

**FORMULASI LOSION EKSTRAK DAUN SALAM (*Syzygium polyanthum*)
SEBAGAI REPELLENT TERHADAP NYAMUK *Aedes aegypti******FORMULATION LOTION OF SALAM (*Syzygium polyanthum*) LEAF
EXTRACT AS REPELLENT AGAINST *Aedes aegypti******Nopiyansyah¹ dan Elia Agustiana²**¹Program Studi Farmasi Universitas Tulang Bawang²Program Studi Ilmu Komunikasi Universitas Tulang BawangEmail : nopiyansyah@utb.ac.id**ABSTRACT**

*Bay leaf is part of the bay plant that contains potentially terpenoid compounds as mosquito's natural repellent. The purpose of this study was to determine the formula composition and effectiveness of repellent n-hexane bay lotion extract with concentrations of 0%, 40%, 50, and 60%. This research is an experimental research. The making of bay leaf extract is used by maceration method. Lotion is made in 4 formulas on the basis of nonionic formula namely FI with extract concentration of 0%, FII with extract concentration of 40%, FIII extract concentration of 50% and FIV with extract concentration of 60%. The results of the non-specific parameter test obtained 2.9% water content, total ash content of 5% and acid insoluble ash content of 0.6% then proceed with organoleptic test, homogeneity, pH, centrifugation, dispersion, viscosity and cycling test. Repellent activity testing is done by counting the number of mosquitoes that alight and not, the average percentage of repellent power of *Aedes aegypti* at a concentration of 40% is 65.3%, at a concentration of 50% that is 78.6%, and at a concentration of 60% that is 90.8%, the most effective is 60% concentration. From the results of the Anova One Way test, the value of p was $0,000 \leq 0.05$ so it was proven that there were differences in various concentrations of bay leaf extract as repellent to *Aedes aegypti* mosquitoes. The results of this study indicate that bay leaf extract can be made in a nonionic-based lotion with various concentrations. The physical properties of lotion preparations with variations in bay leaf extract levels did not affect the physical stability of the lotion and did not change during testing and had the effectiveness of mosquito repellent.*

Keywords: *Aedes Aegypti*, N-Hexane, Repellent, Salam Leaf Extract**Abstrak**

Daun salam merupakan bagian dari tumbuhan salam yang mengandung senyawa terpenoid berpotensi sebagai repelen alami nyamuk . Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui komposisi formula dan efektivitas repelen sediaan losion ekstrak n-heksan daun salam dengan konsentrasi 0%, 40%,50, dan 60%. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental. Pembuatan ekstrak daun salam dengan metode maserasi. Losion dibuat dalam 4 formula dengan basis formula nonionik yakni FI dengan konsentrasi ekstrak 0%, FII dengan konsentrasi ekstrak 40%, FIII konsentrasi ekstrak 50% dan FIV dengan konsetrasi ekstrak 60%. Hasil uji parameter non spesifik diperoleh kadar air 2,9 %, kadar abu total 5% dan kadar abu tidak larut asam 0,6% kemudian dilanjutkan dengan uji

organoleptis, homogenitas, pH, sentrifugasi, daya sebar, viskositas dan *cycling test*. Pengujian aktivitas repelen dilakukan dengan cara menghitung jumlah nyamuk yang hinggap dan tidak, persentase rata-rata daya tolak nyamuk *Aedes aegypti* pada konsentrasi 40% yaitu 65,3%, pada konsentrasi 50% yaitu 78,6%, dan pada konsentrasi 60% yaitu 90,8%, yang paling efektif yaitu konsentrasi 60%. Dari hasil uji Anova One Way nilai $p \leq 0,05$ sehingga terbukti ada perbedaan berbagai konsentrasi ekstrak daun salam sebagai repelen terhadap nyamuk *Aedes aegypti*. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak daun salam dapat dibuat sediaan losion berbasis nonionik dengan berbagai macam konsentrasi. Sifat fisik sediaan losion dengan variasi kadar ekstrak daun salam tidak mempengaruhi kestabilan fisik losion dan tidak mengalami perubahan selama dilakukan pengujian serta memiliki efektivitas repelen nyamuk.

Kata kunci : *Aedes aegypti*, Ekstrak daun salam, N-heksan, Repellent

PENDAHULUAN

Nyamuk sering mendatangkan masalah bagi manusia. Bukan hanya gigitan dan suara dengungannya yang mengganggu, perannya sebagai pembawa penyakit seperti malaria dan demam berdarah, bisa mendatangkan masalah yang serius. Menurut data Departemen Kesehatan Republik Indonesia jumlah penderita Demam Berdarah Dengue (DBD) yang meninggal pada 2014 sebanyak 907 jiwa, tahun 2015 sebanyak 1.071 jiwa, tahun 2016 sebanyak 1.598 jiwa, dan 2017 sebanyak 493 jiwa, tahun 2018 sebanyak 344 jiwa dan di 2019 (hingga 29 Januari 2019) sebanyak 133 jiwa.

Salah satu upaya pengendalian terhadap penyakit-penyakit tersebut adalah melakukan pengendalian terhadap vektor penyakit. Vektor penyakit yang sampai saat ini sering menimbulkan masalah kesehatan khususnya di Indonesia adalah *Aedes aegypti*. Nyamuk ini merupakan vektor utama penyebab penyakit Demam Berdarah Dengue (DBD) di Indonesia(1).

Ada berbagai macam cara untuk menghindari gigitan nyamuk. Salah satunya dengan pemakaian anti nyamuk ataupun pakaian yang dapat melindungi tubuh dari gigitan nyamuk. Di Indonesia ada banyak sediaan anti nyamuk yang beredar seperti, *spray*, losion dan obat nyamuk bakar yang mengandung bahan kimia sintesis. Contoh golongan bahan

kimia berbahaya yang sering digunakan dalam sediaan anti nyamuk adalah golongan karbamat (*propoxur*), piretroid (*permethrin*), organofosfat (*Dichlorovinyl Dimethyl Phospate*), dan DEET (*Diethyl toluamida*), dan golongan organoklorin. Penggunaan anti nyamuk kimia ini dapat meninggalkan residu, mencemari lingkungan, dan dapat mengakibatkan resistensi. Residu yang tertinggal dapat menyebabkan masalah kesehatan seperti iritan terhadap kulit, bahkan jika terserap dalam dosis tinggi dapat menyebabkan kekejangan otot.

Selain itu jika terhirup dan masuk ke saluran pernapasan, dalam waktu lama dapat mengakibatkan perubahan dan kerusakan jaringan penyusun saluran napas yang nantinya dapat mengganggu sistem pernapasan. Salah satu zat kimia yang sering di gunakan sebagai anti nyamuk adalah DEET (*Diethyl toluamida*).

DEET (*Diethyl toluamida*) merupakan bahan kimia sintesis yang digunakan dalam pembuatan sediaan anti nyamuk yang berbentuk losion. DEET (*Diethyl toluamida*) mengandung racun, dalam konsentrasi 10-15 % dan akan berbahaya khususnya bagi anak-anak apabila penggunaannya kurang hati-hati. Bahan aktif DEET ini tidak akan larut dalam air, menempel pada kulit selama 8 jam dan akan terserap masuk ke dalam tubuh melalui pori-pori kulit menuju sirkulasi darah. Hanya 10-15% yang akan terbuang melalui urin (1). Oleh karena itu,

untuk mengurangi dampak yang ditimbulkan dari penggunaan insektisida kimia dan bahan kimia sintesis yang mengandung racun, diperlukan cara lain yang lebih aman, efektif, dan efisien serta ramah lingkungan, yaitu insektisida dari tumbuh-tumbuhan. Ada beberapa tanaman yang memiliki bau yang khas dan aromanya tidak disukai oleh nyamuk. Tanaman-tanaman tersebut antara lain: daun mint, umbi lengkuas, sambiloto, babadotan, daun alpukat, daun salam, dan daun zodia.

Tanaman-tanaman tersebut dikenal mengandung senyawa aktif seperti flavonoid, saponin, tanin, alkaloid, terpenoid dan minyak atsiri. Berdasarkan Penelitian yang sudah dilakukan sebelumnya menyatakan bahwa tanaman yang paling efektif untuk mortalitas nyamuk adalah daun salam dan daun alpukat sebanyak 100%, lengkuas sebanyak 82,22%, daun mint sebanyak 51,11%, dan daun babadotan sebanyak 8,89%. Daun salam dan daun alpukat mampu membunuh nyamuk dalam waktu 5 menit, lengkuas dan daun mint mampu membunuh nyamuk dalam waktu 10 menit dengan persentase lengkuas yang lebih besar. Daun babadotan mampu membunuh nyamuk dalam waktu 20 menit sedangkan Zodia mampu membunuh nyamuk dalam waktu 30 menit. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan menyatakan bahwa tanaman-tanaman tersebut dapat digunakan sebagai insektisida alami untuk membunuh nyamuk *Aedes aegypti* (2).

Salah satu tanaman yang mudah didapat dan bermanfaat ganda bagi manusia adalah daun salam (*Syzygium polyanthum*). Daun salam adalah tanaman yang sering dimanfaatkan dalam pengolahan makanan dan juga menghasilkan metabolit sekunder berupa minyak atsiri (sitral, eugenol), tanin, dan flavonoid (3). Sebuah penelitian membuktikan bahwa daun salam berpotensi sebagai penolak nyamuk karena mengandung bahan aktif yang bersifat menolak nyamuk yaitu senyawa terpenoid, dengan daya tolak nyamuk

ekstrak pada konsentrasi 40% yaitu 90,3 %, konsentrasi 50% yaitu 94,3%, dan konsentrasi 60% yaitu 96,4% (4). Berdasarkan hal tersebut di atas peneliti tertarik untuk membuat penelitian mengenai pembuatan sediaan farmasetika khususnya losion *repellent* terhadap nyamuk yang mengandung ekstrak daun salam.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini Merupakan jenis penelitian eksperimental. Data yang dikumpulkan berupa data kuantitatif dan kualitatif yang diambil dari pengukuran uji *repellent* pada nyamuk *Aedes aegypti* dan uji kesetabilan fisik sediaan (organoleptis, homogenitas, viskositas, pH, daya sebar, *cycling test*, sentrifugasi).

1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Jurusan Farmasi Universitas Tulang Bawang, Laboratorium Terpadu Universitas Lampung pada Bulan bulan September 2019 dan Laboratorium Rumah Sakit Jiwa Provinsi Lampung.

2. Populasi dan Sampel

Objek penelitian adalah daun salam yang sudah tua yang berwarna hijau tua yang diambil di daerah kompleks Rumah Sakit Jiwa Daerah Lampung.

Data diperoleh dari hasil perhitungan uji *repellent* sediaan dan sifat mutu sediaan seperti organoleptis, homogenitas, viskositas, pH sediaan, daya sebar dan stabilitas sediaan diolah secara deskriptif dan dinarasikan .

3. Instrumen Penelitian

Bahan yang akan digunakan pada penelitian ini antara lain: Daun salam (*Syzygium polyanthum*) varietas lokal, n-heksana (pelarut simplisia), bahan emulsi (asam stearat, arlacel 165), bahan penstabil (ceresin), bahan pelembut (paraffin, lanolin), bahan pelembab (propylene glycol), bahan pengemulsi

(solulan 98), bahan pengawet (propylene glycol), bahan pelarut (pelarut), bahan pengental (veegum).

Alat yang akan digunakan pada penelitian ini antara lain : Pisau, blander, seperangkat alat maserasi, seperangkat alat *rotary evaporator*, pH meter, mortar, stamper, kaca objek, timbangan gram kasar, *analytical balance*, batang pengaduk, penjepit kayu, pinset, erlenmeyer, corong, *beker glass*, sudip, kertas perkamen, penangas air, seperangkat alat viskositas, alat setrigrasi.

4. Analisis Data

Data yang diperoleh akan diuji menggunakan *one way anova*, untuk mengetahui apakah perbedaan konsentrasi masing-masing formula losion ekstrak daun salam (*Syzygium polyantum*) memberikan pengaruh yang signifikan terhadap aktivitas *repellent*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen laboratorium untuk mengetahui uji efektivitas daun salam sebagai *repellent* terhadap nyamuk *Aedes aegypti*. Daun salam diperoleh dari kompleks perumahan Rumah Sakit Jiwa Lampung dengan kondisi yang masih segar. Daun yang dipilih daun yang berwarna hijau tua, kemudian dikeringkan tanpa terkena sinar matahari secara langsung selama 3 hari. Setelah itu diproses menjadi ekstrak di Laboratorium Fakultas Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Tulang Bawang Bandar Lampung Jurusan Farmasi. Telur nyamuk diperoleh dari IPB (Institute Pertanian Bogor), yang kemudian dikembangbiakkan menjadi nyamuk di Laboratorium Fakultas Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Tulang Bawang (UTB) Bandar Lampung Jurusan Farmasi untuk keperluan penelitian. Nyamuk yang digunakan untuk penelitian berjenis kelamin betina, karena nyamuk yang biasa menghisap darah manusia adalah nyamuk betina. Nyamuk betina membutuhkan darah untuk membantu mematangkan telur. Nyamuk yang

digunakan berumur 2–5 hari, karena pada masa tersebut nyamuk masih produktif, jadi apabila terjadi perbedaan jumlah hinggapan nyamuk bukan dikarenakan umur nyamuk.

Pengujian formulasi losion ekstrak daun salam terhadap nyamuk *Aedes aegypti* dilaksanakan di Laboratorium Universitas Tulang Bawang Lampung. Penelitian ini peneliti dibantu 4 orang sebagai probandus.

Pembuatan simplisia daun salam

Sampel yang digunakan pada penelitian ini merupakan tanaman salam yang diperoleh dari kompleks perumahan Rumah Sakit Jiwa. Daun salam yang telah dikumpulkan kemudian dicuci dengan menggunakan air mengalir bertujuan untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada daun salam yang sulit hilang. Daun salam yang sudah dicuci kemudian ditiriskan lalu dirajang kecil-kecil menggunakan pisau *stainless steel* lalu di timbang menghasilkan sebanyak 3,9 kg sebagai berat basah. Simplisia kemudian dikeringkan dibawah sinar matahari dengan ditutupi kain hitam. Tujuan penggunaan kain hitam ini adalah untuk mencegah pengotor masuk ke dalam simplisia serta mencegah hilangnya jumlah simplisia akibat tekanan angin (29). Daun simplisia yang sudah kering ditimbang dan memiliki hasil sebanyak 1,9 kg sebagai berat kering.

Hasil Pengujian Parameter Non Spesifik simplisia daun salam

Pengujian parameter non spesifik dibutuhkan untuk mengetahui apakah simplisia yang telah disiapkan memenuhi syarat non spesifik untuk digunakan ke tahap selanjutnya. Pengujian parameter non spesifik yang dilakukan adalah uji kadar air, kadar abu total dan kadar abu tidak larut asam.

Tabel 1.9 Hasil Persentase Minimal Parameter Non Spesifik Simplisia

Parameter	Hasil uji	Syarat uji minimal
Kadar Air	2,9	≤ 10%

	%	
Kadar Abu Total	5 %	5 %
Kadar Abu Tidak Larut Asam	0,6 %	≤ 0,9%

Dari data tabel 1.9 diatas dapat disimpulkan bahwa hasil uji parameter non spesifik simplisia daun salam dari uji kadar air, kadar abu total dan kadar abu tidak larut asam memenuhi syarat syarat untuk dilakukan proses selanjutnya sebagai bahan dalam pembuatan ekstrak daun salam.

Hasil uji kadar air berpengaruh terhadap stabilitas ekstrak dan bentuk sediaan selanjutnya, hal ini berkaitan dengan cepatnya pertumbuhan jamur dalam ekstrak. Penetapan kadar air ini menggunakan metode gravimetri, pada prinsipnya menguapkan air yang terdapat dalam suatu bahan dengan cara pemanasan pada suhu 105^o c selama 5 jam kemudian bahan ditimbang sampai bobot konstan. Hasil pada ekstrak daun salam 2,9 %. Penentuan kadar air bertujuan untuk memberikan gambaran tingkat kelembaban. Jika hasil uji yang dilakukan melebihi syarat yang telah ditentukan > 10% maka simplisia yang dihasilkan kurang baik dan tidak dapat bertahan lama karena sangat rentan untuk ditumbuhkan mikroorganisme (30).

Kadar abu menunjukkan hubungan dengan kandungan mineral internal dan eksternal suatu bahan. Abu adalah zat anorganik yang merupakan sisa hasil pembakaran zat organik. Kadar abu tersebut dapat menunjukkan total mineral dalam suatu bahan simplisia. Bahan-bahan organik dalam proses pembakaran akan terbakar tetapi komponen anorganiknya tidak, karena itulah disebut sebagai kadar abu. Pada prinsipnya ekstrak dipanaskan pada suhu 500^oC - 600^oC hingga senyawa organik dan turunnya tereduksi dan menguap sampai unsur mineral dan anorganiknya saja. Penentuan kadar abu total bertujuan untuk memberikan gambaran tingkat pengotoran oleh kontaminan berupa

senyawa anorganik seperti logam alkali (Na, Kalium, Lithium), logam alkali tanah (Ca, Ba) dan logam berat (Fe, Pb, Hg). Penentuan kadar abu dapat digunakan untuk berbagai tujuan, antara lain untuk menentukan baik atau tidaknya suatu pengolahan, mengetahui jenis simplisia yang digunakan, dan sebagai penentu parameter nilai baik buruknya suatu bahan simplisia yang akan digunakan. Banyaknya kandungan senyawa anorganik yang terdapat pada simplisia menandakan proses pengolahan kurang baik karena masih banyak mengandung bahan pengotor yang menyebabkan hasil analisis kadar abu total menjadi tidak memenuhi syarat (30).

Penentuan kadar abu tidak larut asam bertujuan untuk menentukan tingkat pengotoran oleh pasir dan kotoran lain. pada analisis kadar abu tidak larut asam yang cukup tinggi menunjukkan adanya kontaminan atau bahan pengotor pada bahan tersebut. (30)

Pembuatan Ekstrak Daun Salam

Sebanyak 300 g serbuk kering simplisia daun salam diekstraksi dengan metode maserasi di dalam botol gelap bertutup pada suhu kamar sambil sesekali diaduk. Penggunaan metode maserasi merupakan metode yang cukup efektif dalam mengekstraksi suatu simplisia, keuntungan metode ini terhindar dari kerusakan senyawa aktif yang terkandung dalam suatu simplisia yang mungkin diakibatkan oleh faktor suhu dan dapat menyari secara maksimal dengan penggantian pelarut selama 24 jam sekali. Remaserasi 3 kali dengan satu kali maserasi dilakukan selama 3 hari menggunakan pelarut N-heksan sampai diperoleh maserat jernih sebanyak 3 liter. Maserat dipekatkan dengan cara menguapkan pelarutnya pada suhu sekitar 40^oC dengan menggunakan *rotary evaporator* untuk menjaga agar zat aktif tidak rusak hingga diperoleh ekstrak kental sebanyak 7,8 g berwarna coklat. Untuk masing-masing formula digunakan ekstrak dari daun

salam sebanyak 0%, 40 %, 50 % dan 60 % ekstrak daun salam (31).

Hasil Pengujian fitokimia fraksi n-heksan daun salam

Mutu dari simplisia yang akan digunakan dilakukan pemeriksaan secara organoleptik, makroskopik, mikroskopik, serta secara kimia. Tujuan pengujian fitokimia adalah untuk mengetahui kandungan senyawa apa saja yang terkandung dalam simplisia yang digunakan juga penting dalam pemanfaatan simplisia tersebut dalam pengobatan. Dari uraian tersebut maka perlu dilakukan indentifikasi simplisia, uji kemurniaan dan skrining fitokimia sehingga dapat diketahui kemurniaan dan senyawa apa saja yang terkandung

dalam simplisia tersebut. Identifikasi kandungan kimia atau skrining fitokimia adalah suatu metode untuk mengetahui golongan kimia pada suatu sampel dengan menguji secara kualitatif adanya senyawa kandungan dalam sampel yang digunakan seperti misalnya tanin, saponin, flavonoid, steroid terpenoid, alkaloid, serta kandungan kimia lainnya Uji pendahuluan dilakukan untuk mengetahui golongan senyawa yang terdapat pada suatu tanaman. Hal ini berfungsi sebagai data awal untuk menentukan metode ekstraksi yang akan digunakan agar komponen aktif yang terdapat pada sampel dapat diekstraksi secara optimal (12).

Tabel 1.10 Hasil Identifikasi Daun Salam

No	Nama senyawa	Perlakuan Identifikasi	Pereaksi	Hasil		Keterangan
				Bau	Warna	
1	Flavonoid	Ekstrak kental 0,1 gr + 10 ml methanol	2. NaoH		Tidak Terjadi perubahan warna	Negatif
2	Alkaloid	4 gr ekstrak di di haluskan + kloroform secukupnya untuk menghaluskan lagi + 10 ml amoniak + 10 ml 10 kloroform Dan saring. Hasil filtrat + H ₂ SO ₄ 2N 10 tetes diamkan sampai terbentuk lapisan, lapisan atas diambil di bagi 3 tabung	1. Mayer		Tidak ada Endapan putih	Negatif
3.	Minyak Atsiri	1 ml ekstrak di uapkan diperoleh residu		Bau khas		Positif
4.	Terpenoid	2 ml ekstrak diupakan diperoleh residu + Kloroform 0,5 ml	+ 0,5 ml asam asetat anhidrat + H ₂ SO ₄ 2 ml melalui dinidng tabung		Terbentuk cincin coklat atau violet perbatasan larutan	Positif
5.	Sterol	2 ml ekstrak diupakan diperoleh residu + Kloroform 0,5 ml	+ 0,5 ml asam asetat anhidrat + H ₂ SO ₄ 2 ml melalui dinidng tabung		Tidak Terbentuk cincin biru kecoklatan perbatasan larutan	Negatif
6.	Tanin	Ekstrak kental 1 ml	FeCl ₃ 10 %		Tidak ada perubahan	Negatif
7	Saponin	Ekstrak kental 10 ml di kocok 10 detik diamkan 10 detik terbentuk busa 1-10 cm bertahan 10 menit	+ HCN 2 N		Tidak ada busa	Negatif

Hasil pengujian yang dilakukan pada ekstrak daun salam terdapat kandungan minyak atsiri dibuktikan dengan adanya aroma yang khas dan senyawa terpenoid pada ekstrak kental daun salam dengan mereaksikan asam asetat anhidrat dan asam sulfat melalui dinding tabung didapatkan hasil positif dengan ditandai terbentuknya cincin berwarna coklat di

pertengahan yang berarti positif mengandung senyawa terpenenoid (32).

Formula Losion Nonionik

Pada umumnya sediaan losion dibuat dalam bentuk emulsi M/A karena alasan harga yang lebih murah, lebih mudah

dibuat lebih enak dipakai karena tidak begitu lengket, dan lebih cepat menyebar ke permukaan. Ada beberapa pengemulsi yang digunakan dalam emulsi salah satunya yaitu emulgator yang bersifat nonionik.

Tabel 1.11 Basis losion nonionik

Formula	Basis losion	Keterangan
Amerchol L	3%	Pelembut
Solulan 98	2%	Surfaktan
Asam	4%	Barrier
Ceresin	1%	Stabilizer
Paraffin	0,3%	Pelembut
R/ Arlacel 165	4%	Surfaktan nonionik
Veegum	0,5%	Pengental
Propylene glycol	5%	Pelembab
Water	80,2%	Pelarut
Parfume and preservative	q.s	

Salah satu syarat dalam menggunakan basis losion yang bersifat nonionik yaitu nilai HLB campuran emulsi M/A kedua surfaktan nonionik berkisar antara 8-18. Apabila hasil hitung kedua surfaktan nonionik tersebut tidak memenuhi syarat maka emulsi M/A tidak akan terjadi.

Perhitungan nilai HLB campuran dari formula losion nonionik

$$\text{HLB Solulan 98 (A)} = 15$$

$$\text{HLB Arlacel 165 (B)} = 11$$

$$\text{Massa A} = 2 \text{ gram (} 2\% \times 100 \text{)}$$

$$\text{Massa B} = 4 \text{ gram (} 4\% \times 100 \text{)}$$

$$\text{Massa campuran (A+B)} = 2 + 4 = 6 \text{ gram}$$

$$\text{HLB campuran} \times \text{massa campuran} = (\text{HLB A} \times \text{massa A}) + (\text{HLB B} \times \text{massa B})$$

$$\text{HLB campuran} \times 6 = (15 \times 2) + (11 \times 4)$$

$$\text{HLB campuran} = 30 + 44 / 6$$

$$\text{HLB campuran} = 74/6$$

$$\text{HLB campuran} = 12,6$$

Dari hasil hitung HLB campuran formula yaitu 12,6 sehingga memenuhi kategori untuk pembuatan losion yang berbasis M/A yang bersifat nonionik. losion yang menggunakan basis formula

nonionik memiliki kemampuan yang lebih kompetibel terhadap senyawa kimia dan tidak mempengaruhi pH. Pembuatan losion terdiri dari 4 formula dengan variasi konsentrasi ekstrak daun salam 0%, 40%, 50% dan 60%. Losion dibuat dengan metode pencampuran dua fase, yaitu fase minyak dan fase air.

Kedua fase dipanaskan terpisah, setelah melebur keduanya dilebur menjadi satu dimana fase air ditambahkan kedalam fase minyak dalam keadaan panas-panas, kemudian diaduk sampai homogen. Setelah itu, masa pencampuran digerus dilumpang hingga mencapai suhu kamar dan terbentuk massa losion yang homogen. Formula losion yang dibuat dibedakan berdasarkan konsentrasi ekstrak daun salam yaitu terbagi dalam empat konsentrasi yaitu 0%, 40%, 50% dan 60%. Evaluasi losion meliputi pemeriksaan organoleptis, homogenitas, pH, viskositas, daya sebar, sentrifugasi serta pemeriksaan *cycling test* terhadap empat formula.

Hasil Evaluasi Losion Ekstrak Daun Salam

1. Uji homogenitas losion

Uji homogenitas dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui aspek homogenitas sediaan losion yang telah dibuat sediaan yang homogen akan menghasilkan kualitas yang baik karena menunjukkan bahan obat terdispersi dalam bahan dasar secara merata, sehingga dalam setiap bagian sediaan mengandung obat yang jumlahnya sama. Jika bahan obat tidak terdispersi merata dalam bahan dasarnya maka obat tersebut tidak akan mencapai efek terapi yang diinginkan. Pengujian homogenitas dilakukan dengan cara losion diambil pada masing-masing formula secukupnya kemudian dioleskan pada plat kaca, diraba dan digosokkan. Massa losion harus menunjukkan susunan homogen yaitu tidak terasa adanya bahan padat atau partikel yang tidak terlarut pada kaca dan hasil uji homogenitas losion anti nyamuk *Aedes aegypti* ekstrak daun

salam dapat dilihat pada tabel di bawah ini.

Tabel 1.12 Hasil uji homogenitas

Formula	Bentuk	Homogenitas
Formula I	Tidak ada butiran partikel	Homogen
Formula II	Tidak ada butiran partikel	Homogen
Formula III	Tidak ada butiran partikel	Homogen
Formula IV	Tidak ada butiran partikel	Homogen

Tabel diatas menunjukkan bahwa semua formula losion anti nyamuk formula telah homogen dan tidak terdapat partikel yang belum terlarut sehingga sediaan losion terbentuk dengan baik tanpa ada gumpalan partikel (33).

2. Uji Organoleptis

Pengujian organoleptis dilakukan secara visual dengan mengamati perubahan bentuk, aroma dan warna dari sediaan losion yang mengandung beberapa variasi ekstrak daun salam. Pengujian organoleptik dapat memberikan indikasi kebusukan, kemunduran mutu dan kerusakan lainnya dari produk dan hasil organoleptis losion ekstrak daun salam dapat dilihat pada tabel

Tabel 1.13 Hasil uji organoleptis

Formula	Bentuk	Aroma	Warna
Formula I	Semi padat	Tidak beraroma	Putih
Formula II	Semi padat	Berbau khas salam	Coklat
Formula III	Semi padat	Berbau khas salam	Coklat
Formula IV	Semi padat	Berbau khas salam	Coklat tua

Dari tabel diatas formula losion yang memiliki basis yang sama dengan konstrasi zat aktif yang berbeda, memiliki organoleptis yang berbeda pula. Dengan demikian, organoleptis sediaan

dipengaruhi oleh jumlah ekstrak yang digunakan, semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang digunakan warna semakin gelap serta memiliki aroma yang khas. Dapat dilihat pada formula IV memiliki warna yang lebih coklat gelap dibandingkan formula lain karena memiliki konsentrasi ekstrak yang paling tinggi.

3. Uji Derajat keasaman (pH)

Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui apakah losion yang telah dibuat telah memenuhi syarat pH untuk sediaan losion topikal yaitu antara 4,5-8,0. Sediaan topikal dengan nilai pH terlalu asam dapat mengiritasi kulit sedangkan bila nilai pH terlalu basa dapat membuat kulit kering dan bersisik. Pengujian dilakukan penggunaan pH meter dan hasil uji pH sediaan losion anti nyamuk ekstrak daun salam dapat dilihat pada tabel di bawah ini.

Tabel 1.14 pH sediaan losion

Formula	pH
Formula I	5,2
Formula II	5,3
Formula III	5,3
Formula IV	5,2

Dari tabel di atas dapat diketahui bahwa formula losion ekstrak daun salam masih memenuhi standar pH kulit (4,5-8,0) sesuai dengan SNI 16-4399-1996 sehingga tidak berakibat mengiritasi kulit. Hasil pH ini didapat karena bahan basis yang digunakan bersifat anionik sehingga tidak berpengaruh pada pH.

4. Uji Daya Sebar

Daya sebar merupakan kemampuan basis dan zat aktif menyebar ke permukaan kulit untuk memberikan efek terapi. Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui luas penyebaran losion saat diaplikasikan pada kulit. Daya sebar yang baik akan mempermudah saat diaplikasikan pada kulit. Parameter yang digunakan adalah diameter penyebaran losion. Faktor yang mempengaruhi diameter daya sebar suatu sediaan adalah jumlah ekstrak yang digunakan

setiap masing-masing formula. Cara pengujian yaitu timbang 0,5 g sampel diletakan ditengah diantara plat kaca lalu plat kaca diberi beban mulai 50 gr, 100 gr, 150 gr hingga 200 gr setiap 1 menit. Tiap penambahan beban diukur diameternya kemudian hasil dirata-rata. Daya sebar sediaan losion yang baik berkisar antara 5 -7 cm. Sediaan losion daun salam dengan konsentrasi 40 %, 50 % dan 60 % menunjukan daya sebar yang berbeda, sediaan losion konsentrasi 40 % menunjukan daya sebar 5,69 cm, konsentrasi 50 % menunjukan daya sebar 5,62 cm dan konsentrasi 60 % menunjukan daya sebar 5,56 cm dan untuk konsentrasi 0% menunjukan daya sebar 5,95 cm. Semua sediaan menunjukan daya sebar yang baik rata-rata diatas 5 cm. Daya sebar yang baik dapat menjamin pelepasan bahan obat dengan baik. Dari hasil tersebut menunjukkan semua losion yang dihasilkan tetap stabil selama penyimpanan (33).

Tabel 1.15 Hasil uji daya sebar

Formula	Sebaran (cm)
Formula I	5,95 cm
Formula II	5,69 cm
Formula III	5,62 cm
Formula IV	5,56 cm

5. Uji Viskositas

Viskositas adalah suatu tahanan dari suatu cairan atau sediaan untuk mengalir. Suatu cairan atau sediaan dikatakan mempunyai viskositas yang besar apabila suatu cairan atau sediaan itu membutuhkan waktu untuk dapat mengalir melewati suatu celah. Pengujian sediaan losion ekstrak daun salam memenuhi syarat viskositas yang baik atau tidak karena viskositas merupakan parameter penting dalam suatu sediaan emulsi tersebut. Nilai viskositas sediaan losion yang baik menurut SNI 16 - 4399 - 1996 yaitu berkisar antara 3000 -50000 cP.

Pengujian viskositas sediaan losion ekstrak daun salam dengan menggunakan viskometer HAAKE 550

dengan *spindle MV* . Hasil perhitungan viskositas sediaan losion ekstrak daun salam dapat dilihat pada tabel dibawah ini.

Tabel 1.16 Viskositas sediaan losion

Formula	Viskositas (Cp)
Formula I	4265 Cp
Formula II	4420 Cp
Formula III	4927 Cp
Formula IV	5824 Cp

Dari data diatas dapat diketahui bahwa formula losion yang memiliki basis yang sama dengan konsentrasi zat aktif yang berbeda-beda pula. Dengan demikian viskositas sediaan dipengaruhi oleh jumlah ekstrak yang digunakan. Semakin banyak jumlah ekstrak yang digunakan sediaan memiliki viskositas yang besar.

6. Uji sentrifugasi

Kestabilan fisik losion selanjutnya dievaluasi dengan metode sentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 30 menit. Hasil evaluasi menunjukan semua formula stabil setelah sentrifugasi.

Tabel 1.17 Hasil uji sentrifugasi

Formula	Hasil Sentrifugasi (√) 3000 rpm	
	Pisah	Tidak
Formula I		√
Formula II		√
Formula III		√
Formula IV		√

Berdasarkan dari data diatas losion yang dibuat stabil terhadap gaya gravitasi penyimpanan pada suhu kamar (16).

Uji Stabilitas losion dengan pengaruh suhu (*cycling test*)

a. Pengujian stabilitas *cycling test*

Evaluasi organoleptis dilakukan untuk mengetahui perubahan warna , bentuk dan aroma sediaan. Uji *cycling test* adalah uji yang dilakukan dengan menggunakan suhu 4^oC dan 40^o C selama 6 siklus. Hasil evaluasi

organoleptis pengujian stabilitas *cycling test* losion ekstrak daun salam dapat

dilihat pada tabel di bawah ini.

Tabel 1.18 Hasil uji *cycling test*

Formula	Pengamatan	Siklus ke-					
		1	2	3	4	5	6
Formula I	Warna	Putih	Putih	Putih	Putih	Putih	Putih
	Bentuk	Semi padat	Semi padat	Semi padat	Semi padat	Semi padat	Semi padat
	Aroma	Tidak berbau	Tidak berbau	Tidak berbau	Tidak berbau	Tidak berbau	Tidak berbau
Formula II	Warna	Coklat	Coklat	Coklat	Coklat	Coklat	Coklat
	Bentuk	Semi padat	Semi padat	Semi padat	Semi padat	Semi padat	Semi padat
	Aroma	Beraroma	Beraroma	Beraroma	Beraroma	Beraroma	Beraroma
Formula III	Warna	Coklat	Coklat	Coklat	Coklat	Coklat	Coklat
	Bentuk	Semi padat	Semi padat	Semi padat	Semi padat	Semi padat	Semi padat
	Aroma	Beraroma	Beraroma	Beraroma	Beraroma	Beraroma	Beraroma
Formula IV	Warna	Coklat tua	Coklat tua	Coklat tua	Coklat tua	Coklat tua	Coklat tua
	Bentuk	Semi padat	Semi padat	Semi padat	Semi padat	Semi padat	Semi padat
	Aroma	Beraroma	Beraroma	Beraroma	Beraroma	Beraroma	Beraroma

Dari tabel di atas dapat diketahui bahwa setiap formula losion tidak mengalami perubahan warna, bentuk maupun aroma dari setiap siklusnya, dan tidak berubah pula dengan organoleptis awal sediaan losion. Hal ini dapat disimpulkan bahwa perpindahan penyimpanan pada suhu berbeda tidak mempengaruhi organoleptis sediaan losion, baik formula I, II, III, dan IV stabil terhadap uji *cycling test*.

Hasil Uji Efektifitas Anti Nyamuk

Hasil uji efektifitas dapat dilihat pada tabel di bawah ini

Tabel 1.19 Uji efektifitas anti nyamuk

Formula/kontrol	Jumlah nyamuk yang hinggap (hari ke-)					Rata-rata	Persentase
	1	2	3	4	5		
Kontrol	19	20	19	20	20	19,6	
Formula I (0%)	18	19	17	18	16	17,6	10,2%
Formula II (40%)	8	7	6	7	6	6,8	65,3%
Formula III (50%)	6	3	5	4	3	4,2	78,6%
Formula IV (60%)	2	3	1	2	1	1,8	90,8%
Kontrol Positif (Autan)	0	0	0	0	0	0	100%

Dari data tabel diatas dapat dilihat bahwa dari 20 ekor nyamuk betina yang disiapkan untuk masing-masing uji dilakukan 5 kali pengulangan, ternyata yang hinggap semakin sedikit dengan peningkatan konsentrasi ekstrak dalam losion anti nyamuk. Diperoleh data berupa persentase daya proteksi ekstrak daun salam terhadap kontak dengan nyamuk. Hasil perhitungan persentase daya proteksi ekstrak daun salam terhadap kontak dengan nyamuk pada konsentrasi 0%, 40%, 50%, dan 60%

disajikan dalam tabel diatas. Pada konsentrasi 0% losion ekstrak daun salam memiliki daya tolak nyamuk 10,2%, pada konsentrasi 40% yaitu 65,3%, pada konsentrasi 50% yaitu 78,6% dan pada konsentrasi 60% yaitu 90,8%. Hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak daun salam mengandung bahan aktif yang memiliki aktivitas sebagai *repellent*. Sebagian besar tanaman mengandung senyawa aktif yang dapat digunakan untuk mencegah serangan dari serangga pemakan tumbuhan.

Senyawa-senyawa aktif ini dibagi menjadi beberapa kategori, meliputi *repellents*, *feeding deterrents*, toksin, dan pengatur perkembangan. Meskipun fungsi utama dari senyawa-senyawa aktif ini adalah sebagai perlindungan terhadap serangga pemakan tumbuhan, banyak juga dari senyawa tersebut yang efektif melawan gigitan nyamuk dan Diptera lainnya, terutama komponen-komponen volatil yang dilepaskan. Faktanya beberapa senyawa tersebut merupakan *repellent* terhadap serangga pemakan tumbuhan.

Serangga mendeteksi bebauan yang ditimbulkan ketika bau senyawa yang mudah menguap berikatan dengan protein reseptor bau (*odorant receptor proteins*) yang terdapat pada dendrit bersilia dari *specialized odour receptor neurons* (ORNs) yang terpapar dengan lingkungan luar, seringkali terdapat pada antena dan palpus maksilaris pada serangga, dan beberapa ORNs, seperti OR83b yang penting dalam proses penghiduan dan dimana reseptor tersebut dihambat oleh *repellent* sintetik standar DEET (*N,N-diethyl-3-methylbenzamide*). Menariknya, odour receptors yang berespon terhadap DEET juga dapat berespon terhadap eucalyptol dan linalool pada *Culex quinquefasciatus*. Pada *Anopheles gambiae*, reseptor DEET OR83b juga dapat distimulasi oleh citronellal. Bagaimanapun, banyak tanaman mengandung senyawa volatil yang dapat bertindak sebagai penolak atau *repellent* serangga. Tanaman salam memiliki banyak senyawa aktif yang memiliki berbagai aktivitas biokimia. Daun salam mengandung senyawa aktif meliputi : alkaloid, flavonoid, saponin, minyak atsiri dan terpenoid. Pada beberapa penelitian sebelumnya daun salam menunjukkan aktivitas penolak serangga atau *repellent*. Aktivitas biologi dari ekstrak daun salam sebagai *repellent* berkaitan dengan keberadaan zat aktif yang terkandung di dalamnya yaitu terpenoid. Pada hasil dapat terlihat bahwa konsentrasi tertinggi, yaitu konsentrasi 60% memperlihatkan daya proteksi tertinggi, hal tersebut dapat

dijelaskan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun salam, maka semakin meningkat komponen senyawa terpenoid yang terkandung di dalamnya sehingga semakin banyak komponen senyawa mudah menguap berikatan dengan odorant receptor proteins pada serangga. Hal tersebut menyebabkan gangguan pada proses penciuman serangga sehingga serangga menjauhi sampel (34).

Analisis data (uji ANOVA)

Uji normalitas data pada software SPSS 25 merupakan salah satu syarat yang harus dilakukan peneliti untuk melanjutkan uji *One Way ANOVA* pada formula losion ekstrak daun salam .

Tabel 1.20 Uji Normalitas

	Form ula	Kolmogorov-Smirnov ^a		Shapiro-Wilk	
		Statis tic	d f	Statis tic	d f
nyamuk yang hinggap	form ula I	,237	5,20	,961	5,8
	Form ula II	,231	5,20	,881	5,3
	form ula III	,221	5,20	,902	5,4
	form ula IV	,231	5,20	,881	5,3

Dasar dari pengambilan keputusan uji normalitas data dilihat dari nilai siq pada tabel output jika nilai siq > 0,05 maka data berdistribusi normal tapi jika nilai siq < 0,05 maka data tidak berdistribusi normal. Untuk data sampel dibawah < 50 peneliti menggunakan nilai siq tabel Shapiro-Wilk, maka dari data tabel di atas dapat disimpulkan bahwa data berdistribusi normal dimana nilai 0,814 > 0,05.

Tabel 1.21 Uji Post Hoc One Way ANOVA

(I) formu la	(J) form ula	Mean Differ ence (I- J)	St d. Err or	Si g.	95% Confidenc e Interval	
					Low er Bou nd	Upp er Bou nd
formu la I	Form ula II	10,800*	,66 3	,0 00	8,90	12,7 0
	form ula III	13,400*	,66 3	,0 00	11,5 0	15,3 0
	form ula IV	15,800*	,66 3	,0 00	13,9 0	17,7 0
Form ula II	form ula I	-10,800*	,66 3	,0 00	-12,7 0	-8,90
	form ula III	,600*	,66 3	,0 06	,70	4,50
	form ula IV	5,000*	,66 3	,0 00	3,10	6,90
formu la III	form ula I	-13,400*	,66 3	,0 00	-15,3 0	-11,5 0
	Form ula II	-2,600*	,66 3	,0 06	-4,50	-,70
	form ula IV	2,400*	,66 3	,0 11	,50	4,30
formu la IV	form ula I	-15,800*	,66 3	,0 00	-17,7 0	-13,9 0
	Form ula II	-5,000*	,66 3	,0 00	-6,90	3,10
	form ula III	-2,400*	,66 3	,0 11	-,50	4,30

Pengujian *Turkey HSD* adalah pengujian perbandingan untuk menentukan apakah rata-rata nyamuk yang hinggap tersebut signifikan dalam jumlah analisa varian. Sebagai contoh perbandingan rata-rata nyamuk yang hinggap Formula I dan Formula II. Angka perbedaan rata-rata nyamuk yang hinggap 10,800. Angka 10,800 ini diperoleh dari nilai rata-rata (pada output deskriptif) untuk nyamuk yang hinggap formula I (17,60) dikurangi dengan rata-rata nyamuk yang hinggap

formula II (6,80). Sementara itu, perbedaan rata-rata nyamuk yang hinggap berkisar antara 8,90 (*Lower Bound*) sampai dengan 12,70 (*Upper Bound*) pada tingkat kepercayaan 95%. Untuk uji apakah ada perbedaan yang signifikan antara kedua formula tersebut maka kita harus melihat apakah nilai signifikan hasil output SPSS ini, nilainya lebih kecil atau lebih besar dari 0,05. Berdasarkan nilai dari *Multi Comparisons* diketahui nilai *siq* sebesar $0,00 < 0,05$, maka dapat disimpulkan bahwa nyamuk yang hinggap formula I dan formula II adalah berbeda. Sehingga perbedaan rata-rata nyamuk yang hinggap secara deskriptif antara kedua formula tersebut signifikan.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan penelitian dan analisa yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

1. Sediaan losion ekstrak daun salam sebagai *repellent* terdiri dari komposisi formula losion noninok yang sangat kompetibel terhadap senyawa kimia dan tidak menyebabkan perubahan pH pada sediaan.
2. Berdasarkan hasil uji *repellent* sediaan losion ekstrak daun salam dengan persentase efektivitas rata-rata daya proteksi nyamuk *Aedes aegypti* pada konsentrasi 40% yaitu 65,3%, pada konsentrasi 50% yaitu 78,6%, dan pada konsentrasi 60% yaitu 90,2%. Hasil tersebut menunjukkan bahwa losion ekstrak daun salam berpotensi sebagai *repellent* yang menjanjikan dalam pencegahan transmisi Dengue.
3. Sediaan losion dari ekstrak daun salam memiliki daya proteksi terhadap nyamuk *Aedes aegypti*, dan semakin tinggi konsentrasi ekstrak akan semakin efektif sebagai *repellent*.

B. Saran

1. Parameter evaluasi fisik pada penelitian ini dinilai kurang untuk mengetahui kesetabilan fisik sediaan losion, oleh karena itu perlu juga dilakukan uji stabilitas kimia, mikrobiologi serta uji klinis.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang uji daya lekat untuk mengetahui pengaruh basis dan formula losion terhadap ketahanan aktivitas *repellent* sediaan losion dari ekstrak daun salam.
3. Perlu dilakukan penelitian bagaimana kekuatan *repellent* ekstrak daun salam dan setelah diformulasikan dalam bentuk sediaan losion maupun bentuk sediaan lain (*Spray*,krim).

DAFTAR PUSTAKA

1. SETIYAWAN H, LESTARI AS, AYUNINGTYAS EN, MERADJI A, DIANA E, UTAMI EB. PENYULUHAN DEMAM BERDARAH DENGUE DAN TANAMAN PENGUSIR NYAMUK DI DESA MODALAN, BANGUNTAPAN. J PEMBERDAYA PUBL HAS PENGABDI KPD MASY. 2019;
2. Aseptianova a, Fitri wijayanti t, Nurina n. Efektifitas pemanfaatan tanaman sebagai insektisida elektrik untuk mengendalikan nyamuk penular penyakit dbd. Bioeksperimen j penelit biol. 2017;3(2):10.
3. Harismah k. Pemanfaatan daun salam (*eugenia polyantha*) sebagai obat herbal dan rempah penyedap makanan. War lpm. 2017;
4. Skrining fitokimia ekstrak n-heksan korteks batang salam (*syzygium polyanthum*). Indones j chem sci. 2018;
5. Depkes ri. Farmakope indonesia v. Farmakop indones ed v. 2014;
6. Nur k. Karakterisasi simplisia dan standarisasi ekstrak etanol herba kemangi (*ocimum americanum l*). Fakultas kedokteran dan ilmu kesehatan program studi farmasi uin syarif hidayatullah jakarta. 2013.
7. Ri b. Pedoman teknologi formulasi sediaan berbasis ekstrak. Badan pom ri. 2012.
8. Depkes r. Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat, jakarta: departement kesehatan republik indonesia. Edisi iv. 2000.
9. Departemen kesehatan republik indonesia. Farmakope hebal indonesia. Farmakop herb indones. 2008;1–221.
10. Sari ap. Pengaruh emulgator terhadap stabilitas fisik lotion minyak nilam (*patchouli oil*) dan uji efek anti-nyamuk. Skripsi. 2012;
11. Sudarmilah e, thoyib m. Stop demam berdarah dengue (dbd) – virtual reality application for learning about dengue fever. Int j emerg trends eng res. 2019;
12. Palgunadi bu, rahayu a. *Aedes aegypti* sebagai vektor penyakit demam berdarah dengue bagus. Dinus. 2011;
13. Suman ds, shrivastava ar, pant sc, parashar bd. Differentiation of *aedes aegypti* and *aedes albopictus* (diptera: culicidae) with egg surface morphology and morphometrics using scanning electron microscopy. Arthropod struct dev. 2011;
14. Dr. Padoli, skp. Mk. Mikrobiologi dan parasitologi keperawatan. Kementerian kesehatan republik indonesia pusat pendidikan dan sumber daya manusia kesehatan badan pengembangan dan pemberdayaan sumber daya manusia kesehatan. 2016.
15. Ilmu j, masyarakat k, keolahragaan fi, semarang un. Uji kemampuan ekstrak daun kemangi(*ocimum sanctum l*.)

- Dalam bentuk granul sebagai larvasida nyamuk aedes aegypti. *Ixoura hafsa* vitaningrum. 2015;
16. World health organization, who pesticide evaluation scheme. Guidelines for efficacy testing of spatial repellents. Who. 2013;
 17. Rivai h, heriadi a, fadhilah h. Pembuatan dan karakterisasi ekstrak kering daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.). *J farm higea*. 2015;
 18. Pratiwi e. Andrographolide dari tanaman sambiloto (*Andrographis*). Skripsi, fak tekno pertan institusi pertan bogor. 2010;
 19. Rahayu df, ustiawan a. Identifikasi aedes aegypti dan aedes. *Balaba*. 2013;
 20. Medikanto br, setyaningrum e, biomed m. Pengaruh ekstrak daun legundi (*Vitex trifolia* L.) Sebagai repellent terhadap nyamuk aedes aegypti. *Med j lampung univ*. 2013;2(4):35–43.