

PENELITIAN | RESEARCH

Studi Toksisitas: Ekstrak Metanol Bonggol Pisang Ambon (*Musa acuminata* L. cv. Gros Michel) terhadap *Aedes aegypti* (Diptera: Culcidae)

Toxicity Study: Methanol Extract of Ambon Banana Hump (Musa acuminata L. cv. Gros Michel) against Aedes aegypti (Diptera: Culcidae)

Siskha Noor Komala^{1*}, Bambang Heru Budianto¹, Edi Basuki¹

¹ Program Studi S-2 Ilmu Biologi Fakultas Biologi Universitas Jenderal Soedirman.

Abstract. *Aedes aegypti* mosquito is the main vector of dengue virus causing dengue hemorrhagic fever (DHF) in Indonesia. The main preventive action is to control the presence of *Ae. aegypti* mosquito. Banana plants are known to contain secondary metabolite compounds acting as a natural insecticide, including the hump part. This research was conducted to evaluate the toxicity of hump of Ambon banana extract (*Musa acuminata* L. cv. Gros Michel) to dengue vector *Ae. aegypti* mosquito. The research used experimental method, the treatment concentration was 0.001; 0.01; 0.1; 1; 10; 100 and 1000 ppm of Ambon banana methanol extract and 0 ppm concentration as a control, each with three replications. The variables observed were individual deaths at every stage of development and morphological damage. The data obtained were analyzed using the analysis of variety and Duncan test with 95% confidence level. In addition, probit analysis was used to determine the value of LC_{50} . The results showed that the study of toxicity indicates that in the further stage of development, the toxicity of methanol extract from Ambon banana hump was less toxic. Toxicity of Ambon banana hump methanol extract was highest in egg with LC_{50} value of 314,852 ppm. The methanol extract of banana Ambon has the morphological destructive activity in all development stages of *Ae. aegypti*.

Keywords: *Aedes aegypti*, hump, Ambon banana, *Musa acuminata*, toxicity

Abstrak. Nyamuk *Ae. aegypti* merupakan vektor utama virus dengue penyebab demam berdarah dengue (DBD) di Indonesia. Upaya pencegahan utama adalah dengan mengendalikan keberadaan nyamuk *Ae. aegypti*. Tanaman pisang diketahui memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yang memiliki aktivitas sebagai insektisida nabati, termasuk bagian bonggol. Penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi daya toksisitas ekstrak metanol bonggol pisang ambon (*Musa acuminata* L. cv. Gros Michel) terhadap nyamuk vektor dengue *Ae. aegypti*. Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimental dengan desain penelitian rancangan acak lengkap (RAL), perlakuan yang dicoba berupa konsentrasi ekstrak metanol bonggol pisang ambon 0,001; 0,01; 0,1; 1; 10; 100, 1000 ppm dan 0 ppm sebagai kontrol, masing-masing dengan tiga kali ulangan. Variabel yang diamati adalah kematian individu pada setiap tahap perkembangan dan kerusakan morfologi. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan analisis ragam dan uji duncan dengan taraf kepercayaan 95%, dan untuk menentukan nilai LC_{50} menggunakan analisis probit dengan aplikasi SPSS 16. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin lanjut tahap perkembangan nyamuk *Ae. aegypti*, ekstrak metanol bonggol pisang ambon semakin tidak toksik. Daya toksik ekstrak metanol bonggol pisang ambon paling tinggi pada telur dengan nilai LC_{50} 314,852 ppm, dengan aktivitas berupa penghambatan penetasan telur, sedangkan paling rendah pada imago dengan nilai LC_{50} 1755,077 ppm. Ekstrak metanol bonggol pisang ambon memiliki aktivitas merusak morfologi semua tahap perkembangan *Ae. aegypti*.

Kata Kunci: *Aedes aegypti*, bonggol, pisang ambon, *Musa acuminata*, toksisitas

Naskah masuk: 28 Mei 2018 | Revisi: 16 November 2018 | Layak terbit: 18 Desember 2018

*Corresponding Author. E-mail: siskhanoorkomala25@gmail.com | Tel : +62 877 284 26132

PENDAHULUAN

Penyakit demam berdarah dengue (DBD) adalah penyakit yang disebabkan oleh virus dengue dan ditularkan melalui vektor nyamuk *Aedes aegypti* dan *Aedes albopictus*. Nyamuk *Ae. aegypti* merupakan vektor utama virus dengue di Indonesia yang mempunyai habitat pada lingkungan dekat dengan manusia, sehingga mudah untuk menularkan virus dengue. Demam berdarah dengue merupakan penyakit endemis yang menjadi satu masalah kesehatan utama di Indonesia¹. Kasus DBD di Indonesia cenderung meningkat setiap tahun, pada tahun 2015 ditemukan sekitar 126.675 kasus dari 34 provinsi dan 436 (85%) kabupaten/kota².

Upaya pencegahan utama yang perlu dilakukan untuk menurunkan kejadian DBD salah satunya adalah dengan mengendalikan keberadaan nyamuk *Ae. aegypti*. Pengendalian penyakit yang ditularkan nyamuk menjadi semakin sulit karena meningkatnya resistensi nyamuk terhadap insektisida³. Penggunaan insektisida sintetik dapat memprovokasi efek toksik yang tidak diinginkan terhadap lingkungan dan kesehatan manusia⁴. Penggunaan insektisida nabati dari tanaman, selama dekade terakhir menunjukkan berbagai kemungkinan alternatif sebagai pengganti insektisida sintesis. Tumbuhan menghasilkan berbagai senyawa metabolit sekunder, yang mudah terurai dan tidak toksik terhadap hewan yang lebih tinggi⁵. Senyawa metabolit sekunder pada tanaman memiliki berbagai aktivitas terhadap insekta, seperti larvasida, ovisida, pupasida, repelen dan berbagai efek biologis lainnya⁶. Senyawa metabolit sekunder yang memiliki aktivitas sebagai insektisida tersebut, yaitu senyawa golongan glikosida seperti tanin, flavonoid, kuinon, saponin, fenol, dan polifenol⁷.

Salah satu tanaman yang memiliki kandungan metabolit sekunder dan banyak digunakan dalam bidang penelitian adalah tanaman pisang. Tanaman pisang diketahui memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yang tinggi diantaranya saponin, triterpenoid, steroid, flavonoid, tanin dan kuinon^{8,9}. Beberapa penelitian sebelumnya melaporkan bahwa pelepah pisang (*Musa paradisiaca* L.) memiliki kemampuan mortalitas 100% terhadap larva *Ae. aegypti* pada konsentrasi 0,5 ml dalam waktu 24 jam¹⁰. Selain itu ekstrak metanol akar pisang memiliki efek menghambat aktivitas oviposisi *Ae. aegypti* sebesar 97,5% pada konsentrasi 1%¹¹. Senyawa metabolit sekunder pada pelepah dan akar pisang tersebut terdiri dari alkaloid, flavonoid, saponin, fenol dan tanin^{11,12}. Saat ini pengendalian nyamuk lebih difokuskan terhadap larva nyamuk.

Bagian tanaman pisang yang saat ini jarang dimanfaatkan oleh masyarakat adalah bonggol. Senyawa metabolit sekunder pada ekstrak bonggol pisang ambon memiliki aktivitas menyembuhkan luka terbuka pada tikus¹³. Selain itu bonggol pisang ambon juga memiliki aktivitas sebagai obat lambung terhadap tikus yang diinduksi indometachin¹⁴. Ekstrak bonggol pisang memiliki efek sebagai antibakterial dengan daya hambat dan kandungan metabolit sekunder tertinggi dibandingkan bagian tanaman pisang yang lain^{15,16}. Pisang Ambon memiliki kandungan metabolit sekunder paling tinggi dibandingkan varietas lain^{17,18}. Berdasarkan literatur dari penelitian terdahulu yang telah dipaparkan, senyawa metabolit sekunder pada bonggol pisang diduga memiliki aktivitas sebagai insektisida nabati. Sejauh survei literatur, kami belum menemukan informasi yang tersedia tentang bonggol pisang ambon (*Musa acuminata* L. cv. Gros Michel) sebagai insektisida nabati terhadap nyamuk *Ae. aegypti*. Oleh karena itu penelitian ini perlu dilakukan untuk mengevaluasi daya toksisitas dan aktivitas biologi dari ekstrak bonggol pisang ambon (*M. acuminata* L. cv. Gros Michel) terhadap *Ae. aegypti*. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat mendukung bonggol pisang ambon menjadi salah satu insektisida nabati untuk menurunkan populasi *Ae. aegypti* sampai populasi yang dapat ditolerir, sehingga kemampuan sebagai vektor akan berkurang bahkan menghilang.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan menggunakan metode eksperimental dengan desain penelitian rancangan acak lengkap (RAL), perlakuan yang dicoba berupa konsentrasi bertingkat, yaitu 0,001; 0,01; 0,1; 1; 10; 100 dan 1000 ppm, dan kontrol (0 ppm) masing-masing dengan tiga kali ulangan. Alat dan bahan yang digunakan berupa *rotary evaporator*, plat KLT, lampu UV, mikroskop disekting (stereo) dan kompon, metanol, HCl₃, FeCl₃ 2%, H₂SO₄, etanol, reagen Liebermann, reagen Dagendrof, NaNO₂, kloroform serta nyamuk *Ae. aegypti* strain Pangandaran hasil rearing di laboratorium insektarium Loka Litbang Kesehatan Pangandaran.

A. Pengambilan Sampel Bonggol Pisang Ambon

Sampel bonggol pisang ambon diperoleh dari perkebunan warga Desa Kadupandak Kecamatan Tambaksari Kabupaten Ciamis Jawa Barat, yang berumur dua bulan setelah panen. Berat sampel bonggol pisang ambon yang digunakan sebanyak enam kg.

B. Ekstraksi Bonggol Pisang Ambon

Ekstraksi bonggol pisang ambon dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol mengikuti metode yang dilakukan Asuquo dan Udobi¹⁹. Sampel bonggol pisang ambon di potong tipis, kemudian dikeringkan dengan ditutupi oleh kain hitam di bawah sinar UV, lalu ditumbuk hingga menjadi simplisia dan ditimbang berat keringnya. Simplisia bonggol pisang ambon dimaserasi selama empat hari (4 x 24 jam), dengan perbandingan 1:8 pada hari pertama, yaitu 600gram simplisia dilarutkan pada 4800 mL metanol, dan 1:5 pada hari selanjutnya yaitu 600 gram simplisia dilarutkan pada 3000 mL metanol. Ekstraksi tersebut menggunakan metanol karena memiliki kemampuan lebih baik untuk melepaskan berbagai senyawa metabolit sekunder yang terikat pada dinding sel tanaman^{8,11,20}. Setiap 24 jam sekali rendaman disaring dan filtrat yang diperoleh ditampung dalam wadah penampungan (botol remaserasi). Filtrat lalu diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C, sehingga diperoleh ekstrak kental dan pekat bonggol pisang ambon sebanyak 20,59 gram.

C. Skrining Fitokimia Bonggol Pisang Ambon Menggunakan Metode Kromatografi Lapis Tipis

Ekstrak kasar hasil maserasi diuji fitokimia menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT) standar (Harborne, 1998). Fase diam menggunakan plat KLT berupa silika gel G dan fase gerak menggunakan kloroform: etanol dengan perbandingan 9:1²¹. Ekstrak kasar dilarutkan dengan 5 ml metanol, kemudian disimpan pada cawan dan ditutupi alumunium foil. Plat KLT dioptimasi pada suhu 110°C, kemudian dipotong dengan ukuran 10 cm x 2 cm. Ekstrak ditetaskan pada plat KLT menggunakan pipet kapiler berukuran 5 mikron. Plat KLT dicelupkan pada fase gerak hingga ekstrak yang ditetaskan tertarik ke atas sampai tanda batas. Nilai Rf (retensi faktor) dihitung dengan rumus:

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh noda}}{\text{jarak yang ditempuh eluen atau pelarut}}$$

1. Uji Flavonoid: Plat KLT disemprot dengan citroborat (HCl₃), kemudian dioptimasi pada suhu 110°C selama 1 menit. Hasil positif menunjukkan perubahan warna pada plat KLT menjadi kuning apabila dilihat secara langsung maupun menggunakan lampu UV dengan panjang gelombang 366 nm²².
2. Uji tannin: Plat KLT disemprot dengan FeCl₃ 2%, kemudian dioptimasi pada suhu 110°C selama 1 menit. Hasil positif menunjukkan perubahan warna pada plat KLT menjadi hijau kehitaman atau abu²³.

3. Uji saponin: Plat KLT disemprot dengan reagen Liebermann, kemudian dioptimasi pada suhu 110°C selama 1 menit. Hasil positif menunjukkan perubahan warna pada plat KLT menjadi merah jambu²⁴.
4. Uji alkaloid: Plat KLT disemprot dengan reagen Dragendorff dan ditambahkan NaNO₂, kemudian dioptimasi pada suhu 110°C selama 1 menit. Hasil positif menunjukkan perubahan warna pada plat KLT menjadi kuning kemerahan atau kuning kecoklatan²⁵.
5. Uji terpenoid: Plat KLT disemprot dengan H₂SO₄ (asam sulfat), kemudian dioptimasi pada suhu 110°C selama 1 menit. Hasil positif menunjukkan perubahan warna pada plat KLT menjadi hitam keunguan²⁶.

D. Rearing Nyamuk *Ae. aegypti*

Tahap ini merupakan tahap persiapan, yaitu perbanyak nyamuk *Ae. aegypti* secara masal di ruang insektarium Loka Litbang Kesehatan Pangandaran. Proses rearing *Ae. aegypti* dilakukan selama satu bulan hingga dihasilkan kohort *Ae. aegypti* pradewasa (larva dan pupa), dewasa, dan telur dengan jumlah yang mencukupi untuk kebutuhan uji penelitian ini.

E. Uji Toksisitas Ekstrak Metanol Bonggol Pisang Ambon terhadap semua tahap perkembangan Nyamuk *Ae. aegypti* (Bioassay Test)

1. Aktivitas Ovicidal

Uji *ovicidal* nyamuk *Ae. aegypti* dimodifikasi dari metode yang dilakukan Govindarajan²⁷ dan Sarma, *et al.*²⁸. Sebanyak 150 butir telur *Ae. aegypti* disimpan pada nampan berisi masing-masing konsentrasi ekstrak yang telah dilarutkan dalam 1200 ml air keran, kemudian diamati sampai mereka menetas atau mati (tidak menetas dalam waktu lima hari), serta diamati di bawah mikroskop untuk mengamati keadaan telur setelah diberi perlakuan. Kematian telur dievaluasi 144 jam (6 hari) setelah perlakuan.

2. Aktivitas Larvacidal

Aktivitas *larvacidal* ekstrak bonggol pisang ambon dievaluasi dengan memodifikasi metode yang dilakukan oleh Krzyzaniak²⁹. Sebanyak 20 larva instar IV dimasukkan ke dalam beker glass berisi masing-masing ekstrak yang dilarutkan dalam 200 ml air keran. Kematian larva dihitung, kemudian nilai *Lethal Concentration* 50 (LC₅₀) dihitung setelah 24 jam menggunakan analisis probit.

3. Aktivitas Pupicidal

Aktivitas *pupicidal* ekstrak bonggol pisang ambon dievaluasi dengan memodifikasi metode yang digunakan oleh Selvakumar, *et al.*³⁰.

Sebanyak 20 pupa dimasukkan ke dalam 50 ml air keran yang mengandung konsentrasi uji pada gelas plastik kecil dan disimpan di dalam paper cup, kemudian ditutup dengan kain kasa. Kematian setiap pupa atau jumlah imago yang muncul dicatat setelah 48 jam terpapar ekstrak.

4. Aktivitas *Imagicial*

Pengujian aktivitas *imagicial* dilakukan dengan cara memasukkan ekstrak pada makanan nyamuk. Masing-masing ekstrak uji dilarutkan dalam larutan air gula 10%, kemudian dimasukan ke dalam botol berukuran 100 ml. Botol yang berisi ekstrak tersebut lalu disimpan pada kandang nyamuk berukuran 20x20x20 cm, setelah itu dimasukkan 10 ekor nyamuk berumur 2 hari. Kematian setiap imago (nyamuk yang tidak mengalami pergerakan setelah pengusikan) dihitung dan dicatat setelah 48 jam terpapar ekstrak. Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan analisis ragam dan uji duncan dengan taraf kepercayaan 95%, kemudian untuk menentukan nilai LC_{50} menggunakan analisis probit dengan aplikasi SPSS 16.

HASIL

A. Kandungan Fitokimia Ekstrak Metanol Bonggol Pisang Ambon melalui Metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Hasil analisis fitokimia pada studi ini menunjukkan bahwa ekstrak metanol bonggol pisang ambon mengandung senyawa metabolit sekunder golongan flavonoid, tannin, saponin, alkaloid dan terpenoid yang ditunjukkan dengan perubahan warna noda yang dihasilkan dan nilai R_f digunakan sebagai indikator polaritas setiap senyawa. Tabel 1 menunjukkan bahwa pada studi ini senyawa flavonoid dan tanin memiliki nilai R_f paling rendah dibandingkan saponin alkaloid dan terpenoid.

B. Toksisitas (LC_{50}) Ekstrak Metanol Bonggol Pisang Ambon terhadap Nyamuk *Ae. aegypti*

Hasil analisis uji toksisitas ekstrak metanol bonggol pisang ambon memiliki efek toksik yang berbeda, ditunjukkan dengan nilai LC_{50} yang berbeda terhadap semua tahap perkembangan

nyamuk *Ae. aegypti*, dengan persentase mortalitas pada ekstrak di setiap tahap perkembangan berbeda signifikan dengan konsentrasi 0 ppm atau kontrol, terutama pada konsentrasi 1000 ppm. Hasil studi menunjukkan bahwa nilai LC_{50} mengalami peningkatan secara bertahap seiring dengan peningkatan tahap perkembangan nyamuk *Ae. aegypti* (Tabel.2). Semakin lanjut tahap perkembangan nyamuk, maka semakin tinggi pula nilai LC_{50} yang digunakan.

C. Analisis Morfologi Nyamuk *Ae. aegypti* yang dipapar Ekstrak Metanol Bonggol Pisang Ambon

Hasil analisis morfologi nyamuk *Ae. aegypti* menggunakan mikroskop stereo, menunjukkan bahwa ekstrak metanol bonggol pisang ambon dapat menyebabkan kelainan pada morfologi semua tahap perkembangan nyamuk *Ae. aegypti* (Gambar.1). Senyawa metabolit sekunder pada ekstrak metanol bonggol pisang ambon menyebabkan penghambatan penetasan telur (Gambar. 1a) dan kerusakan pada saluran pencernaan larva, ditandai dengan adanya pengendapan senyawa menyebabkan usus menjadi hitam, serta adanya peningkatan lumen perut, yang kemudian menyebabkan lisis (Gambar.1b,c).

Paparan ekstrak metanol bonggol pisang ambon menyebabkan sifon tempat berlangsungnya proses respirasi pada larva mengalami pigmentasi sehingga menjadi lebih hitam dibandingkan kontrol (Gambar. 1c). Ekstrak metanol bonggol pisang ambon, dapat menyebabkan kelainan morfologi pada pupa setelah terpapar ekstrak selama 48 jam, diantaranya pupa mengalami melanisasi kutikula pada bagian sefalotorak (pupa coklat), dan kegagalan molting, sehingga proses pembentukan imago terganggu, serta terjadi penempelan eksuvia pupa pada bagian perut, kaki dan sayap (Gambar. 1d,e). Imago *Ae. aegypti* yang terpapar ekstrak pada konsentrasi 1000 ppm, menunjukkan adanya pigmentasi pada beberapa bagian tubuh terutama pada bagian abdomen, sehingga menjadi lebih gelap dibandingkan dengan imago pada kontrol (Gambar. 1f).

Tabel. 1. Senyawa Metabolit Sekunder pada Ekstrak Metanol Bonggol Pisang Ambon Diuji melalui Metode KLT

No.	Senyawa metabolit sekunder	Reagen	Warna noda yang dihasilkan	Nilai R_f
1.	Flavonoid	HCl3	Kuning	0.517
2.	Tannin	FeCl3 2%	Hijau kehitaman	0.556
3.	Saponin	Hiberman	Merah jambu	0.741
4.	Alkaloid	Dagendrof	Kuning kecoklatan	0.630
5.	Terpenoid	H2SO4	Hitam keunguan	0.890

PEMBAHASAN

Kandungan senyawa metabolit sekunder pada ekstrak metanol bonggol pisang ambon seperti yang terdapat pada Tabel 1 menunjukkan bahwa senyawa flavonoid dan tanin memiliki nilai Rf yang rendah, sifatnya lebih polar dan memiliki koefisien distribusi yang lebih besar dibandingkan senyawa alkaloid, saponin, dan terpenoid. Setiap senyawa akan memberikan nilai Rf yang berbeda pada sistem pelarut yang berbeda³¹. Nilai Rf senyawa fitokimia penelitian ini sesuai dengan kisaran nilai Rf pada pelarut kloroform dan etanol penelitian lain, yaitu flavonoid (0.5 – 0.9); tanin (0.5 – 0.9); saponin (0.5 – 0.8); alkaloid (0.6 – 0.7); terpenoid (0.1 – 0.9)^{32,33}. Senyawa dengan nilai Rf yang lebih rendah memiliki koefisien distribusi yang lebih besar, karena senyawa tertahan lebih kuat pada fase diam daripada fase geraknya³⁴. Senyawa metabolit sekunder dengan nilai koefisien distribusi besar, secara kuantitatif cenderung memiliki jumlah yang lebih tinggi pada ekstrak daripada senyawa yang memiliki koefisien distribusi rendah dan nilai Rf besar³⁵.

Hasil analisis fitokimia pada penelitian ini sesuai dengan studi yang dilakukan oleh Onyenekwe, *et al.*⁹ serta Soesanto & Rahayuniati³⁶ yang menjelaskan bahwa ekstrak tanaman pisang mengandung senyawa metabolit sekunder seperti tanin, flavonoid, terpenoid, dan alkaloid sebagai kelompok fitokimia utama.

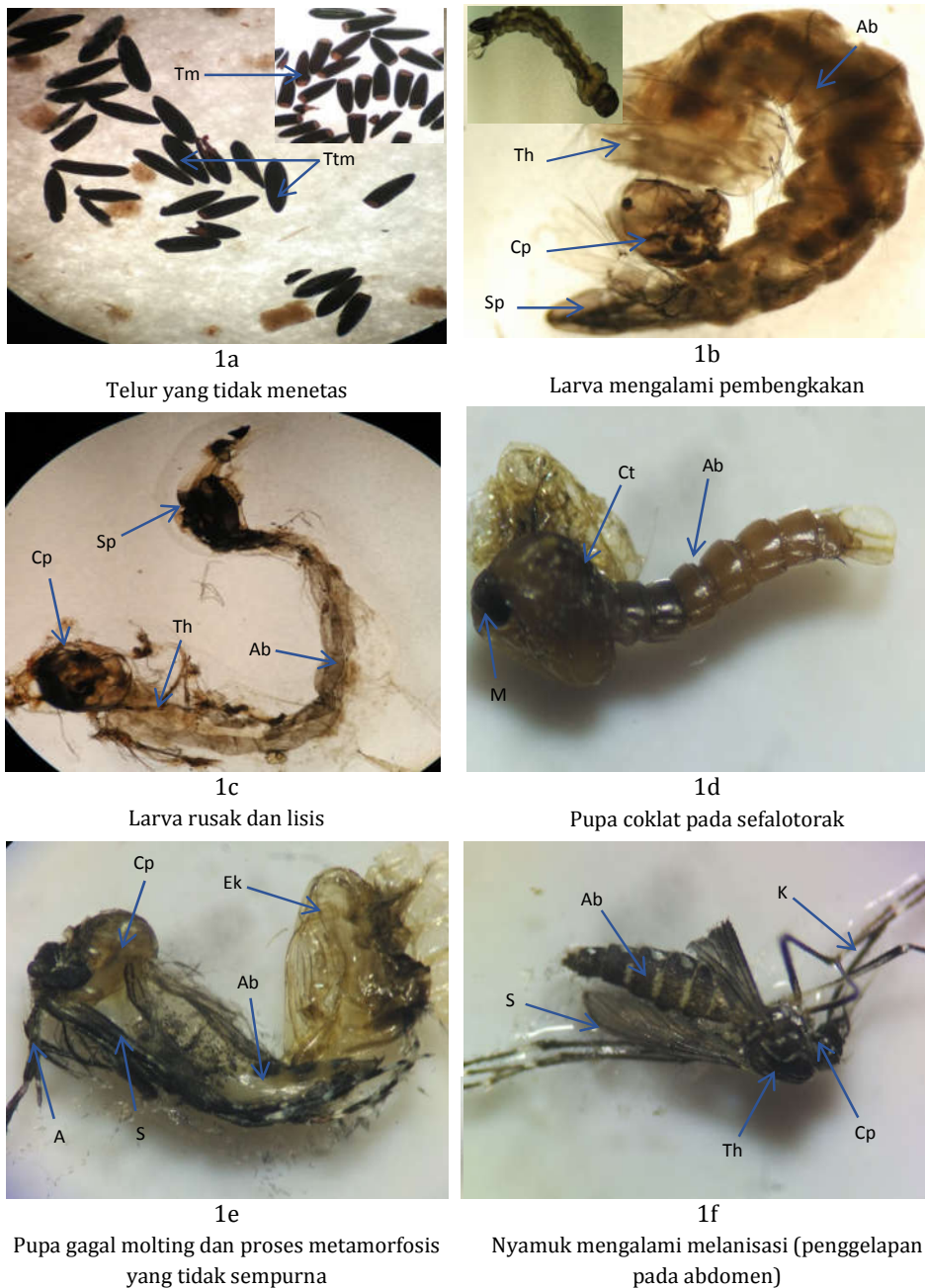
Senyawa metabolit sekunder pada ekstrak metanol bonggol pisang ambon diduga memiliki aktivitas sebagai insektisida nabati terhadap nyamuk *Aedes aegypti*. Senyawa metabolit sekunder golongan alkaloid, terpenoid, tanin, saponin, dan flavonoid telah terbukti memiliki potensi untuk digunakan sebagai pengendali nyamuk *Ae. aegypti*⁷.

Ekstrak metanol bonggol pisang ambon memiliki daya toksik paling tinggi terhadap telur *Ae. aegypti*, dengan nilai LC₅₀ sebesar 314,852 ppm dan mortalitas tertinggi sebesar 64% dengan lama paparan 144 jam. Efek toksisitas yang diberikan oleh ekstrak metanol bonggol pisang ambon adalah menghambat penetasan telur (Gambar. 1a)

Tabel. 2 Uji Toksisitas Ekstrak Metanol Bonggol Pisang Ambon terhadap Semua Tahap Perkembangan Nyamuk *Ae. Aegypti*

Tahap Perkembangan	Konsentrasi (ppm)	Waktu (Jam)	Mortality (%) ±SD	LC ₅₀ (ppm)	LC ₉₀ (ppm)
Telur	0	144	27,33 ± 6,57 ^a	314,852	6101,131
	0,001		41,33 ± 5,70 ^b		
	0,01		54,67 ± 4,81 ^{bc}		
	0,1		50,00 ± 5,70 ^b		
	1		53,33 ± 5,70 ^{bc}		
	10		53,11 ± 3,36 ^{bc}		
	100		52,22 ± 9,05 ^{bc}		
	1000		64,00 ± 11,39 ^c		
Larva Instar IV (L4)	0	24	0,00 ± 0,00 ^a	700,086	1393,704
	0,001		0,00 ± 0,00 ^a		
	0,01		13,33 ± 7,64 ^{abc}		
	0,1		11,67 ± 7,64 ^{abc}		
	1		21,67 ± 2,89 ^c		
	10		18,33 ± 2,89 ^{bc}		
	100		6,67 ± 2,89 ^{ab}		
	1000		71,67 ± 17,56 ^d		
Pupa	0	48	0,00 ± 0,00 ^a	1075,296	2370,559
	0,001		15,00 ± 8,67 ^{ab}		
	0,01		15,00 ± 8,67 ^{ab}		
	0,1		23,33 ± 11,55 ^b		
	1		8,33 ± 2,89 ^{ab}		
	10		20,00 ± 10,00 ^b		
	100		18,33 ± 14,43 ^b		
	1000		46,67 ± 11,55 ^c		
Imago	0	48	0,00 ± 0,00 ^a	1755,077	3121,375
	0,001		0,00 ± 0,00 ^a		
	0,01		0,00 ± 0,00 ^a		
	0,1		0,00 ± 0,00 ^a		
	1		13,33 ± 5,77 ^b		
	10		13,33 ± 5,77 ^b		
	100		10,00 ± 0,00 ^b		
	1000		23,33 ± 8,97 ^c		

Keterangan : Kolom yang diikuti dengan huruf yang sama tidak berbeda secara signifikan pada taraf nyata P < 0,05.



Gambar. 1. Analisis morfologi tahap perkembangan nyamuk *Ae. aegypti* yang diinduksi ekstrak metanol bonggol pisang ambon konsentrasi 1000 ppm. Keterangan: Tm = telur menetas; Cp = sefal; Th = torak; Ab = abdomen; Sp = sifon; Ct = sefalotorak; M = mata; A = antena; S = sayap; Ek = eksuvia pupa; K = kaki.

Temuan serupa tentang aktivitas ovisida ekstrak tanaman terhadap nyamuk *Ae. aegypti* dicatat oleh Subashini, et al.³⁷ menunjukkan bahwa ekstrak *Scutellaria violace* memberikan nilai LC_{50} sebesar 322,40 ppm, dan penelitian Samidurai, et al.³⁸ melaporkan bahwa ekstrak *Pemphis acidula* memberikan nilai LC_{50} sebesar

400 ppm, dimana kedua jenis ekstrak tersebut memiliki nilai LC_{50} yang lebih tinggi daripada studi ini, sehingga dapat dikatakan bahwa ekstrak metanol bonggol pisang ambon memiliki efek toksik lebih tinggi untuk menghambat penetasan telur.

Penghambatan penetasan telur diduga disebabkan oleh adanya senyawa metabolit sekunder golongan flavonoid³⁹. Senyawa tersebut dapat masuk ke lapisan korion, sehingga mengganggu permeabilitas membran, memengaruhi proses embriogenesis, dan menyebabkan kematian embrio sehingga telur tidak dapat menetas^{28,40}. Waktu paparan berperan penting dalam menyebabkan toksisitas, semakin lama terpapar maka semakin efektif senyawa menghambat⁴¹.

Efek toksik ekstrak metanol bonggol pisang ambon pada larva (L4) memberikan nilai LC₅₀ sebesar 700,086 ppm setelah 24 jam paparan. Persentase mortalitas tertinggi pada konsentrasi 1000 ppm yaitu sebesar 71,67%. Hasil studi terhadap larva L4 ini mirip dengan laporan dari Shivarman, *et al.*⁴² menyatakan bahwa ekstrak biji *Semecarpus anacardium* L memberikan nilai LC₅₀ sebesar 669,96 ppm terhadap larva L4 nyamuk *Ae. aegypti*.

Saranya, *et al.*⁴³ dan Palanikumar, *et al.*⁴⁴ melaporkan bahwa senyawa golongan flavonoid yang terdapat pada ekstrak *Spathodea campanulata*, dan ekstrak metanol *Callistemon citrinus* memiliki aktivitas larvasida, yaitu dapat mengganggu fungsi mitokondria, khususnya reaksi transfer elektron sehingga menurunkan produksi ATP dan mengurangi penggunaan O₂, sehingga proses metabolisme makanan terhambat. Penghambatan proses metabolisme menyebabkan terjadinya pengendapan berbagai senyawa pada usus larva, sehingga lumen perut menjadi meningkat (hipertonis) menyebabkan air dari luar usus masuk melalui proses osmosis, dan menyebabkan usus menjadi bengkak dan akhirnya lisis serta rusak, sehingga perut menjadi lumpuh dan nyamuk berhenti makan^{33,45,46}.

Senyawa alkaloid, saponin dan terpenoid yang terdapat pada ekstrak juga memiliki aktivitas larvasida, yang menyebabkan kerusakan midgut karena adanya degenerasi sel yang menyebabkan larva tidak berkembang dan akhirnya menyebabkan kematian⁴⁷. Temuan tersebut sesuai dengan studi dari Ragavendran, *et al.*⁴⁸, menjelaskan bahwa ekstrak *Penicillium dalaе* menimbulkan munculnya *dark black spot* pada torak dan sifon. Penggelapan pada area sifon tersebut diakibatkan karena adanya senyawa metabolit sekunder yang penetrasi di kutikula saluran pernafasan, sehingga terjadi pengendapan senyawa di sifon dan menyebabkan penghambatan sistem pernafasan larva^{33,49}.

Efek toksik ekstrak metanol bonggol pisang ambon pada pupa lebih rendah, dibandingkan telur dan larva, yaitu hanya mampu menyebabkan kematian sebesar 46,67% pupa dan memberikan nilai LC₅₀ yang lebih besar yaitu 1075,296 ppm. Berbeda dengan studi terhadap pupa dari

tanaman lain pada umumnya, diantaranya temuan Venkadachalam, *et al.*⁵⁰, ekstrak *Tephrosia purpurea* menunjukkan aktivitas pupasida yang cukup baik, dengan nilai LC₅₀ sebesar 326,29 ppm. Jeyasankar and Chinnamani⁵¹ melaporkan bahwa ekstrak metanol *Solonom pseudocapsicum* memberikan nilai LC₅₀ sebesar 456,39 ppm terhadap pupa nyamuk *Ae. aegypti*.

Beberapa penelitian sebelumnya mengungkapkan bahwa dari semua tahap perkembangan nyamuk pradewasa, pupa merupakan fase yang paling tahan terhadap insektisida nabati, yang ditunjukkan dengan nilai LC₅₀ yang besar^{43,44}. Ketahanan tersebut mungkin disebabkan karena pupa merupakan tahap pradewasa yang tidak makan, sehingga mengurangi peluang mereka menelan senyawa toksik ke dalam sistem tubuh, terutama sistem pencernaan^{52,53}. Daya toksik ekstrak pada pupa lebih rendah daripada larva, juga disebabkan karena sensitivitas *Ae. aegypti* menurun seiring bertambahnya usia, sehingga untuk memberikan efek toksik terhadap pupa, membutuhkan konsentrasi yang lebih tinggi dan waktu paparan yang lebih lama⁵⁴.

Hasil analisis morfologi pada studi ini, sesuai dengan temuan dari Palanikumar *et al.*⁴⁴ dan Saranya, *et al.*⁴³, menunjukkan bahwa pupa yang terpapar ekstrak *Spathodea campanulata* dan *Callistemon citrinus* mengalami malformasi, yaitu pupa berperut lurus, pupa kerdil dengan perut yang mengalami retardasi, pupa coklat dan pendek, sefalotorak rusak. Kabir, *et al.*⁵⁵ juga menemukan bahwa ekstrak *Seseli diffusum* menyebabkan pupa gagal molting, dimana pada bagian anterior abdomen mengalami penempelan eksuvia pupa.

Senyawa metabolit sekunder dapat menyebabkan terjadinya melanisasi yang abnormal pada kutikula pupa, sehingga menghambat proses sintesis kitin. Senyawa metabolit sekunder pada ekstrak tanaman memiliki mekanisme *phototoxic* yang dapat menghasilkan lesi parah pada kutikula, sehingga menjadi hitam dan gagal molting⁵⁶. Kegagalan molting juga disebabkan oleh adanya gangguan pembentukan hormon juvenile (JHAs) yang berperan penting untuk molting dan metamorfosis oleh senyawa metabolit sekunder^{51,56}. Mode aksi senyawa metabolit sekunder terhadap JHAs adalah dengan menyebabkan aktivasi proses oksidasi menghasilkan senyawa reaktif pada corpus allatum, sehingga menyebabkan kematian sel parenkim corpus allatum, dan akhirnya terjadi penurunan atau bahkan berhentinya produksi JHAs dan proses molting menjadi terhambat⁵⁷.

Ekstrak bonggol pisang ambon memberikan daya toksik paling rendah pada imago

ditunjukkan dengan nilai LC_{50} yang sangat besar dibandingkan dengan nilai LC_{50} pada tahap perkembangan lainnya, yaitu sebesar 1755,077 ppm dalam waktu paparan selama 48 jam. Konsentrasi 1000 ppm juga hanya mampu menyebabkan kematian sebesar 23,335 %. Hasil studi ini serupa dengan temuan dari Ajaegbu *et al.*⁵⁸ yang mengungkapkan bahwa ekstrak metanol *Spondia smombin* memberikan nilai LC_{50} terhadap imago *Ae. aegypti* tertinggi pada 4061,946 ppm.

Perubahan morfologi pada imago ditemukan pada penelitian Kabir, *et al.*⁵⁵, yaitu adanya kelainan pada sayap imago menjadi lebih pendek. Aktivitas ekstrak terhadap malformasi morfologi pada imago belum sepenuhnya dipahami, tetapi memungkinkan senyawa aktif bekerja dengan berbagai mode aksi, salah satunya dengan cara melumpuhkan sistem fisiologis dan osmoregulasi nyamuk⁵⁹.

KESIMPULAN

Efek mortalitas tertinggi pada tahap larva, sebesar 71,67% pada konsentrasi 1000 ppm. Daya toksik paling tinggi ditunjukkan pada tahap telur dengan nilai LC_{50} 314,852 ppm, dan memberikan aktivitas berupa penghambatan terhadap penetasan telur, sedangkan paling rendah pada imago dengan nilai LC_{50} 1755,077 ppm. Ekstrak metanol bonggol pisang ambon memiliki aktivitas biologi untuk merusak morfologi semua tahap perkembangan *Ae. Aegypti*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada seluruh peneliti dan laboran serta karyawan Loka Litbang Kesehatan Pangandaran yang tidak dapat disebutkan satu persatu, yang telah membantu kelancaran proses penelitian ini.

KONTRIBUSI PENULIS

Peran penulis pada artikel ini yaitu Riyani Setiyaningsih sebagai kontributor utama. Aryani Pujiyanti, M. Choirul Hidajat, dan Lasmiati sebagai kontributor anggota. Kontribusi penulis dapat dilihat pada rincian berikut:

Konsep	: Siskha Noor K. Bambang Heru B.
Kurasi Data	: Siskha Noor K.
Analisis Data	: Siskha Noor K.
Sponsor	: Siskha Noor K.

Pendanaan	Bambang Heru B. Edi Basuki
Investigasi	: Siskha Noor K.
Metodologi	: Siskha Noor K.
Sumber Daya	: Siskha Noor K.
Pengawasan	: Bambang Heru B. Edi Basuki
Validasi	: Siskha Noor K. Bambang Heru B. Edi Basuki
Visualisasi	: Siskha Noor K. Bambang Heru B. Edi Basuki
Menulis-Mengkaji & Mengedit	: Siskha Noor K. Bambang Heru B. Edi Basuki

DAFTAR RUJUKAN

- Kinansi RR, Widjajanti W, Ayuningrum FD. Haemorrhagic dengue fever's vector density status in endemic region in Indonesia (South Sumatera, Central Java, Central Sulawesi and Papua). *J. Ekol Kesehat.* 2017;16(1):1-9.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Situasi DBD di Indonesia. 2016. Infodatin Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI: Jakarta.
- Day, JE. Mosquito oviposition behavior and vector control. *Insect.* 2016;65(7):1-22. doi:10.3390/insects7040065
- Jung M, Kim S, Kim HG. Lethal and sublethal effects on synthetic insecticides on the locomotory and feeding behavior of *Riportus pedestris* (Hemiptera: Alydidae) under laboratory conditions. *Journal of Asia-Pacific Entomology.* 2018;21(1):179-185. doi:10.1016/j.aspen.2017.11.019
- Jallow MFA, Awadh DG Albaho MS, Devi VY, Ahmad N. Monitoring of pesticide residues in commonly used fruits and vegetables in Kuwait. *Int J Environ Res Public Health.* 2017;14(8):1-12. doi:10.3390/ijerph14080833
- Mukhtar MU, Mushtaq S, Arslan A, Zaki B, Hammad M, Bhatti A. Laboratory study on larvicidal activity of different plant extracts against *Aedes aegypti*. *IJMR.* 2015;2(3):127-30.
- Showler AT. Botanically based repellent and insecticidal effects against horn flies and stable flies (Diptera: Muscidae). 2017. *Journal of Integrated Pest Management* 8(1): 1-11. doi: 10.1093/jipm/pmx010
- Aboul-Enein AM, Salama ZA, Gaafar AA, Aly HF, Faten A, Ahmed HA. Identification of phenolic compounds from banana peel (*Musa paradisiaca* L.) as antioxidant and antimicrobial agents. *J Chem Pharm Res.* 2016;8(4):46-55.
- Onyenekwe PC, Okereke OE, Owolewa SO.

- Phytochemical screening and effect of *Musa paradisiaca* stem extrude on rat haematological parameters. *Curr Res J Biol Sci.* 2013;5(1):26–9.
10. Rathy, Mc, Sajith U, Harial Cc. Plant diversity for mosquito control: A preliminary study. *IJMR.* 2015;29(21):29–33.
11. Onyema C, Ofor C, Okudo V, Ogbuagu A. Phytochemical and antimicrobial analysis of banana pseudo stem (*Musa Acuminata*). *Br J Pharm Res.* 2016;10(1):1–9. Available from: <http://sciencedomain.org/abstract/12871>
12. Deepalakshmi K, Vrameashkannan M, Mani. Mosquitocidal activity of *Musa paradisiaca* Linn root (banana) extracts against hazardous mosquito vector. *P. Acta Biomedica Scientia.* 2015;2(4):182–6.
13. Wakkary JJ, Durry M, Kairupa C. Pengaruh pemberian getah bonggol pisang (*Musa Paradisiaca* var. *sapientum* L. Kuntze. AAB) terhadap penyembuhan luka bakar sayat pada kulit tikus wistar (*Rattus novergicus*). *Jurnal e-Biomedik (eBm).* 2017;5(1):1–7.
14. Kurnijasanti R, Putri AA. The effects of banana stem (*Musa paradisiaca* var. *sapientum*) extract on histopatologic gastric of rats induced by indometachin. *Folia Medica Indonesiana.* 2017;5(4): 246–250.
15. Jyothirmayi N, Rao NM. Banana medicinal uses. *J Med. Sci. Tech.* 2015;4(2):152–160.
16. Ningsih AP, Nurmiati, Agustien, A. Uji aktivitas antibakteri ekstrak kental tanaman pisang kepok kuning (*Musa paradisiaca* Linn.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Biologi Universitas Andalas.* 2013;2(3): 2107–213.
17. Obiageli O, Izundu AI, Helen ON, Pauline IA. Phytochemical compositions of fruits of three musa species at three stages of development. *IOSR-JPBS* 2016;11(3):48–59. DOI: 10.9790/3008-1103044859.
18. Hapsari L, Lestari DA. Fruit Characteristic and Nutrient values of four indonesian banana cultivars (*Musa spp*) at different genomic groups. *AGRIVITA.* 2016;38(3):303–311. doi:<http://dx.doi.org/10.17503/agrivitya.v38i3.696>
19. Asuquo EG, Udobi CE. Antibacterial and toxicity studies of the ethanol extract of *Musa paradisiaca* leaf. *Cogent Biology*, [Online]. 2016; 2(1), Pp.1–10. Available At: <https://www.cogentia.com/Article/10.1080/23312025.2016.1219248>.
20. Rao USM, Abdurrazak M, Mohd KS. Penyaringan fitokimia, jumlah asai kandungan flavonoid dan fenolik pelbagai ekstrak pelarut tepal *Musa paradisiaca*. *Malaysian J Anal Sci.* 2016;20(5):1181–90.
21. Ramdan AM, Kiki MY, Esti SR. Identifikasi senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri pada getah pelepah pisang manggala (*Musa paradisiaca* L.) dengan metode bioautografi kontak. *Prosiding Penelitian Spesia Unisba (Kesehatan dan Farmasi).* 2015; 637–642.
22. Sharma, V. And Pracheta, J. Extraxtion, Isolation and identification of flavonoid from *Euphorbia neriifolia* leaves. *Arabian Journal Of Chemistry.* 2017; 10;509–514. <http://dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2014.08.019>.
23. Hassan, IA, Idris, AN., Amina, MM, Ibrahim, AS, Audu, SA. Phytochemical studies and thin layer chromatography of leaves and flower extracts of *Senna siamea* Lam for possible medical applications. *Academic Journal.* 2015;7(3);18–26. <https://doi.org/10.5897/JPP2014.0337>.
24. Rikomah, SE, Elmitra. Identifikasi senyawa saponin ekstrak etanol pelepah pisang uli (*Musa paradisiaca* L.). *Scientia.* 2017;7 (1): 56–60.
25. Hamid HK, Enas JK. Extraction, isolation and characterization of pyrrolizidine alkaloids present in *Senecio vulgaris* Linn grown in Iraq. *J Pharmacogn Phytochem.* 2016;5(6), Pp.28–37.
26. Biradar SR, Bhagyashri DR. Extraction of some secondary metabolites & thin layer chromatography from different parts of *Centella asiatica* L. (URB). *AJLS.* 2013;1(6), Pp.243–247. Doi: 10.11648/J.Ajls.20130106.11.
27. Munusamy, RG, Appadurai DR, Kuppusamy S, Michael GP, Savarimuthu I. Ovicidal and larvacidal activities of some plant extract against *Aedes aegypti* L and *Culex quinquefasciatus* (Say.) (Diptera: Culicidae). *Asian Pac J Trop Dis.* 2016;6(6):468–471. doi.org/10.1016/S2222-1808(16)61070-8
28. Sarma R, Khanikor B, Mahanta S. Essential oil from *Citrus grandis* (Sapindales: Rutaceae) as insecticide against *Aedes aegypti* (L) (Diptera: Culicidae). *Int J Mosq Res.* 2017;4(3):88–92.
29. Krzyzaniak LM, Ushirobira TMA, Panizzon G, Sereia AL, de Souza JRP, Zequi JAC, Novello CR, et al. Larvacidal activity against *Aedes aegypti* and chemical characterization of the inflorescences of *Tagetes patula*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.* 2017;1–9. doi.org/10.1155/2017/9602368
30. Selvakumar B, Gokulakrishnan J, Elanchezhian K, Deepa J. Mosquito Larvicidal , Ovicidal and pupicidal activities of *Annona reticulata* Linn (Annonaceae) against *Aedes aegypti* (Linn.), *Anopheles stephensi* Liston and *Culex quinquefasciatus* (Say) (Diptera : Culicidae). *IJRSR.* 2015;6:2690–6.
31. Sharma M, Abid R, Sajgotra, M. Phytochemical screening and thin layer chromatography of *Ficus carica* leaves extract. *UKJPB.* 2017; 5(1): 18–23.
32. Ogbuanu CC, Echiri RC, Ogah SPI. Phytochemical screening and preliminary TLC characterization of alkaloids in *Sabicea brevies* Root. *Research Journal of Phytochemistry.* 2014; 8(1): 1–8.
33. Yahyoui OEI, et al. Phytochemical screening and thin layer chromatography of two medicinal plants: *Adansonia digitata* (Bombacaceae) and *Acacia raddiana* (Fabaceae). *J Pharmacogn Phytochem.* 2017; 6(1): 10–15
34. Rahmawati, F. Optimasi penggunaan kromatografi lapis tipis (KLT) pada pemisahan senyawa alkaloid daun pulai (*Alstonia scholaris* L.R.Br). 2015. UIN Malang.
35. Ahamed T, Rahman SKM, Shohael AM. Thin layer chromatography profiling and phytochemical screening of six medicinal plants in Bangladesh. *IJB.* 2017.11(1): 131–140. DOI: 10.12692/ijb/11.1.131–140}
36. Ehiowemwenguan G, Emoghene AO, Inetianbor JE. Antibacterial and phytochemical analysis of banana fruit peel. *Journal of Pharmacy.* 2014;4(8):18–25.

37. Subashini, K, Sivakami, S And Jeyasankar, A. Phytochemical screening and ovicidal activity of *Scutellaria violacea* (Lamiaceae) leaf extract against vector mosquitoes (Diptera: Culicidae). *Int J Adv Res Biol Sci.* 2017;4(3):152-8.
38. Reegan D, Paulraj MG, Kinsalin AV, Ignacimuthu S. Larvicidal, ovicidal and repellent activities of marine sponge *Cliona celata* (Grant) extract against *Anopheles stephensi* Liston (Diptera: Culicidae). *Asian Pac J Trop Biomed.* 2015;8(1):29-34. DOI: 10.1016/S1995-7645(14)60183-8
39. Dhivya TN, Nadu T. Phytochemical composition and ovicidal efficacy of *Catharanthus roseus* leaf extract against the mosquito *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *JEZS.* 2017;5(3): 44-9.
40. Dishani UA, Dhivya R. Preliminary phytochemical profiling and ovicidal potential of *Carica papaya* leaf extracts against the filarial vector *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *Int. J. Mosq. Res.* 2017;4(3): 1-8.
41. Dhal P, Rout JR, Dash PK, Panda S, Pati P, Rath CC, et al. Larvicidal and pupicidal activity of *Clerodendrum philippinum* Schauer leaf extracts against *Anopheles stephensi* and *Aedes aegypti*. *Pharmacogn J.* 2018;10(6):1137-1142. doi :10.5530/pj.2018.6.194
42. Sivaraman G, Reegan AD, Paulraj MG, Ignacimuthu S. Toxicity of *Semecarpus anacardium* L. seed extracts against immature stages of *Culex quinquefasciatus* Say and *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). *JEZS.* 2018;6(2):2068-2017.
43. Saranya M, Mohanraj RS, Dhanakkodi B. Larvicidal, pupicidal activities and morphological deformities of *Spathodea campanulata* aqueous leaf extract against the dengue vector *Aedes aegypti*. *Euro. J. Exp. Bio.* 2013;3(2):205-13.
44. Palanikumar M, Pravin Y, Navaneethan M, Mahendren S, Rs M. *Callistemon Citrinus* Myrtaceae) Methanolic leaf extract: A potent mosquitocidal agent for controlling dengue vector mosquito *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *JEZS.* 2017;5(3):1051-9.
45. Mendes LA, Martins GF, Valbon WR, Da Silva De Souza T, Menini L, Ferreira A, et al. Larvicidal effect of essential oils from brazilian cultivars of guava on *Aedes aegypti* L. *Ind Crops Prod* [Internet]. 2017;108(May):684-9. Available From: <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.07.034>
46. Gama ZP, Nakagoshi N, Suharjono, Setyowati F. Toxicity studies for indigenous *Bacillus thuringiensis* isolates from Malang City, East Java On *Aedes aegypti* larvae. *Asian Pac J Trop Biomed* [Internet]. 2013;3(2):111-7. Available From: [Http://Dx.Doi.Org/10.1016/S2221-1691\(13\)60034-9](Http://Dx.Doi.Org/10.1016/S2221-1691(13)60034-9)
47. Arivoli S, Raveen R, Tennyson S, Sakthivadivel M. Adult emergence inhibition activity of *Cleistanthus collinus* (Roxb.) (Euphorbiaceae) leaf extracts against *Aedes aegypti* (L.), *Anopheles stephensi* Liston, and *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). *IJMR.* 2015;2(1):24-8.
48. Ragavendran C, Mariappan T, Natarajan D. Larvicidal, histopathological efficacy of *Penicillium daleae* against larvae of *Culex quinquefasciatus* and *Aedes aegypti* plus biotoxicity on *Artemia nauplii* a non-target aquatic organism. *Front Pharmacol.* 2017;8:1-14.
49. Dias CN, Moraes DFC. Essential oils and their compounds as *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae) larvicides. *Parasitol Res.* 2014;113 (2):565-92.
50. Venkadachalam R, Subramaniyan V, Palani M, Subramaniyan M, Srinivasan P, Raji M. Mosquito larvicidal and pupicidal activity of *Tephrosia purpurea* Linn. (Family: Fabaceae) and *Bacillus sphaericus* against dengue vector *Aedes aegypti*. *Pharmacogn J.* 2014;9(6):737-42.
51. Jeyasankar A, Chinnamani T. Larvicidal and pupicidal activities of *Solomon pseudocapsicum* fruits compounds against *Aedes aegypti*, *Anopheles stephensi* and *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *J Infectious Disease Med Microbiol.* 2018;2(2):S11-16.
52. Soonwera M, Phasomkusolsil S. Adulticidal, Larvicidal, Pupicidal and oviposition deterrent activities of essential oil from *Zanthoxylum limonella* Alston (Rutaceae) against *Aedes aegypti* (L.) and *Culex quinquefasciatus* (Say). *Asian Pac J Trop Biomed.* 2017;7(11):967-78. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2017.09.019>
53. Ilike KD, Oyeniyi EA, Charles O, Adesina JM. *Nicotiana tabacum* a prospective mosquitocide in the management of *Anopheles gambiae* (Giles). *IJMR.* 2015;2(4):19-23.
54. Pratheeba T, Ragavendran C, Natarajan D. Larvicidal, pupicidal and adulticidal potential of *Ocimum gratissimum* plant leaf extracts against filariasis inducing vector. *IJMR.* 2015;2(2):1-8.
55. Kabir KE, Choudhary MI, Ahmed S, Tariq RM. Growth-disrupting, larvicidal and neurobehavioral toxicity effects of seed extract of *Seseli diffusum* against *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae). *Ecotoxicol Environ Saf.* 2013;90:52-60. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2012.12.028>
56. Ga'al H, Fouad H, Mao G, Tian J, Jianchu M. Larvicidal and pupicidal evaluation of silver nanoparticles synthesized using *Aquilaria sinensis* and *Pogostemon cablin* essential oils against dengue and zika viruses vector *Aedes albopictus* mosquito and its histopathological analysis. *Artif Cells, Nanomedicine Biotechnol.* 2017;0(0):1-9. Available from: <https://doi.org/10.1080/21691401.2017.1365723>
57. Lee SH, Oh HW, Fang Y, An SB, Park DS, Song HH, et al. Identification of plant compounds that disrupt the insect juvenile hormone receptor complex. *PNAS.* 2015; 112(6): 1733-1738.
58. Ajaegbu EE, Danga SPY, Chijoke IU, Okoye FBC. Mosquito adulticidal activity of the leaf extract of *Spondias mombin* L. against *Aedes aegypti* L and isolation of active principles. *J Vector Borne Dis.* 2016;53(1):17-22.
59. Cutler GC. Insects, insecticides and hormesis: Evidence and considerations for study. *Dose Response.* 2013;11(2):154-177. doi: 10.2203/dose-response.12-008.Cutler.