

EFEK LARVASIDA EKSTRAK *TARGETES ERECTA* FRAKSI HEKSAN DAN ASETON TERHADAP LARVA NYAMUK *AEDES AEGYPTI* INSTAR 3 DAN 4

LARVICIDAL EFFECT OF *TARGETES ERECTA* EXTRACT HEXANE AND ACETONE FRACTION ON INSTAR 3 AND 4 *AEDES AEGYPTI* MOSQUITO LARVAE

November Rianto Aminu^{*1}, Hartati Soetjipto¹, A. Ign. Kristijanto¹

¹ Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Kristen Satya Wacana, Jl. Diponegoro 52-60, Salatiga 50711, Indonesia

*Corresponding Author: november.aminu@uksw.edu

Submitted : 23 Maret 2019

Accepted : 20 April 2023

Publish : 25 Mei 2023

ABSTRACT

The resistance of *A. aegypti* mosquito larvae to temephos is an important problem that can cause an explosion in the mosquito population that causes dengue fever. Therefore, it is necessary to search for alternative active compounds that can act as larvicides, but which must also be environmentally friendly. The aim of this study was to determine the potency of *T. erecta* leaf and root extracts in the hexane and acetone fractions as larvicides. The process begins with drying and extraction of the sample, respectively with hexane and acetone. A test solution was prepared with a concentration of 0, 0.0075, 0.015, 0.03, and 0.1% (w/v) of the resulting extract. The larvicidal test was carried out according to WHOPES by observing the mortality of instar 3 and 4 larvae in each extract. The results obtained showed that the percent mortality of larvae increased with increasing concentration and exposure time for both types of larvae. The lowest LC₅₀ was obtained from the root extract of the hexane fraction (37 ppm) for third instar larvae and the acetone fraction (61 ppm) for fourth instar larvae. These results show that leaf and root extracts of *T. erecta* have potential as an alternative larvicide to replace temephos.

Keywords : Larvae, *A. aegypti*, *T. erecta*. Fraction

ABSTRAK

Resistensi larva nyamuk *A. aegypti* terhadap temephos merupakan masalah penting yang dapat menyebabkan meledaknya populasi nyamuk penyebab demam berdarah ini. Oleh karena itu pencarian senyawa aktif pengganti yang dapat berperan sebagai larvasida, namun juga harus ramah lingkungan perlu, dilakukan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi ekstrak daun dan akar *T. erecta* fraksi heksan dan aseton sebagai larvasida. Proses diawali dengan pengeringan dan ekstraksi sampel, masing – masing dengan pelarut heksan dan aseton. Dibuat larutan uji dengan konsentrasi 0, 0,0075, 0,015, 0,03, dan 0,1 % (b/v) dari ekstrak yang dihasilkan. Uji larvasida dilakukan mengacu pada WHOPES dengan mengamati mortalitas larva instar 3 dan 4 pada masing – masing ekstrak. Hasil yang diperoleh menunjukkan persen mortalitas larva bertambah seiring dengan bertambahnya konsentrasi dan waktu paparan pada kedua jenis larva. LC₅₀ terendah diperoleh dari ekstrak akar fraksi heksan (37 ppm) untuk larva instar 3 dan fraksi aseton (61 ppm) untuk larva instar 4. Hasil tersebut menunjukkan ekstrak daun dan akar *T. erecta* memiliki potensi sebagai larvasida alternatif pengganti temephos.

Kata kunci : Larva, *A. aegypti*, *T. erecta*. Fraksi



This work is licensed under a [Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/).

PENDAHULUAN

Demam Berdarah Dengue (DBD) merupakan penyakit yang disebabkan oleh infeksi virus. Jika dibiarkan begitu saja, penyakit ini dapat menyebabkan kematian. Berdasarkan data WHO [1], pada tahun 2016 lebih dari 3 juta kasus DBD dimana 4000 kasus berujung pada kematian di seluruh dunia. Di Asia Tenggara tercatat sekitar 450000 kasus DBD pada periode yang sama, dimana 200000 di antaranya terjadi di Indonesia. Berdasarkan data tersebut, Indonesia masih menjadi negara dengan kasus DBD terbanyak di Asia Tenggara. Penyakit DBD pada umumnya menyebar di area tropis dan sub-tropis, terutama di daerah kumuh.

Hingga saat ini masih belum ditemukan pengobatan untuk penyakit DBD. Hal yang umumnya dilakukan untuk mencegah penyebaran penyakit ini adalah dengan memberantas atau membunuh nyamuk yang menjadi penyebar (vektor). Pada umumnya, pemberantasan dilakukan dengan 2 cara. Pertama, dengan menggunakan anti nyamuk yang untuk melindungi tubuh dari gigitan nyamuk atau insektisida untuk membunuh nyamuk [2]. Penanganan nyamuk dengan metode ini berpotensi menyebabkan keracunan. Penelitian yang dilakukan oleh Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Vektor dan Reservoir Penyakit, Salatiga, melaporkan jenis pembasmi serangga serta bahan aktifnya yang beredar di kota Salatiga [3]. Berdasarkan studi yang dilakukan, golongan senyawa piretroid dan turunannya merupakan bahan aktif yang paling sering ditemukan. Golongan senyawa ini memiliki tingkat toksisitas IIIU (tidak berbahaya jika digunakan secara normal) hingga tingkat toksisitas II (berbahaya) [4].

Metode kedua yaitu dengan menambahkan larvasida ke dalam tempat atau wadah yang dapat menampung air (tandon air, kolam, akuarium, dan lain sebagainya) untuk membunuh larva nyamuk yang mungkin terdapat di dalamnya. Temephos merupakan senyawa kimia yang paling sering dipergunakan sebagai larvasida nyamuk. Senyawa ini membunuh larva sebelum larva berubah menjadi nyamuk. Temephos memiliki kelemahan yaitu kemungkinan larva menjadi resisten seiring berjalannya waktu dan penggunaan dalam jumlah yang tidak sesuai dosis.

Resistensi nyamuk *A. aegypti* terhadap temephos pertama kali dilaporkan di Rio de Janeiro, Brazil pada tahun 1999 [5]. Di Indonesia, kasus serupa dilaporkan terjadi di beberapa wilayah, antara lain Yogyakarta dan Jawa Tengah. Penelitian tersebut melaporkan bahwa beberapa daerah di Yogyakarta dan Jawa Tengah telah mengalami resistensi terhadap malathion (senyawa aktif atau insektisida yang dipergunakan untuk pengasapan) dan temephos [6]. Oleh karena itu, diperlukan adanya larvasida lain yang dapat menggantikan temephos. Selain itu, senyawa tersebut hendaknya juga aman terhadap lingkungan terutama organisme non-target.

Marigold (*Tagetes erecta* L) merupakan tanaman yang biasanya dipergunakan sebagai tanaman hias. Tanaman ini juga dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional [7] maupun sebagai insektisida dan fungisida [8]. Metabolit sekunder seperti senyawa turunan fenol, fenilpropanoid, turunan tiofena, turunan benzofuran, triterpene, steroid, alkaloid, flavonoid, karotenoid, dan lain – lain, ditemukan di dalam tanaman ini [9]. Beberapa diantara senyawa tersebut menunjukkan potensi sebagai bahan aktif obat. Berdasarkan kandungan *T. erecta* di atas, ekstrak tanaman ini dipandang memiliki potensi untuk dipergunakan sebagai alternatif pengganti temephos. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui seberapa besar potensi ekstrak *T. erecta* sebagai biolarvasida yang ramah lingkungan ditinjau dari nilai LC₅₀.

METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Universitas Kristen Satya Wacana, Salatiga. Aseton dan heksan yang dipergunakan sebagai pelarut, berjerajat pro analisis. Daun dan akar *T. erecta* diperoleh dari area Bandung, Kabupaten Semarang. Larva nyamuk *A. aegypti* instar 3 dan 4 diperoleh dari Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Vektor dan Reservoir Penyakit (B2P2VRP), Salatiga.

Ekstraksi Sampel

Sampel, yang sebelumnya telah dikeringanginkan dan dihaluskan, dimarserasi selama 24 jam dengan menggunakan pelarut heksan. Campuran ini kemudian disaring dan filtrat diuapkan. Langkah ini diulang sebanyak dua kali. Residu yang diperoleh kemudian dimarserasi kembali dengan menggunakan pelarut aseton. Perlakuan yang sama dilakukan pada proses maserasi ini.

Pembuatan Larutan Uji

Larutan uji dibuat menjadi beberapa seri konsentrasi: 0, 0,0075, 0,015, 0,03, dan 0,1% (b/v). Akuades dipergunakan sebagai pelarut untuk ekstrak fraksi aseton dan akuades:gom arab (1:1) dipergunakan sebagai pelarut ekstrak fraksi heksan.

Uji Larvasida

Uji larvasida mengacu pada WHOPES [10]. 10 ekor larva nyamuk *A. aegypti* dimasukan ke dalam cawan petri yang berisi 25 ml larutan uji. Persentase mortalitas larva diamati pada jam ke 24, 48, dan 72.

Analisa Data

Data mortlitas larva nyamuk dianalisa dengan menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) sub-sampling dengan 5 perlakuan, 5 ulangan, dan 2 sub-sampel pada setiap tipe ekstrak dan instar larva nyamuk. Perbedaan antar perlakuan dianalisa dengan menggunakan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) dengan selang kepercayaan 5%. Analisa Probit dipergunakan untuk menentukan LC_{50} ekstrak.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak Daun *T. erecta*

Persentase mortalitas dari larva *A. aegypti* instar 3 dan 4 dalam berbagai konsentrasi ekstrak daun *T. erecta* fraksi heksan dan aseton setelah 24, 48, dan 72 jam dapat dilihat pada Tabel 1 dan 2. Hasil pengamatan menunjukan tidak ada larva nyamuk yang mati pada kontrol (0%), dimana akuades:gom arab (1:1) dipergunakan sebagai kontrol pada fraksi heksan dan akuades sebagai kontrol pada fraksi aseton.

Berdasarkan data yang diperoleh, mortalitas larva bertambah seiring bertambahnya waktu dan konsentrasi ekstrak. Hasil yang diperoleh menunjukan mortalitas tertinggi ekstrak daun fraksi heksan diperoleh pada konsentrasi 0,03% setelah larva terekspos selama 72 jam, baik pada instar 3 (73%) maupun instar 4 (61%). Mortalitas terendah ditunjukkan pada konsentrasi 0,0075% setelah larva terekspos 24 jam (4% untuk instar 3 dan 1% untuk instar 4). Data ini menunjukan bahwa ekstrak daun *T. erecta* fraksi heksan lebih efektif membunuh larva nyamuk *A. aegypti* instar 3 (Tabel 1).

Tabel 1. Mortalitas (% \pm SE) Larva Nyamuk *A. aegypti* Dalam Berbagai Konsentrasi Ekstrak Daun *T. erecta* Fraksi Heksan

| Larva Instar | Waktu (Jam) | W | Konsentrasi (% b/v) | | | | |
|--------------|-------------|-------|---------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------|
| | | | 0 | 0.0075 | 0.015 | 0.03 | 0.1 |
| 3 | 24 | 10.76 | 0 \pm 0 (a) | 4 \pm 3.69 (a) | 9 \pm 6.26 (ab) | 17 \pm 5.98 (b) | 28 \pm 6.57 (b) |
| | 48 | 11.89 | 0 \pm 0 (a) | 25 \pm 6.95 (b) | 30 \pm 6.74 (b) | 43 \pm 5.89 (c) | 52 \pm 3.02 (c) |
| | 72 | 9.94 | 0 \pm 0 (a) | 51 \pm 7.11 (b) | 52 \pm 5.64 (b) | 73 \pm 4.83 (c) | 82 \pm 5.64 (c) |
| 4 | 24 | 5.09 | 0 \pm 0 (a) | 1 \pm 2.26 (a) | 3 \pm 3.45 (a) | 5 \pm 5.06 (a) | 11 \pm 6.26 (b) |
| | 48 | 13.65 | 0 \pm 0 (a) | 16 \pm 3.69 (b) | 17 \pm 5.89 (bc) | 26 \pm 5.00 (bc) | 30 \pm 4.77 (c) |
| | 72 | 9.82 | 0 \pm 0 (a) | 37 \pm 3.45 (b) | 45 \pm 6.08 (b) | 61 \pm 5.28 (c) | 60 \pm 5.84 (c) |

Catatan: Angka yang diikuti huruf yang sama dalam satu baris tidak berbeda signifikan secara statistik

Ekstrak daun *T. erecta* fraksi aseton menunjukan efektivitas yang berdeda dengan fraksi heksan. Fraksi aseton lebih efektif membunuh larva instar 4 nyamuk *A. aegypti* (Tabel 2). Fraksi ini mampu membunuh 66% larva nyamuk instar 3 dan membunuh 88% larva nyamuk instar 4 keduanya setelah terpapar ekstrak selama 72 jam. Hasil ini sangat menarik untuk dikaji lebih lanjut untuk mengetahui komponen senyawa kimia spesifik yang berperan dalam perbedaan efektivitas masing – masing fraksi.

Tabel 2. Mortalitas (% \pm SE) Larva Nyamuk *A. aegypti* Dalam Berbagai Konsentrasi Ekstrak Daun *T. erecta* Fraksi Aseton

| Larva Instar | Waktu (Jam) | W | Konsentrasi (% b/v) | | | | |
|--------------|-------------|-------|---------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------|
| | | | 0 | 0.0075 | 0.015 | 0.03 | 0.1 |
| 3 | 24 | 21.66 | 0 \pm 0 (a) | 1 \pm 2.26 (a) | 4 \pm 3.69 (ab) | 20 \pm 7.54 (ab) | 25 \pm 3.77 (b) |
| | 48 | 29.24 | 0 \pm 0 (a) | 10 \pm 5.84 (ab) | 21 \pm 6.26 (ab) | 38 \pm 4.52 (bc) | 53 \pm 7.58 (c) |

| | | | | | | | |
|---|----|-------|--------------|-------------------|-------------------|-------------------|------------------|
| | 72 | 15.24 | 0 ± 0 (a) | 42 ± 4.52 (b) | 45 ± 5.06 (b) | 66 ± 5.00 (c) | 72 ± 7.39 (c) |
| | 24 | 15.42 | 0 ± 0 (a) | 12 ± 8.12 (ab) | 26 ± 5.00 (b) | 58 ± 5.64 (c) | 75 ± 6.08 (d) |
| 4 | 48 | 20.13 | 0 ± 0 (a) | 48 ± 5.64 (b) | 53 ± 4.83 (b) | 79 ± 8.56 (c) | 91 ± 4.06 (c) |
| | 72 | 23.51 | 0 ± 0 (a) | 62 ± 7.39 (b) | 71 ± 7.87 (bc) | 88 ± 7.13 (cd) | 96 ± 4.33 (d) |

Catatan: Angka yang diikuti huruf yang sama dalam satu baris tidak berbeda signifikan secara statistik

Ekstrak Akar *T. erecta*

Hasil berbeda ditunjukkan oleh ekstrak akar *T. erecta*. Kedua fraksi ekstrak menunjukkan mortalitas tertinggi pada instar 3 larva nyamuk *A. aegypti* (Tabel 3 dan 4). Kontrol (0%) yang dipergunakan pada pengujian ini sama seperti yang dipergunakan pada pengujian dengan ekstrak daun. Fraksi heksan dari ekstrak batang mencapai efektivitas 100% pada konsentrasi 0,03% setelah instar 3 larva terpapar ekstrak selama 72 jam dan efektivitas 98% pada konsentrasi 0,03% setelah larva instar 4 terpapar ekstrak selama 72 jam. Serupa dengan hasil tersebut, fraksi aseton memberikan mortalitas tertinggi (100%) pada konsentrasi 0,03% untuk instar 3 dan 0,1% untuk instar 4. Kedua hasil tersebut diperoleh setelah larva terpapar ekstrak selama 72 jam.

Tabel 3. Mortalitas (% ± SE) Larva Nyamuk *A. aegypti* Dalam Berbagai Konsentrasi Ekstrak DAkar *T. erecta* Fraksi Heksan

| Larva Instar | Waktu (Jam) | W | Konsentrasi (% b/v) | | | | |
|-----------------|----------------|-------|---------------------|------------------|-------------------|------------------|-------------------|
| | | | 0 | 0.0075 | 0.015 | 0.03 | 0.1 |
| 3 | 24 | 14.57 | 0 ± 0 (a) | 46 ± 5.00 (b) | 55 ± 8.43 (b) | 70 ± 4.76 (c) | 76 ± 8.40 (c) |
| | 48 | 11.16 | 0 ± 0 (a) | 81 ± 6.26 (b) | 82 ± 5.46 (b) | 97 ± 4.83 (c) | 99 ± 2.56 (c) |
| | 72 | 5.98 | 0 ± 0 (a) | 93 ± 1.81 (b) | 99 ± 3.50 (bc) | 100 ± 0 (c) | 100 ± 0 (c) |
| 4 | 24 | 15.00 | 0 ± 0 (a) | 27 ± 3.45 (b) | 30 ± 4.77 (b) | 55 ± 7.73 (c) | 69 ± 5.28 (c) |
| | 48 | 11.62 | 0 ± 0 (a) | 54 ± 6.91 (b) | 65 ± 7.73 (b) | 84 ± 7.69 (c) | 96 ± 5.00 (d) |
| | 72 | 8.66 | 0 ± 0 (a) | 76 ± 6.91 (b) | 87 ± 9.57 (c) | 98 ± 3.87 (d) | 97 ± 14.34 (d) |

Catatan: Angka yang diikuti huruf yang sama dalam satu baris tidak berbeda signifikan secara statistik

Tabel 4. Mortalitas (% ± SE) Larva Nyamuk *A. aegypti* Dalam Berbagai Konsentrasi Ekstrak DAkar *T. erecta* Fraksi Aseton

| Larvae Instar | Time (hour) | W | Concentration (% w/v) | | | | |
|------------------|----------------|-------|-----------------------|-------------------|-------------------|-------------------|------------------|
| | | | 0 | 0.0075 | 0.015 | 0.03 | 0.1 |
| 3 rd | 24 | 9.49 | 0 ± 0 (a) | 8 ± 5.46 (a) | 9 ± 7.11 (a) | 29 ± 5.28 (b) | 42 ± 5.46 (c) |
| | 48 | 16.43 | 0 ± 0 (a) | 45 ± 10.25 (b) | 57 ± 7.58 (b) | 76 ± 7.69 (c) | 98 ± 3.01 (d) |
| | 72 | 16.24 | 0 ± 0 (a) | 80 ± 5.84 (b) | 87 ± 9.57 (bc) | 98 ± 3.02 (c) | 100 ± 0 (c) |
| 4 th | 24 | 18.80 | 0 ± 0 (a) | 9 ± 7.11 (a) | 35 ± 6.08 (b) | 67 ± 6.78 (c) | 80 ± 6.74 (c) |
| | 48 | 11.34 | 0 ± 0 (a) | 48 ± 10.00 (b) | 66 ± 6.03 (c) | 94 ± 6.91 (d) | 98 ± 3.02 (d) |
| | 72 | 2.44 | 0 ± 0 (a) | 74 ± 3.69 (b) | 85 ± 8.43 (c) | 97 ± 14.34 (d) | 100 ± 0 (e) |

Catatan: Angka yang diikuti huruf yang sama dalam satu baris tidak berbeda signifikan secara statistik

Analisa LC₅₀

Nilai LC₅₀ fraksi heksan dan aseton ekstrak daun dan batang *T. erecta* terhadap instar 3 dan 4 larva nyamuk *A. aegypti* setelah terpapar selama 24, 48, dan 72 jam disajikan dalam Tabel 5. Berdasarkan tabel tersebut, dapat dilihat bahwa nilai LC₅₀ bergantung pada konsentrasi dan lama paparan ekstrak terhadap larva. Semakin kecil nilai LC₅₀, berarti semakin kecil konsentrasi ekstrak yang diperlukan untuk memperoleh mortalitas larva sebesar 50%.

Tabel 5. Analisis LC₅₀

| <i>T. erecta</i> | Waktu (Jam) | Fraksi | | | |
|------------------|----------------|--------------|----------|--------------|----------|
| | | Heksan (ppm) | | Aseton (ppm) | |
| | | Instar 3 | Instar 4 | Instar 3 | Instar 4 |
| Daun | 24 | 1435 | 5776 | 2020 | 1040 |
| | 48 | 410 | 830 | 540 | 630 |
| | 72 | 170 | 270 | 200 | 460 |
| Batang | 24 | 190 | 300 | 850 | 900 |
| | 48 | 67 | 110 | 120 | 450 |
| | 72 | 37 | 70 | 57 | 61 |

Metabolit sekunder tanaman hingga sekarang masih diteliti sebagai larvasida alami. Penggunaannya diteliti di hampir semua belahan dunia dikarenakan sifat metabolit sekunder yang ramah lingkungan serta sumbernya (tanaman) mudah diperoleh. Nikkon [11] melaporkan aktivitas larvasida ekstrak etanol bunga *T. erecta* efektif membunuh larva nyamuk *Culex quinquefasciatus* instar 1, 2, 3, dan 4. Penelitian Raj [12] melaporkan bahwa ekstrak etanol, kloroform, dan petroleum eter dari bunga *T. erecta* memberikan efektivitas yang berbeda terhadap instar 1, 2, 3, dan 4 larva nyamuk *A. aegypti*. Badriyah [13] menggunakan 100% minyak atsiri dari daun *T. erecta* yang diuapkan sebagai insektisida nyamuk *A. aegypti* dan *Culex quinquefasciatus*. Hasil penelitian tersebut memperlihatkan bahwa minyak atsiri *T. erecta* memiliki kemamuan sebagai insektisida nyamuk, namun hasilnya masih belum mampu menyaingi hasil yang diberikan oleh parathrin dengan konsentrasi 13,16 g L⁻¹. Penelitian Mahdalena [14] menghasilkan LC₉₅ ekstrak etanol *T. erecta* setelah terekspos selama 24 jam yaitu sebesar 7456 ppm. Penelitian – penelitian tersebut menunjukkan bahwa *T. erecta* memiliki potensi sebagai biolarvasida.

Pada penelitian ini diperoleh hasil ekstrak akar *T. erecta* fraksi heksan memberikan nilai LC₅₀ terendah (37 ppm) pada larva nyamuk instar 3 setelah terpapar selama 72 jam (Tabel 5). Hasil ini didukung oleh penelitian Marques [15] yang menyatakan bahwa pada bagian akar *T. erecta* terkandung senyawa golongan tiofena (salah satu senyawa yang memberikan efek larvasida) lebih banyak dari pada bagian daun dan batang, namun lebih sedikit dari pada bagian bunga.

Tehri dan Naresh [16] menyatakan pada umumnya senyawa bahan alam memiliki bioaktivitas spesifik. Namun, jika efek sinergis antara senyawa terjadi, hal ini kemungkinan akan meningkatkan bioaktivitas jika dibandingkan dengan senyawa spesifiknya. Oleh karena itu, penelitian lebih lanjut tentang senyawa spesifik yang menyebabkan efek larvasida pada *T. erecta* sangat dianjurkan.

KESIMPULAN

Penelitian ini mengindikasikan ekstrak daun dan akar *T. erecta* fraksi aseton maupun heksan memiliki potensi sebagai biolarvasida nyamuk *A. aegypti*. Persen mortalitas meningkat seiring bertambahnya waktu dan konsentrasi, baik pada instar 3 dan 4. LC₅₀ terendah diperoleh pada ekstrak akar fraksi heksan (37 ppm) untuk larva instar 3 dan ekstrak akar fraksi aseton (61 ppm) untuk larva instar 4.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] “WHO. (2018). Dengue data application,” WHO.
- [2] Anggriani, R., (2010), “Uji Larvasida Ekstrak Rimpang Lengkuas (*Alpinia galangan* SW) Terhadap Kematian Larva Nyamuk *Aedes aegypti*,” Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- [3] Joharina, A. S., and Alfiah, S., (2012). “Descriptive Analysis Of Household Insecticide In Community,” *Vektora*, vol. 4, no. 1.
- [4] Becker, N. *et al.*, (2010) “Systematics,” in *Mosquitoes and Their Control*, Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, pp. 3–8.
- [5] Lima, J.B.P., *et al.*, (2003) “Resistance of *Aedes aegypti* to organophosphates in several municipalities in the State of Rio de Janeiro and Espírito Santo, Brazil,” *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, vol. 68, no. 3, pp. 329–33.

- [6] Boewono, D. T., and Widiarti, (2007) "Susceptibility Of Dengue Haemorrhagic Fever Vector (*Aedes Aegypti*) Against Organophosphate Insecticides (Malathion And Temephos) In Some Districts Of Yogyakarta And Central Java Provinces," *Bul. Penel. Kesehat.*, vol. 35, no. 2, pp. 49–56.
- [7] J. Chang Ping, (2009) "Studies on the Effective Component for Antitussive from *Tagetes Erecta* L.," Heliongjia University of Traditional Chinese Medicine.
- [8] P. Vasudevan, S. Kashyap, and S. Sharma, (1997) "Tagetes: A multipurpose plant," *Bioresour. Technol.*, vol. 62, no. 1–2, pp. 29–35.
- [9] L. Xu, J. Chen, H. Qi, and Y. Shi, (2012) "Phytochemicals and Their Biological Activities of Plants in *Tagetes* L.," *Chinese Herb. Med.*, vol. 4, no. 2, pp. 103–117.
- [10] WHO, (2005) "Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides," *World Heal. Organ. Commun. Dis. Control. Prev. Erad. Who Pestic. Eval. Scheme*, pp. 1–41.
- [11] F. Nikkon, M. R. Habib, Z. A. Saud, and M. R. Karim, (2011) "Tagetes erecta Linn. and its mosquitocidal potency against *Culex quinquefasciatus*," *Asian Pac. J. Trop. Biomed.*, vol. 1, no. 3, pp. 186–188.
- [12] S. H. C. Raj and N. Shettu, (2017) "Larvicidal Effects of Ethanolic Extract of Flowers (Buds and Calyx) of *Tagetes Erecta* and Its Chloroform and Petroleum Ether Soluble Fractions Against the," vol. 6, no. 11, pp. 689–697.
- [13] S. Badriyah, T. Hadiano, N. Istiyana, T. Baskoro Tu, and A. Diptyanusa, (2018) "Mosquitocidal Activities of *Tagetes erecta* L. Compared to Prallethrin Against *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae)," *Res. J. Med. Plants*, vol. 12, no. 2, pp. 65–71.
- [14] V. Mahdalena, T. Ni'mah, R. H. Komariah, H. Sitorus, and M. Marini, (2018) "Potensi Daya Tolak Ekstrak Daun Marigold (*Tagetes erecta* L.) terhadap Nyamuk *Aedes aegypti*," *Balaba J. Litbang Pengendali. Penyakit Bersumber Binatang Banjarnegara*, pp. 53–62.
- [15] M. M. M. Marques *et al.*, (2011) "Larvicidal activity of *Tagetes erecta* against *Aedes aegypti*," *J. Am. Mosq. Control Assoc.*, vol. 27, no. 2, pp. 156–158.
- [16] K. Tehri and S. Naresh, (2015) "The role of botanicals as green pesticides in integrated mosquito management – A review," *Int. J. Mosq. Res.*, vol. 2, no. 1, pp. 18–23.