Aedes aegypti* Instar III. J Kesehat. 2018;9(2):218–24.
 14. Simanjuntak P, Susanto E, Sulastri L. Pengaruh Metode ekstraksi cara maserasi dan infusa daun mangrove, daun kejobeling dan batang ketuk serta kombinasinya terhadap uji bakteri *eschericia coli* dan *stphylococcus aureus*. Pros Semin Kim. 2019;1(6).
 15. World Health Organization. Guidelines for laboratory and field-testing of long-lasting insecticidal nets. World Health Organization; 2013.
 16. Kustiati, Susanti S. Pembiakan Lalat Rumah *Musca domestica* L. di Laboratorium Uji Hayati Serangga,

- SITH-ITB. 2016.
17. Kristiana ID, Ratnasari E, Haryono T. Pengaruh ekstrak daun bintaro (*Cerbera odollam*) terhadap mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti*. *LenteraBio*. 2015;4(2):131–5.
 18. Nugroho Setiawan, A, Supriyadi A. Uji Efektivitas Berbagai Konsentrasi Pestisida Nabati Bintaro (*Cerbera manghas*) terhadap Hama Ulat Grayak (*Spodoptera litura*) pada Tanaman Kedelai. 2014;2(2).
 19. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Pedoman dan standar etik penelitian dan pengembangan kesehatan nasional. 2017;1–158.
 20. Anisah A, Sukesi TW. Uji Efektivitas Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L) sebagai Larvasida Larva Lalat Rumah (*Musca domestica*). *J vektor penyakit*. 2018;12(1):39–46.
 21. Maheswari PP, Wijaya IN, Sritamin M. Uji efektivitas beberapa jenis ekstrak daun tanaman terhadap perkembangan ulat daun kubis (*Plutella xylostella* L.) di laboratorium. *J Agroekoteknologi*. 2018;7(3):392–9.