

UJI EFEKTIVITAS BIJI SIRSAK (*ANNONA MURICATA L*) SEBAGAI LARVASIDA PADA LARVA *CULEX*

Nurfadilah¹, Neneng Nasjiah Namadula²
Akademi Farmasi Persada Sukabumi¹
Email: nurfadilah@gmail.com

ABSTRAK

Adanya penurunan cakupan Pemberian Obat Pencegahan Masal (POPM) pada tahun 2015 di bandingkan tahun 2014. Pada tahun 2015, cakupan Pemberian Obat Pencegahan Masal (POPM) sebesar 69,52%, turun dari tahun 2014 (73,91%). Penurunan ini disebabkan karena jumlah penduduk di kabupaten/kota endemis meningkat selain jumlah kabupaten/kota endemisnya meningkat dibandingkan dengan tahun 2014. Jika dibandingkan, angka absolut penduduk yang minum obat tahun 2015 meningkat hampir dua kali lipat dari tahun 2014. Kondisi ini dimungkinkan karena pada tahun 2015 dicanangkan kampanye bulan eliminasi kaki gajah pada bulan oktober oleh presiden RI sehingga sebagai besar kabupaten/kota endemis secara serentak melaksanakan Pemberian Obat Pencegahan Masal (POPM) filariasis (Depkes, RI 2015).

Penelitian ini adalah untuk mengetahui Uji Efektifitas Biji Sirsak (*Annona Muricata L*) sebagai larvasida pada larva *Culex*. Terhadap kematian kematian larva *Culex* di Subang Jaya Kecamatan Cikole Kota Sukabumi. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen sesungguhnya (*True Experiment*), penelitian tergolong verifikatif yaitu menguji kebenaran hasil penelitian eksperimen sebelumnya.

Teknik pengambilan sample yaitu total sampling 200 ekor larva *Culex*. Berdasarkan hasil penelitian efektifitas larutan biji sirsak (*Annona Muricata L*) kontak dengan larva *Culex* selama 1 jam dengan larutan biji sirsak (*Annona Muricata L*) 25ml jumlah kematian larva *Culex* 13 ekor, 30ml jumlah kematian larva *Culex* 15 ekor, 35ml jumlah kematian larva *Culex* 21 ekor, dan 40ml jumlah kematian larva *Culex* 26 ekor.

Hasil dari Uji ANOVA nilai signifikan yaitu 0,000 dimana signifikan < 0,05 maka hipotesa penelitian di tolak. Adanya pengaruh yang signifikan konsentrasi larutan Biji Sirsak (*Annona Muricata L*) terhadap kematian larva *Culex*.

Daftar Pustaka : 15 (2007-2011)

Kata Kunci : Biji Sirsak (*Annona Muricata L*), Larvasida, Larva *Culex*

PENDAHULUAN

Pencegahan filariasis yang ditularkan melalui gigitan nyamuk *Culex* sp. merupakan hal yang sangat penting dalam menekan peningkatan orang yang terinfeksi oleh cacing filaria. Salah satu program yang diterapkan dalam pencegahan adalah pemberantasan nyamuk *Culex* sp.

Pemberantasan vektor nyamuk tersebut umumnya menggunakan bahan-bahan zat kimia atau insektisida kimia seperti dichloro diphenyl trichloroethene (DDT), propocur dan produk kimia lainnya.

Acetogenin pada biji sirsak merupakan senyawa yang dapat menghambat kerja enzim reduktase ubiquinon Nicotinamida Adenosin Dinukleotida Hidrogen (NADH) (Complex I) yang dapat menurunkan fungsi mitokondria pada nyamuk *Culex*. Berdasarkan Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine ekstrak *Annona muricata* menyebabkan mortalitas yang lebih tinggi dibandingkan *Annona squamosa* terhadap spesies *Aedes albopictus* dan *Culex* sp. di Madagascar. Penelitian yang dilakukan oleh Lala Harivelo Raveloson Ravaomanarivo et al ini mendapatkan LC50 ekstrak biji sirsak terhadap larva *Culex* sp. instar III dibawah 5000 ppm. ekstrak biji sirsak pada konsentrasi 1000 ppm dalam 24 jam menyebabkan kematian larva *Culex* sp. sebesar 97,5 % dari 40 larva dan dalam 72 jam kematian larva mencapai 100%. dalam 24 jam dengan confidence limits 95%, infusa biji sirsak 10 % terhadap larva nyamuk *Culex quinquefasciatus* memiliki LC50 sebesar 6,50 (5,08-7,69) ml %.

Penggunaan insektisida dalam mengendalikan vektor berdampak buruk tidak hanya bagi kesehatan manusia, kontaminasi tanaman dan buah-buahan, pencemaran lingkungan, keseimbangan ekologi tetapi juga dapat menyebabkan peningkatan resistensi terhadap nyamuk itu sendiri. Acetogenin pada biji sirsak merupakan senyawa yang dapat menghambat kerja enzim reduktase ubiquinon Nicotinamida Adenosin Dinukleotida Hidrogen (NADH) (Complex I) yang dapat menurunkan fungsi mitokondria pada nyamuk *Culex*.

Berdasarkan Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine ekstrak *Annona muricata* L menyebabkan mortalitas yang lebih tinggi dibandingkan *Annona squamosa* terhadap spesies *Aedes albopictus* dan *Culex* sp. di Madagascar. Penelitian yang dilakukan oleh Lala Harivelo Raveloson Ravaomanarivo et al ini mendapatkan LC50 ekstrak biji sirsak terhadap larva *Culex* sp. instar III dibawah 5000 ppm.

Yang ditunjukkan dari data World Health Organization (WHO) tahun 2016 menyebutkan bahwa terdapat 1,5 M orang terinfeksi filariasis dengan sekitar 40 juta mengalami cacat fisik dan keterbatasan dalam beraktivitas. Sekitar 65% penduduk berisiko tinggal di kawasan Asia Tenggara (WHO, 2016).

Indonesia merupakan salah satu negara di Asia Tenggara dimana lebih dari 100 juta orang berisiko untuk terinfeksi filariasis, angka ini mempati urutan kedua setelah negara India (Naito, 2015).

Kasus filariasis di Indonesia tersebar luas hampir di seluruh wilayah kepulauan seperti Sumatera, Jawa, Kalimantan, Sulawesi, Nusa Tenggara, dan Papua. Jumlah kasus filariasis di Indonesia dari tahun 2012 hingga tahun 2014 mengalami peningkatan. Secara berturut-turut angka penderita filariasis sebesar 11.903 kasus, 12.714 kasus, dan 14.932 kasus. Selain itu, tingkat endemisitas di Indonesia berkisar antara 0 % - 40 % dengan endemisitas setiap provinsi dan kabupaten berbeda-beda. Berdasarkan survei darah jari hingga tahun 2014,

kabupaten/kota di Indonesia yang endemis filariasis adalah 335 kabupaten/kota dari 495 kabupaten/kota (67%), 3 kabupaten/kota yang tidak endemis filariasis 0,6%), dan 176 kabupaten/kota yang belum melakukan survei endemisitas filariasis. Pada tahun 2014, 176 kabupaten/kota tersebut disurvei dan endemisitas filariasis meningkat menjadi 356 dari 495 kabupaten/kota atau sebesar 71,9 % (Kemenkes RI, 2018)

Adanya penurunan cakupan Pemberian Obat Pencegahan Masal (POPM) pada tahun 2015 di bandingkan tahun 2014. Pada tahun 2015, cakupan Pemberian Obat Pencegahan Masal (POPM) sebesar 69,52%, turun dari tahun 2014 (73,91%). Penurunan ini disebabkan karena jumlah penduduk di kabupaten/kota endemis meningkat selain jumlah kabupaten/kota endemisnya meningkat dibandingkan dengan tahun 2014. Jika dibandingkan, angka absolut penduduk yang minum obat tahun 2015 meningkat hampir dua kali lipat dari tahun 2014. Kondisi ini dimungkinkan karena pada tahun 2015 dicanangkan kampanye bulan eliminasi kaki gajah pada bulan oktober oleh presiden RI sehingga sebagai besar kabupaten/kota endemis secara serentak melaksanakan Pemberian Obat Pencegahan Masal (POPM) filariasis (Depkes, RI 2015)

METODE PENELITIAN

Dalam penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimen. Ditinjau dari segi tujuan penelitian ini tergolong penelitian verifikatif yang bertujuan untuk menguji suatu teori atau hasil penelitian sebelumnya, dengan maksud untuk mengetahui Uji Efektifitas Biji Sirsak (*Annona Muricata L*) sebagai Larvasida pada Larva *Culex*.

Varibel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu

1. Variabel Bebas (*Independent*)

Variabel bebas adalah Merupakan variabel yang mempengaruhi atau yang menjadi sebab perubahannya atau timbulnya variabel dependen (Sugiyono, 2011). Pemberian Ekstrak Biji Sirsak dengan kosentrasi 20 ml, 25 ml, 30 ml, dan 35 ml dengan menggunakan *aquabidest*.

2. Variabel Terikat (*Dependent*)

Variabel terikat atau dependen merupakan variabel yang dipengaruhi atau yang menjadi akibat, karena adanya variabel bebas (Sugiyono, 2011). Dalam penelitan ini adalah kematian lava *Culex*

3. Variabel Pengganggu

Variabel pengganggu adalah variabel yang secara teoritis mempengaruhi hubungan variabel yang sedang diteliti tetapi tidak dapat dilihat, pengaruhnya harus disimpulkan dari pengaruh-pengaruh variabel bebas terhadap gejala yang diteliti.

a) Suhu

Rata-rata suhu optimum untuk pertumbuhan nyamuk adalah 27-31°C

b). pH

Kehidupan larva *Culex* pada air perindukan bisa bertahan hidup sampai dengan menetas menjadi nyamuk dewasa pada kisaran pH 6,7 sampai 7,6.

Populasi yang di gunakan pada penelitian ini yaitu populasi Larva *Culex* yang terdapat di lingkungan rumah di Subang Jaya Kecamatan Cikole Kota Sukabumi. Populasi penelitian 100 larva *Culex*.

Sample larva *Culex* diperoleh dari tempat penampungan air kotor yang berada pada botol bekas .jumlah yang diuji pada penelitian berjumlah 200 ekor larva *Culex* yang masing-masing 10 ekor larva akan di uji dalam 4 tingkatan konsentrasi yang berbeda.

Data yang dikumpulkan adalah dengan menghitung jumlah larva *Culex* yang mati pada setiap kontainer . Perhitungan larva *Culex* yang mati dilakukan pada 10 menit sampai 60 menit dengan konsentrasi yang berbeda-beda yaitu 25 ml,30 ml, 35 ml, dan 40 ml yang dimasukan ke dalam kontainer yang berisi 500 ml. Larva *Culex* yang mati merupakan larva yang tidak ada pergerakan sama sekali setelah dilakukan perlakuan. Data yang diperoleh di analisa menggunakan uji Anova program komputer (software) SPSS.

HASIL PENELITIAN

1. Hasil Univariat

Hasil penelitian “Uji Efektivitas Biji Sirsak (*Annona Muricata* L) sebagai larvasida pada Larva *Culex*”. Data yang diperoleh dari hasil pengamatan dalam penelitian adalah jumlah larva *Culex* yang mati setelah diberikan larutan biji sirsak dengan konsentrasi 20ml, 30ml, 35ml, 40ml. Waktu pelaksanaan penelitian 10.00 – 11.00 WIB. Penelitian dilakukan pada tanggal 8 Juni 2019 di Laboratorium Jurusan Kesehatan Lingkungan Poltekkes Yapkesbi Sukabumi.

1. Jumlah kematian larva *Culex* dengan konsentrasi 25ml

Tabel .1
Jumlah kematian larva *Culex* dengan konsentrasi 25ml

Pengulangan	Σ Kematian Larva	Suhu °C	pH Air
1	3	28	6
2	3	28	6
3	2	28	6
4	3	28	6
5	2	28	6
Jumlah Total	X=13		

Berdasarkan tabel 5.1 perlakuan dengan konsentrasi 25ml larutan ekstrak biji sirsak (*Annona Muricata* L) dalam waktu 10 – 60 menit dapat membunuh larva *Culex* sebanyak 13 ekor.

2. Jumlah kematian larva *Culex* dengan konsentrasi 30ml

Tabel .2
Jumlah kematian larva *Culex* dengan konsentrasi 30ml

Pengulangan	Σ Kematian Larva	Suhu °C	pH Air
1	3	28	6
2	3	28	6
3	2	28	6
4	3	28	6
5	3	28	6
Jumlah Total	X=15		

Berdasarkan tabel 5.2 perlakuan dengan konsentrasi 30ml larutan ekstrak biji sirsak (*Annona Muricata* L) dalam waktu 10 – 60 menit dapat membunuh larva *Culex* sebanyak 15 ekor.

3. Jumlah kematian larva *Culex* dengan konsentrasi 35ml

Tabel .3
Jumlah kematian larva *Culex* dengan konsentrasi 35ml

Pengulangan	Σ Kematian Larva	Suhu °C	pH Air
1	4	28	6
2	4	28	6
3	5	28	6
4	3	28	6
5	5	28	6
Jumlah Total	X=21		

Berdasarkan tabel 5.3 perlakuan dengan konsentrasi 35ml larutan ekstrak biji sirsak (*Annona Muricata* L) dalam waktu 10 – 60 menit dapat membunuh larva *Culex* sebanyak 21 ekor.

4. Jumlah kematian larva *Culex* dengan konsentrasi 40ml

Tabel .4
Jumlah kematian larva *Culex* dengan konsentrasi 40ml

Pengulangan	Σ Kematian Larva	Suhu °C	pH Air
1	6	28	6
2	6	28	6
3	4	28	6
4	4	28	6

5	6	28	6
Jumlah Total		X=26	

Berdasarkan tabel 5.4 perlakuan dengan konsentrasi 40ml larutan ekstrak biji sirsak (*Annona Muricata L*) dalam waktu 10 – 60 menit dapat membunuh larva *Culex* sebanyak 26 ekor.

2. Analisis Bivariat

1. Analisa Homogenitas Variasi Uji Efektivitas Biji Sirsak (*Annona Muricata L*) sebagai larvasida pada larva *Culex*

Sebelum dilakukan Uji Anova terhadap hasil perlakuan dari keempat konsentrasi ekstrak biji sirsak (*Annona Muricata L*) terhadap kematian larva *Culex*. Dilakukan perlakuan homogenitas untuk memenuhi syarat penghitungan untuk ANOVA yaitu varian homogen. Adapun sisi perlakuan homogenitas adapat dilihat pada tabel 5.

Tabel .5
Analisa Homogenitas Variasi Uji Efektivitas Biji Sirsak
(*Annona Muricata L*) sebagai larvasida pada Larva *Culex*
dengan konsentrasi yang berbeda
Test of Homogeneity of Variances

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.667	3	16	.016

Hasil perhitungan dengan menggunakan SPSS

Dari tabel 5.5 diperoleh angka Levene Statistic sebesar 4.667 dengan signifikan/probabilitas (sig) sebesar 0,016 maka angka probabilitas/signifikansi hitung $> 0,05$ ($0,016 > 0,05$) maka H_0 menerima dan H_a menolak. Kesimpulannya, varian keempat konsentrasi yang digunakan dalam perlakuan yang dibandingkan tersebut sama. Dengan demikian asumsi kesamaan varians untuk perlakuan ANOVA terpenuhi (sarwono,2015).

2. Analysis of variance (ANOVA)

Dari hasil perlakuan homogenitas sebelumnya menunjukkan bahwa setiap varian homogen/sama sehingga dapat dilakukan perlakuan Anova untuk membuktikan ada atau tidaknya perbedaan yang signifikan antara masing-masing perlakuan yang diberi larutan ekstrak biji sirsak sebanyak 25ml, 30ml, 35ml, dan 40ml. terhadap kematian larva *Culex*,. Adapun hasil perlakuan Anova seperti pada tabel berikut ini :

Tabel .6

Hasil Analisa Perlakuan Anova Efektivitas Biji Sirsak (*Annona Muricata L*) Sebagai Lavasida Pada Larva *Culex*

ANOVA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	22.600	3	7.533	12.556	.000
Within Groups	9.600	16	.600		
Total	32.200	19			

Hasil perhitungan dengan menggunakan SPSS

Kaidah keputusan menggunakan Uji ANOVA adalah sebagai berikut :

- Jika nilai signifikansi $< 0,05$ maka menolak $H(0)$ dan menerima $H(a)$
- Jika nilai signifikansi $> 0,05$ maka menerima $H(0)$ dan menolak $H(a)$
- H_0 = Diduga tidak ada pengaruh konsentrasi larutan Biji Sirsak (*Annona Muricata L*) terhadap kematian larva *Culex*
- H_a = Diduga ada pengaruh konsentrasi larutan Biji Sirsak (*Annona Muricata L*) terhadap kematian larva *Culex*

3. Uji Hipotesa

Karena nilai signifikan yaitu 0,000 dimana signifikan $< 0,05$ maka hipotesa penelitian di tolak. Adanya pengaruh yang signifikan konsentrasi larutan Biji Sirsak (*Annona Muricata L*) terhadap kematian larva *Culex*

4. Analisis Perbandingan perbedaan Rata-rata Efektivitas Biji Sirsak (*Annona Muricata L*) Sebagai Lavasida Pada Larva *Culex* dengan Konsentrasi Yang Berbeda

Berdasarkan analisa hasil perhitungan Anova karena menunjukkan H_0 ditolak H_a terima ada hubungan maka uji ini di lanjutkan dengan uji Post Hoc Tes dengan membandingkan angka rata-rata antara kelompok perlakuan pada taraf nyata 0,05 dapat dilihat pada tabel berikut ini.

Tabel .7

Analisis Perbandingan perbedaan Rata-rata Efektivitas Biji Sirsak (*Annona Muricata L*) Sebagai Lavasida Pada Larva *Culex* dengan berbagai perlakuan

No	Perlakuan (I)	Perlakuan (J)	Beda	
			rata-rata (I-J)	p-value
1	Konsentrasi 25ml	Konsentrasi 30ml	-0,200	1,000
		Konsentrasi 35ml	-1,600*	0,029
		Konsentrasi 40ml	-2,600*	0,000

2	Konsentrasi 30ml	Konsentrasi 25ml	0,200	1,000
		Konsentrasi 35ml	-1,400	0,068
		Konsentrasi 40ml	-2,400*	0,001
3	Konsentrasi 35ml	Konsentrasi 25ml	1,600*	0,029
		Konsentrasi 30ml	1,400	0,068
		Konsentrasi 40ml	-1,000	0,348
4	Konsentrasi 40ml	Konsentrasi 25ml	2,600*	0,000
		Konsentrasi 30ml	2,400*	0,001
		Konsentrasi 35ml	1,000	0,348

Berdasarkan tabel 5.7 dapat diketahui Hasil perlakuan Bonferroni menunjukkan bahwa tidak semua konsentrasi larutan biji sirsak mempunyai p-value <0,05 Pada perlakuan (I) konsentrasi 25ml dengan konsentrasi (J) 30ml p-value 1,000 dimana p-value > 0,05 yang berarti tidak semua memiliki perbedaan yang bermakna terhadap kematian larva Culex dengan nilai rata-rata perbedaan yaitu -1,600.

Berbeda dengan perlakuan (I) konsentrasi 40ml dengan konsentrasi (J) 25ml dimana p-value <0,05 yang memiliki perbedaan bermakna terhadap kematian larva Culex dengan nilai rata-rata perbedaan yaitu 0,000.

Maka hipotesa penelitian diterima artinya semakin tinggi konsentrasi larutan biji sirsak yang digunakan akan semakin dapat terlihat perbedaan yang signifikan dalam mematikan larva Culex pada taraf nyata 0,05.

PEMBAHASAN

Berdasarkan tabel 5.1, 5.2, 5.3 dan 5.4 masing-masing perlakuan diatas dengan konsentrasi 40ml memiliki hasil lebih tinggi dalam mematikan larva Culex dengan total 26 ekor sedangkan dengan perlakuan konsentrasi 35ml didapatkan total 21 ekor ,perlakuan konsentrasi 30ml didapatkan total 15 ekor dan perlakuan konsentrasi 25ml didapatkan 13 ekor. Maka dari itu semakin tinggi konsentrasi larutan biji sirsak semakin terlihat signifikan dalam mematikan larva Culex.

Sirsak dapat diolah dan menjadi larvasida untuk beberapa spesies dalam konsentrasi-konsentrasi tertentu diantaranya merupakan ekstrak air dan minyak biji sirsak yang dapat mematikan larva dan nyamuk dewasa dari *Aedes albopictus* dan *Culex quinquefasciatus*, ekstrak ethanol daun sirsak memberikan efek toksik terhadap *Culex quinquefasciatus*, serta ekstrak ethanol biji sirsak menyebabkan efek mematikan pada larva *Aedes aegypti*. Famili Annonaceae ini memiliki acetogenin yang bersifat larvasida. (Leboeuf et al, 2008).

Komponen ini adalah bahan toksik sebagai anti-tumor, insektisida, acaricidal, anti-fungi, anti parasit dan anti bakteri. Tumbuhan *Annona muricata* dan *Annona squamosa* ini mengandung acetogenin, alkaloid dan flavonoid yang merupakan properti insektisida. *Annona muricata* L dan *Annona squamosa* mengandung banyak acetogenin, yang diketahui sebagai mitochondrial complex I inhibitor. Komponen ini mempengaruhi mitochondrial electron transport. Ubiquinone oxireductase atau complex I. Acetogenin utama pada biji *Annona muricata* yaitu annonacin dan pada *Annona Squamosa* adalah squamocin. Kandungan ekstrak biji sirsak mempengaruhi mortalitas dari tahap larva, pupa dan nyamuk dewasa, serta

menurunkan kesuksesan reproduktif dari nyamuk betina dengan mengurangi kesuburan dan kemampuan telur dalam penetasan.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian analisis data mengenai Uji efektifitas Biji Sirsak (*Anonna Muricata L*) sebagai larvasida terhadap larva *Culex* maka penulis dapat menarik kesimpulan sebagai berikut:

1. Dari konsentrasi 25ml, 30ml, 35ml dan 40ml larutan biji sirsak (*Anonna Muricata L*) dengan konsentrasi 25ml kontak dengan larva *Culex* dalam waktu 1 jam jumlah total kematian 13 ekor.
2. Dari konsentrasi 25ml, 30ml, 35ml dan 40ml larutan biji sirsak (*Anonna Muricata L*) dengan konsentrasi 30ml kontak dengan larva *Culex* dalam waktu 1 jam jumlah total kematian 15 ekor.
3. Dari konsentrasi 25ml, 30ml, 35ml dan 40ml larutan biji sirsak (*Anonna Muricata L*) dengan konsentrasi 35ml kontak dengan larva *Culex* dalam waktu 1 jam jumlah total kematian 21 ekor.
4. Dari konsentrasi 25ml, 30ml, 35ml dan 40ml larutan biji sirsak (*Anonna Muricata L*) dengan konsentrasi 40ml kontak dengan larva *Culex* dalam waktu 1 jam jumlah total kematian 26 ekor.

SARAN

1. Bagi peneliti selanjutnya

Dapat menjadikan penelitian ini sebagai referensi dengan spesies larva nyamuk yang berbeda

2. Bagi Institusi Pendidikan

Disarankan bagi institusi pendidikan agar dapat mengeksplorasi kembali berbagai pengetahuan tentang pengendalian vector dengan cara lainnya.

3. Bagi masyarakat

Disarankan kepada masyarakat agar menggunakan larutan biji sirak sebagai insektisida alami untuk membasmi larva *culex* karena mudah ditemukan dan ramah lingkungan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Astuti, M.A.W. Uji Daya Bunuh Ekstrak Bunga Kecombrang (*Nicolaia speciosa* (Blume) Horan.) Terhadap Larva Nyamuk *Culex quinquefasciatus* Say. Yogyakarta: Skripsi S1, Fakultas Teknobiologi, Universitas Atmajaya Jogjakarta. 2011
2. Novianto, Ikwi Wijaya. Kemampuan Hidup Larva *Culex quinquefasciatus* Say. Pada Habitat Limbah Cair Rumah Tangga(Skripsi). Surakarta: Universitas Sebelas Maret. 2007.

3. Wagner, W.L, D.R. Harbest, dkk. Flora of The Hawaiian Island Website. 2011. Available from:
<http://botany.si.edu/pacificislandbiodiversity/hawaiianflora/index.htm>
4. <http://edis.ifas.ufl.edu/pdffiles/IN/IN83700.pdf>
5. <http://repository.uinjkt.ac.id/dspace/bitstream/123456789/37340/1/SITI%20AISHA%20NABILA%20FERINA-FKIK.pdf>
6. <http://repository.usu.ac.id/bitstream/handle/123456789/41397/Chapter%20II.pdf?sequence=4&isAllowed=y>
7. <http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:kbpgcTFV0q8J:e-journal.uajy.ac.id/626/+&cd=1&hl=id&ct=clnk&gl=id&client=firefox-b-d>
8. <https://id.wikipedia.org/wiki/PH>
9. <https://id.wikipedia.org/wiki/Suhu>
10. <https://journal.bio.unsoed.ac.id/index.php/biosfera/article/download/361/34>
11. https://www.academia.edu/36669171/MORFOLOGI_DAN_SIKLUS_HI_DUP_CULEX_Sp.docx
12. https://www.academia.edu/9923618/Laporan_Praktikum_Vektor_Identifikasi_Jentik_Nyamuk_
13. <https://www.ijcmas.com/vol-3-4/K.Manimegalai%20and%20S.Sukanya.pdf>
14. https://www.researchgate.net/publication/306375768_NYAMUK_DIPTERACULICIDAE_TAMAN_NASIONAL_BOGANINANI_WARTABONE_SULAWESI_UTARA_KERAGAMAN_STATUS_DAN_HABITATNYA
15. <https://www.scribd.com/document/351355923/Pengertian-analisis-Univariate>