

Effects of Arabika Coffee (*Coffea arabica* L.) Pulp Extracts on *Anopheles* sp. Larva Mortality

Husna Fitri¹, Rizma Nurul Akhlah², Liana Fairuzannah Mahdiana², Rita Maliza^{3*}

¹Magister Ilmu Biomedis, Fakultas Kedokteran Kesehatan Masyarakat dan Keperawatan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia;

²Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi Terapan, Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta, Indonesia;

³Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas, Padang, Sumatera Barat, Yogyakarta;

Article History

Received : September 22th, 2023

Revised : October 18th, 2023

Accepted : October 24th, 2023

*Corresponding Author:

Rita Maliza, Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas, Padang, Sumatera Barat, Yogyakarta; Email:

ritamaliza@sci.unand.ac.id

Abstract: Malaria is one of the main public health problems in Indonesia. *Anopheles* sp. mosquito larvae is vector of malaria that must be treated before it develops into a mosquito. Control of larvae by using larvicides containing hazardous chemicals causes side effects on the environment and resistance. This study aimed to determine the effect of giving the Arabika Coffee (*Coffea arabica* L.) pulp extracts on the mortality of *Anopheles* sp. larvae. Arabika coffee pulp extracts was fractionated with polar, semi-polar and non-polar. This study used ten larvae of *Anopheles* sp. Observations of larval mortality were carried 24 hours with five concentration series (0, 125, 250, 500, and 1000 ppm). The results of the mortality test showed that non-polar fraction of Arabika coffee pulp extracts had the highest larvicidal activity with values of LC₅₀ and LC₉₀, 278 ppm and 22950 ppm. In semi-polar and polar fractions, the LC₅₀ and LC₉₀, 1718 and 92683 ppm, 34085 and 40862 ppm were obtained. The results of compound analysis obtained 16 active compounds from non-polar extract of arabika coffee pulp with the five highest compounds, namely Hexadecanoic acid, 9,12-Octadecadienoic 15-Octadecenoic acid, Octadecanoic acid and 3-Furanacetic acid. Non-polar fraction of arabika coffee pulp extracts had larvicidal activity against *Anopheles* sp.

Keywords: *Anopheles* sp. *Coffea arabica* L, coffee pulp, larvicidal, malaria.

Pendahuluan

Malaria merupakan penyakit yang disebabkan oleh parasit genus *Plasmodium* yang ditularkan oleh nyamuk *Anopheles* sp. Malaria merupakan penyakit menular yang masih menjadi permasalahan dunia, terutama di negara-negara yang beriklim tropis dan subtropik (Duffy *et al.*, 2019). Menurut World Health Organization (2023), kasus malaria pada tahun 2020 meningkat sebanyak 14 juta lebih dibandingkan tahun 2019. Penyakit malaria di Indonesia disebabkan oleh *Plasmodium falciparum* sebanyak 86.4% selebihnya disebabkan oleh *Plasmodium vivax* dan campuran dari keduanya (Ekstrak *et al.*, 2016).

Indonesia menjadi salah satu negara penghasil dan pengeksport kopi terbesar di dunia (Juwita *et al.*, 2017). Ameca *et al.*, (2018) melaporkan kulit buah kopi yang diolah dengan metode basah akan menghasilkan limbah kulit kopi sebanyak 55%. Kulit buah kopi mengandung senyawa aktif polifenol, tanin, flavonoid, kafein, asam klorogenat, asam perulik yang berfungsi sebagai antioksidan, anti inflamasi dan antibakteri (Ameca *et al.*, 2018). Tanaman yang mengandung senyawa aktif berupa flavonoid, saponin, alkaloid dan tanin diketahui memiliki efek toksik bagi serangga (Handayani *et al.*, 2018).

Ekstrak kulit buah *Citrus limetta* pelarut N-heksan mengandung senyawa aktif flavonoid

dan terpenoid dengan nilai LC_{50} 132.45 ppm terhadap larva *Anopheles stephensi* (Rao et al., 2014). Minyak atsiri kulit *Citrus aurantium* mengandung senyawa aktif DI-Limonene dengan nilai LC_{50} 31.20 ppm dan LC_{90} 73.83 ppm (Dehkordi et al., 2016). Ekstrak kulit buah *Citrus aurantifolia* pada nyamuk *Anopheles* dengan nilai LC_{50} 220.500 ppm dan LC_{90} 1122.700 ppm (Kovendan et al., 2012). Senyawa-senyawa aktif tannin dan flavonoid yang terkandung pada kulit buah kopi arabika kemungkinan memberikan efek kematian terhadap larvasida. Tujuan penelitian ini adalah melihat efektifitas ekstrak kulit kopi arabika fraksi polar, semi polar dan non polar terhadap kematian larva *Anopheles* sp.

Bahan dan Metode

Tempat dan waktu penelitian

Penelitian ini dilakukan dari bulan Mei – Agustus 2021 di Laboratorium Riset Biologi Universitas Ahmad Dahlan, Laboratorium Penelitian Farmasi Universitas Muhammadiyah Yogyakarta dan Laboratorium Terpadu Universitas Islam Indonesia.

Ethical Clearence

Penelitian dilakukan dengan persetujuan etik (*ethical approval*) Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta dengan nomor 012106031.

Bahan

Bahan yang digunakan adalah kulit buah kopi arabika (*Coffea arabica* L.) yang diperoleh dari Kecamatan Jangkat Kabupaten Kerinci Provinsi Jambi, metanol, ethyl asetat, n-hexana, aquades, kertas saring, aluminium foil, dan larva *Anopheles* sp. instar III dengan panjang tubuh \pm 4 mm hingga 6 mm yang aktif bergerak.

Metode

Ekstraksi

Buah kopi arabika dicuci dengan air mengalir, kemudian dilakukan pemisahan kulit dan biji kopi arabika. Kulit buah kopi arabika dikeringkan dengan cara dikeringanginkan dan di haluskan menggunakan blender. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol. Pemekatan hasil ekstraksi dengan menggunakan *rotary evaporator*, kemudian dilakukan fraksinasi

bertingkat dengan menggunakan pelarut ethyl asetat (semi polar) dan N-heksana (non polar). Hasil dari setiap fraksi dipekatkan kembali dengan menggunakan *rotary evaporator*.

Uji Mortalitas Larva *Anopheles* sp.

Uji Mortalitas Larva *Anopheles* sp. dilakukan menggunakan fraksi polar (metanol), semi polar (ethyl asetat) dan non polar (N-heksana) ekstrak kulit buah kopi arabika, dengan 5 seri konsentrasi yaitu 0 ppm, 125 ppm, 250 ppm, 500 ppm dan 1000 ppm terhadap 10 ekor larva *Anopheles* sp. instar III dengan rentang waktu pengamatan larva 6 jam, 12 jam dan 24 jam.

Analisis senyawa dengan metode GCMS (Gas Cromatografi-Massa Spektrofotometri)

Ekstrak kulit buah kopi arabika fraksi N-heksana dianalisis dengan GC-MS menggunakan Kromatografi Gas *Thermo Scientific* merek Shimadzu QP 2010 SE. Kolom yang digunakan adalah Rtx-5MS (5% diphenyl/95%dimethyl polysiloxane) dan Carbowax (Polyethylene glycol). Suhu oven kolom adalah 80 °C, dan suhu injeksi 300 °C. Total waktu berjalan program GC-MS adalah 29 menit.

Analisis data

Analisa data menggunakan metode probit untuk menganalisis hubungan antara stimulus (dosis) terhadap respons (persentase mortalitas). Analisis menggunakan *Microsoft Excel* dengan menentukan persamaan garis antara konsentrasi log (x) dan nilai probit (y). Persamaan linier yang diperoleh digunakan untuk menentukan konsentrasi kematian 50% (LC_{50}) dan 90% (LC_{90}) larva *Anopheles* sp.

Hasil dan Pembahasan

Rendemen Kulit Buah Kopi Arabika (*Coffea arabica* L.)

Kulit buah kopi arabika basah sebanyak 6 kg yang diperoleh dari Kecamatan Jangkat Kabupaten Kerinci Provinsi Jambi. Setelah proses pengeringan diperoleh berat kering yaitu 964 gram. Hasil ekstraksi dengan pelarut metanol sebanyak 107 gram. Nilai rendemen kulit buah kopi yaitu 0.11 %.

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{Berat ekstrak diperoleh (gram)}}{\text{Berat serbuk diekstrak}} \times 100 \\ &= \frac{107 \text{ gram}}{964 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 0,11\% \end{aligned}$$

Ekstrak methanol yang diperoleh kemudian dilakukan fraksinasi bertingkat yaitu semi polar menggunakan pelarut etyl asetat dan non polar menggunakan pelarut N-heksana. Senyawa yang diperoleh dipekatkan menggunakan rotary evaporator yang menghasilkan ekstrak fraksi semi polar (ethyl asetat) 31.2 gram dan non polar (N-heksana) 60.1 gram.

Uji Mortalitas Larva *Anopheles* sp. Polar, Semi Polar dan Non Polar

Uji mortalitas larva *Anopheles* sp. dilakukan pada larva instar III seperti pada Gambar 1. Berdasarkan data tabel 1. Hasil uji mortalitas kulit buah kopi arabika terhadap larva *Anopheles* sp. yang paling rendah yaitu fraksi non polar dengan nilai nilai LC₅₀ 278 ppm dan nilai LC₉₀ 22950 ppm. Uji mortalitas larvasida ekstrak kulit buah kopi arabika fraksi non polar lebih efektif membunuh larva nyamuk *Anopheles* sp. dalam waktu 24 jam dibandingkan fraksi polar dan fraksi semi polar. Semakin rendah nilai LC₅₀ dan LC₉₀ maka semakin besar efektifitas senyawa yang berperan nantinya sebagai larvasida (Wachira *et al.*, 2014).

Uji larvasida telah dilakukan pada penelitian sebelumnya menggunakan ekstrak kulit buah jeruk *Citrus limetta* memperoleh nilai LC₅₀ 132.45 ppm selama perlakuan 24 jam. Senyawa aktif yang terkandung dalam *Citrus*

limetta yaitu flavonoid dan terpenoid (Niken *et al.*, 2022). Minyak atsiri kulit *Citrus aurantium* mengandung senyawa aktif DI-Limonene dengan nilai LC₅₀ 31.20 ppm dan LC₉₀ 73.83 ppm (Sanei-Dehkordi *et al.*, 2016). Uji larvasida ekstrak kulit buah *Citrus aurantifolia* memperoleh nilai LC₅₀ 220. 500 ppm dan LC₉₀ 1122. 700 ppm (Kovendan *et al.*, 2012).

Ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* L.) diketahui nilai LC₅₀ sebesar 657. 278 ppm selama perlakuan 24 jam. Secara kualitatif senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak daun Pepaya yaitu alkaloid, saponin, flavonoid dan enzim papain yang efektif digunakan sebagai larvasida (Agustini & Setyaningrum, 2018). Penelitian sebelumnya juga telah dilakukan menggunakan ekstrak bunga kenikir (*Tagetes erecta* L.) memperoleh nilai LC₅₀ sebesar 43.0730 ppm perlakuan 12 jam. Senyawa aktif yang terkandung dalam bunga kenikir adalah monoterpen, sesquiterpen, diterpen, triterpen, sterol, flavonoid, thiophenes dan senyawa aromatik (Rombot & Samuel, 2020).



Gambar. 1. Larva *Anopheles* sp. Perbesaran 10x menggunakan mikroskop cahaya

Tabel 1. Hasil uji mortalitas kulit kopi arabika (*Coffea arabica* L.) terhadap larva *Anopheles* sp.

Fraksinasi	Mortalitas larva <i>Anopheles</i> sp. (%)					LC ₅₀ (ppm)	LC ₉₀ (ppm)
	125 ppm	250 ppm	500 ppm	1000 ppm	Kontrol		
Methanol	0	0	10	53	0	34085	40862
Etyl Asetat	20	13	20	17	0	1718	92683
N-Heksana	10	53	80	87	0	278	22950

Hasil penelitian yang diperoleh, kulit kopi juga berpotensi untuk dimanfaatkan sebagai larvasida. Kulit buah kopi arabika memiliki kandungan senyawa aktif metabolit sekunder. Kulit buah kopi mengandung senyawa aktif antosianin, polifenol, tanin, flavonoid, kafein, asam klorogenat dan asam perulik (Masruri *et al.*,

2019). Hasil penelitian Kartini *et al.*, (2020), melaporkan senyawa-senyawa seperti tanin, flavonoid, alkaloid, saponin dan minyak atsiri (sitrat, eugenol) dapat digunakan sebagai larvasida. Dalam penelitian ini ekstrak kulit buah kopi arabika fraksi non polar memiliki nilai LC₅₀ 278 ppm yang lebih rendah dibandingkan fraksi

lainnya yaitu fraksi polar dan semi polar.

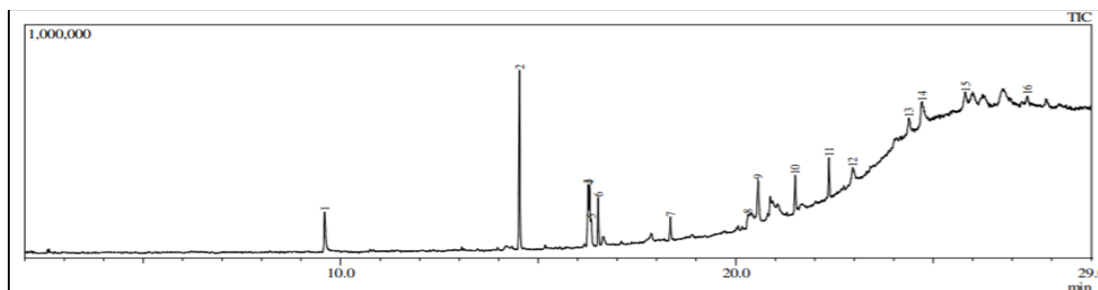
Analisis GCMS (Gas Cromatografi - Massa Spektrofotometri)

Hasil uji mortalitas diperoleh bahwa fraksi non polar memiliki kandungan senyawa-

senyawa aktif yang berpotensi sebagai larvasida. Jika dibandingkan dengan fraksi polar dan semi polar dengan nilai LC₅₀ dan LC₉₀ yang paling rendah. Hasil analisis GC-MS ekstrak fraksi non polar menunjukkan 16 senyawa aktif pada (Tabel 2) dan kromatografi pada (Gambar 2).

Table 2. hasil analisis GC-MS fraksi non polar (N-heksana) ekstrak kulit kopi arabika (*Coffea arabica* L.)

No	R Time	Nama Senyawa	Formula	Mol weight	Area %
1	9.596	3-Furanacetic acid, 4-hexyl-2,5-dihydro-2,5-dioxo- (CAS) 2-CARBOXYMETHYL-3-N-HEXYL-MALEIC ANHYDRIDE	C12 H16 O5	240	6.88
2	14.528	Hexadecanoic acid, methyl ester (CAS) Methyl palmitate	C17 H34 O2	270	22.51
3	16.263	9,12-Octadecadienoic acid, methyl ester, (E,E)- (CAS) Methyl linolelaidate	C19 H34 O2	294	8.58
4	16.301	15-Octadecenoic acid, methyl ester (CAS) METHYL OCTADEC-15-ENOATE	C19 H36 O2	296	8.12
5	16.342	7,10,13-Hexadecatrienoic acid, methyl ester (CAS) METHYL 7 10 13 HEXADECATRIENOATE	C17 H28 O2	264	2.63
6	16.52	Octadecanoic acid, methyl ester (CAS) Methyl stearate	C19 H38 O2	298	6.08
7	18.346	Eicosanoic acid, methyl ester (CAS) Arachidic acid methyl ester	C21 H42 O2	326	3.04
8	20.308	9-Octadecenamide (CAS) 9-OCTADECENYLAMIDE	C18 H35 N O	281	9.63
9	20.568	Pregnenolone acetate	C23 H34 O3	358	8.62
10	21.508	Farnesol \$\$ 2,6,10-Dodecatrien-1-ol, 3,7,11-trimethyl- (CAS) Farnesyl alcohol	C15 H26 O	222	4.92
11	22.359	2,6,10,14,18,22-Tetracosahexaene, 2,6,10,15,19,23-hexamethyl- (CAS) Squalene	C30 H50 CAS	410	5.18
12	22.967	Pentatriacontane (CAS) n-Pentatriacontane	C35 H72	493	2.63
13	24.389	DIOCTADECYLOXY-1,1,2,2-TETRADEUTERIO ETHANE	C38 H74 D4 O2	567	3.27
14	24.721	ALPHA-TOCOPHEROL-ACETAT (VITAMIN E ACETAT)	C31 H52 O3	471	2.37
15	25.808	TETRAPENTACONTAN, 1,54-DIBROMO-	C54 H108 BR2	915	3.89
16	27.382	Dotriacontane (CAS) n-Dotriacontane	C32 H66	451	1.66



Gambar 2. Kromatogram GC-MS fraksi non polar (N-heksana) ekstrak kulit kopi arabika (*Coffea arabica* L.)

Analisis GC-MS memperoleh 16 senyawa aktif dengan lima senyawa yang memiliki persentase tertinggi yaitu Hexadecanoic acid,

9,12-Octadecadienoic acid, 15-Octadecenoic acid, Octadecanoic acid dan 3-Furanacetic acid. Senyawa *hexadecanoic acid* dan *9,12-*

octadecatrienoic acid merupakan turunan asam lemak yang dapat digunakan sebagai antioksidan, antimalaria, anti *dengue* dan antibakteri (Sampepana *et al.*, 2019). Ekstrak Kayu Apu Dadak (*Azolla pinnata*) fraksi non polar juga mengandung senyawa 9-Octadecenoic acid, n-Hexadecanoic acid turunan dari flavonoid pada uji mortalitas larvasida memperoleh nilai LC₅₀ 867 ppm dan LC₉₅ 1293 ppm (Ravi *et al.*, 2018). Ekstrak kulit buah *Citrus limetta* menggunakan pelarut N-heksan memiliki senyawa aktif flavonoid dan terpenoid memperoleh nilai LC₅₀ 132.45 ppm terhadap larva *Anopheles stephensi* (Niken *et al.*, 2022).

Senyawa flavonoid dapat membunuh larva melalui system pernapasan. Flavonoid menghambat reseptor perasa di area mulut larva yang menyebabkan larva gagal menerima stimulus rasa dari makanan, dengan sedikitnya asupan nutrisi yang diperoleh sehingga menghambat perkembangan dan pertumbuhan larva nyamuk (Ristiati *et al.*, 2019). Senyawa flavonoid dapat merusak membran sitoplasma dan meng-inaktifkan sistem enzim asetilkolinesterase yang mengakibatkan fosfolipid hancur dan membran sitoplasma terdegradasi (Rahayu *et al.*, 2021). Turunan senyawa terpenoid merupakan senyawa non polar yang sudah banyak dilaporkan memiliki kemampuan aktifitas sebagai larvasida. Senyawa triterpenoid dilaporkan juga mempunyai pengaruh terhadap kutikula pada papilla anal dan stigma larva nyamuk *Aedes aegypti* (Yu *et al.*, 2015).

Mekanisme kerja senyawa aktif tanin mampu mempengaruhi kerja enzim pencernaan protease dan lipase pada larva nyamuk dengan cara menginaktivasi kerja enzim dan mengganggu metabolisme sel (Sucipto *et al.*, 2020). Pada penelitian memperlihatkan bahwa senyawa non polar yang terkandung pada ekstrak kulit buah kopi arabika memberikan efek mortalitas terhadap larva *Anopheles* sp. Kemungkinan dengan adanya senyawa-senyawa yang bersifat sebagai larvasida di ekstrak non polar kulit kopi arabika.

Kesimpulan

Fraksi non polar kulit buah kopi arabika (*Coffea arabica* L.) mempunyai efektivitas larvasida terhadap larva *Anopheles* sp. dengan

nilai LC₅₀ sebesar 278 ppm dan nilai LC₉₀ sebesar 22950 ppm. Analisa senyawa aktif menggunakan GC-MS dari fraksi non polar memiliki senyawa aktif *Asam hexadecanoic* dan *9,12-octadecatrienoic acid* berpotensi sebagai bahan aktif larvasida.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terimakasih kepada kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset dan Teknologi Indonesia yang telah mendanai penelitian ini. Dalam kegiatan Pekan Kreativitas Mahasiswa Bidang Riset Eksakta 2021.

Referensi

- Agustini, N. W. S., & Setyaningrum, M. (2018). Phytochemical Screening, Antimicroba and Antioxidant Activities, and Identification of Compound from Extract of *Chlorella vulgaris* Biomass. *Warta IHP*, 35(1), 29–37.
- Ameca, G. M., Cerrilla, M. E. O., Córdoba, P. Z., Cruz, A. D., Hernández, M. S., & Haro, J. H. (2018). Chemical composition and antioxidant capacity of coffee pulp. *Ciencia e Agrotecnologia*, 42(3), 307–313. DOI: <https://doi.org/10.1590/1413-70542018423000818>
- Duffy, P. E., Healy, S., Gorres, J. P., & Fried, M. (2019). Malaria. *Maternal Immunization*, 170(11), 321–337. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814582-1.00015-2>
- Ekstrak, E., Daun, E., Mortalitas, T., & Nyamuk, L. (2016). *Efek Ekstrak Etanol Daun Ungu (Graptophyllum pictum [L.] Griff.) Terhadap Mortalitas Larva Nyamuk Anopheles aconitus [L.] Desember*. DOI: <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.14649.19048>
- Handayani, S., Mursiti, S., & Wijayati, N. (2018). Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Flavonoid dari Rimpang Temu Kunci (*Kaempferia pandurata* Roxb.) terhadap *Streptococcus mutans*. *Indonesian Journal of Chemical Science*, 7(2), 146–152.
- Juwita, A. I., Mustafa, A., & Tamrin, R. (2017). Studi Pemanfaatan Kulit Kopi Arabika (*Coffea arabica* L.) Sebagai Mikro Organisme Lokal (MOL). *Agrointek*,

- 11(1), 1. DOI: <https://doi.org/10.21107/agrointek.v11i1.2937>
- Kartini, S., Pratiwi, D., & Atina, Z. (2020). Uji Mortalitas Larva Nyamuk Anopheles Dengan Pemberian Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzygium polyanthum*). *Klinikal Sains : Jurnal Analis Kesehatan*, 8(1), 41–48. DOI: https://doi.org/10.36341/klinikal_sains.v8i1.1319
- Kovendan, K., Murugan, K., Shanthakumar, S. P., Vincent, S., & Hwang, J. S. (2012). Larvicidal activity of *Morinda citrifolia* L. (Noni) (Family: Rubiaceae) leaf extract against *Anopheles stephensi*, *Culex quinquefasciatus*, and *Aedes aegypti*. *Parasitology Research*, 111(4), 1481–1490. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00436-012-2984-9>
- Masruri, A., Sumono, A., & Ca, T. I. (2019). Arabica Coffee (*Coffea Arabica*) Fruit Skin Potential Towards the Increase of Fibroblast Cells Amount Within Socket Post Tooth Extraction of Male Wistar Mouse Ahmad. *Health Notions*, 3(6), 273–278.
- Niken Suci Meliani Hernawan, Sri Peni Fitrianiingsih, & Fetri Lestari. (2022). Studi Literatur Pemanfaatan Kulit Buah Genus Citrus sebagai Larvasida *Aedes aegypti*. *Bandung Conference Series: Pharmacy*, 2(2), 453–461. DOI: <https://doi.org/10.29313/bcsp.v2i2.4267>
- Rahayu, S. E., Sulisetijono, Qomariyah, N., & Rohmani, F. S. (2021). Larvicidal activity of *Carica pubescens* leaf and petiole extract against *Aedes aegypti* L. larvae. *AIP Conference Proceedings*, 2353(May). DOI: <https://doi.org/10.1063/5.0053084>
- Rao, A. P., Gaddaguti, V., Rao, N., Kumar, G., Sita, K., Reddy, R., Krishna, M., & Rao, T. V. (2014). GC-MS and Molecular Docking Studies for Identification of Novel Mosquito Repellent Compounds in *Ocimum tenuiflorum* var. CIM-AYU. *Int. J. Pharm. Phytopharmacol. Res*, 3(4), 332–336.
- Ravi, R., Husna Zulkarnin, N. S., Rozhan, N. N., Nik Yusoff, N. R., Mat Rasat, M. S., Ahmad, M. I., Hamzah, Z., Ishak, I. H., & Mohd Amin, M. F. (2018). Evaluation of Two Different Solvents for *Azolla pinnata* Extracts on Chemical Compositions and Larvicidal Activity against *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). *Journal of Chemistry*, 2018(July 2017). DOI: <https://doi.org/10.1155/2018/7453816>
- Ristiati, N. P., Dewi, N. P. S. R., Mulyadiharja, S., & Prastuti, N. W. G. (2019). Toxicity of extract seeds custard apple (*Annona squamosa*) on mortality of mosquito larvae *Anopheles* sp. *Jurnal Biologi Udayana*, 23(1), 1. DOI: <https://doi.org/10.24843/jbiounud.2019.v23.i01.p01>
- Rombot, D. V, & Semuel, M. Y. (2020). Bioaktivitas Larvasida Nyamuk *Anopheles* sp. Dari Ekstrak Bunga *Tagetes erecta* L. Yang Berasal Dari Kota Tomohon. *Jurnal Biomedik : Jbm*, 12(3), 161–167. DOI: <https://doi.org/10.35790/jbm.12.3.2020.30111>
- Sampepana, E., Nurwidayati, T., & Saputra, S. H. (2019). Identifikasi Komponen Senyawa Kimia Ekstrak Biji Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) sebagai Bahan Baku Industri. *Jurnal Riset Teknologi Industri*, 13(2), 296. DOI: <https://doi.org/10.26578/jrti.v13i2.5754>
- Sanei-Dehkordi, A., Sedaghat, M. M., Vatandoost, H., & Abai, M. R. (2016). Chemical compositions of the peel essential oil of *Citrus aurantium* and its natural larvicidal activity against the malaria vector *Anopheles stephensi* (Diptera: Culicidae) in comparison with *Citrus paradisi*. *Journal of Arthropod-Borne Diseases*, 10(4), 577–585.
- Sucipto, C. D., Jamilatun, M., & Fatullah, A. R. (2020). Efektivitas Air Perasan Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi* L) Terhadap Mortalitas Larva *Culex* Sp. *Jurnal Medikes (Media Informasi Kesehatan)*, 7(2), 327–334. DOI: <https://doi.org/10.36743/medikes.v7i2.252>
- Wachira, S. W., Omar, S., Jacob, J. W., Wahome, M., Alborn, H. T., Spring, D. R., Masiga, D. K., & Torto, B. (2014). Toxicity of six plant extracts and two pyridone alkaloids from *Ricinus communis* against the

malaria vector *Anopheles gambiae*.
Parasites and Vectors, 7(1). DOI:
<https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-312>
World Health Organization. (2023). *Malaria*.
Yu, K. X., Wong, C. L., Ahmad, R., & Jantan, I.
(2015). Larvicidal activity, inhibition
effect on development, histopathological

alteration and morphological aberration
induced by seaweed extracts in *Aedes*
aegypti (Diptera: Culicidae). *Asian Pacific*
Journal of Tropical Medicine, 8(12),
1006–1012. DOI:
<https://doi.org/10.1016/j.apjtm.2015.11.011>