

PENGARUH PENAMBAHAN KONSENTRASI NATRIUM LAURIL SULFAT SEBAGAI EMULGATOR DALAM BASIS *COLD CREAM* REPELAN MINYAK ATSIRI DAUN SERE (*Cymbopogon citratus* (D.C) Stapf.) TERHADAP NYAMUK *Aedes aegypti* BETINA SERTA UJI SIFAT FISIKNYA

Cantiknianti Prasetyaningtyas, Azis Ikhsanudin
Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta

Abstrak

Repelan merupakan salah satu metode perlindungan diri dari gigitan nyamuk. Salah satu bahan alami yang mempunyai aktivitas repelan adalah minyak atsiri daun sere (*Cymbopogon citratus* (D.C) Stapf.), maka perlu dilakukan inovasi sediaan krim dari minyak atsiri tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan natrium lauril sulfat yang digunakan sebagai emulgator repelan minyak atsiri daun sere pada basis cold cream terhadap nyamuk *Aedes aegypti* betina dan uji sifat fisiknya. Daun sere diisolasi minyak atsirinya dengan cara destilasi yang kemudian diuji sifat fisiknya melalui uji organoleptis dan pemeriksaan indeks bias. Formula krim dengan penambahan natrium lauril sulfat dibuat dalam 4 seri formula yaitu formula I mengandung natrium lauril sulfat 2%, formula II mengandung natrium lauril sulfat 3%, formula III mengandung natrium lauril sulfat 4%, dan formula IV mengandung natrium lauril sulfat 5%. Konsentrasi minyak atsiri yang ditambahkan sebanyak 10% v/b. Uji repelan menggunakan metode MD Fradin M.S dan Day J.F dan uji sifat fisiknya meliputi daya lekat, daya sebar, dan uji iritasi. Data yang diperoleh diuji secara statistik dengan uji Kruskal-Wallis dengan taraf kepercayaan 95% dan dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney. Hasil yang diperoleh menunjukkan penambahan natrium lauril sulfat pada konsentrasi 3% memberikan efek repelan yang optimal yaitu selama 83,67 menit. Sedangkan efek repelan pada konsentrasi natrium lauril sulfat 2% selama 66,67 menit, konsentrasi 4% selama 67,00 menit, dan konsentrasi 5% selama 66,33 menit. Dengan peningkatan konsentrasi natrium lauril sulfat yang ditambahkan akan menurunkan aktivitas repelannya. Semakin tinggi konsentrasi natrium lauril sulfat yang ditambahkan semakin lunak konsistensi krim yang dihasilkan, maka daya lekatnya semakin kecil dan kemampuan menyebarnya semakin luas.

Kata kunci : repelan, minyak atsiri daun sere (*Cymbopogon citratus* (D.C) Stapf.), cold cream, Natrium Lauril Sulfat, *Aedes aegypti* betina

PENDAHULUAN

Salah satu cara untuk menghindari atau mengurangi kontak dengan nyamuk yaitu dengan penggunaan obat nyamuk, baik dalam bentuk semprot, repelan atau bakar. Ketiganya mengandung racun bernama *Diethyltoluamide* atau DEET. DEET ini sangat korosif, sehingga bisa menyebabkan iritasi kulit (Anonim, 2007). Repelan adalah substansi yang dipergunakan untuk melindungi manusia, hewan, dan tumbuhan dari serangga dengan membuat *host* yang mampu menangkal atau menghindari dengan menyamarkan sifat bau pada *host* tersebut (Gennaro, 1990).

Keterbatasan penggunaan bahan kimia untuk membasmi serangga mendorong penelitian tentang sifat insektisida komponen kimia dari tumbuh-tumbuhan. Melihat kenyataan di atas, dunia pengobatan mulai mengalihkan perhatian pada obat-obat alam karena selain murah, efek samping yang akan timbul relatif kecil. Salah satu bahan alam yang banyak dimanfaatkan oleh masyarakat adalah sere (*Cymbopogon citratus* (D.C) Stapf.). Zat *sitronelol* yang terkandung dalam minyak atsiri sere mempunyai sifat racun kontak pada insekta sehingga dapat menyebabkan kematian nyamuk (Kardinan, 2004).

Aedes aegypti dikenal sejak lama oleh orang sebagai penyebar virus dengue penyebab penyakit demam berdarah (DBD). Nyamuk ini ditemukan pertama kali di Mesir (Egypt) pada tahun 1762 oleh Linnaeus, di Indonesia nyamuk ini mula-mula ditemukan pada tahun 1860 oleh Walter di Ujung Pandang, kemudian menyebar ke Jawa, Bali, Sumatra, Kalimantan, Maluku, Nusa Tenggara dan Irian Jaya (Wulandari, 2001).

Berdasarkan penelitian Runa (2001) *cit* Setyorini (2006) aktivasi repelan minyak atsiri daun sereh wangi (*Cymbopogon nardus* L.) yang memberikan aktifitas repelan paling baik yaitu pada konsentrasi 10% v/v dengan waktu penolakan selama 378,71menit terhadap nyamuk *Aedes aegypti*. Pada hasil penelitian Kumalasari (2008) diketahui formulasi optimum terhadap

kombinasi minyak atsiri rimpang temulawak dan daun sere dengan konsentrasi total 15% dalam basis *cold cream* (*Unguentum Liniens*) dengan metode *Simplex Lattice Design* menunjukkan bahwa 100% minyak atsiri daun sere memiliki uji sifat fisik dan daya tolak terhadap nyamuk *Aedes aegypti* optimum dengan waktu penolakan terhadap nyamuk selama 42 menit.

Stabilitas minyak atsiri dalam sediaan krim perlu ditingkatkan sehingga mampu meningkatkan daya tolak terhadap nyamuk, oleh karena itu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan penambahan emulgator. Emulgator yang akan digunakan adalah Natrium Lauril Sulfat yang merupakan emulgator anionik. Natrium lauril sulfat digunakan sebagai emulgator anionik yaitu pada konsentrasi 0,5-2,5 % dan merupakan surfaktan anionik yang digunakan dalam cakupan yang luas pada kosmetik (Owen, 2006) sehingga diharapkan tidak menimbulkan reaksi alergi saat digunakan dikulit. Titik CMC natrium lauril sulfat yaitu 0,045 % b/v (Anonim, 1996).

Cream dalam basis *cold cream* cukup banyak mengandung air, hingga menimbulkan efek sejuk. Efek sejuk diperoleh dari proses penguapan air, untuk terjadi penguapan diperlukan panas yang diambil dari panas tubuh hingga timbulkan efek sejuk pada kulit. Kekurangannya lebih sukar dicuci dengan air dibandingkan dengan *lotion*.

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan utama yaitu minyak atsiri daun sere (*Cymbopogon citratus* (D.C) Stapf.) dari hasil destilasi daun sere yang diperoleh dari daerah Kasihan, Bantul di laboratorium Fitokimia UAD. Bahan kimia yang digunakan meliputi aquadest, larutan gula 10% (farmasetis), etanol 96% (farmasetis), natrium lauril sulfat (Farmasetis). Bahan *Unguentum liniens* yaitu *cetaceum* (farmasetis), *cera alba* (farmasetis), *paraffinum liquidum* (farmasetis), *natrii tetraboras* (farmasetis), dan *aqua*

destillata. Hewan uji berupa nyamuk *Aedes aegypti* betina. Bahan uji menggunakan lotion yang mengandung DEET (N,N-diethylmeta-toluamide) 12,5% sebagai kontrol positif. Krim minyak atsiri daun sere (*Cymbopogon citratus* (D.C) Stapf.) dengan penambahan natrium lauril sulfat sebagai emulgator serta krim tanpa minyak atsiri dan natrium lauril sulfat sebagai kontrol negatif.

Alat

Seperangkat alat destilasi uap dan air, alat-alat gelas, pipet volum, propipet, aluminium foil, serta kain hitam untuk membatasi luas area tangan yang diolesi minyak atsiri, refraktometer ABBE untuk menentukan indeks bias, cawan porselin, mortir, stamper, penangas air, sangkar nyamuk 20x20x20 cm yang terbuat dari rangka besi berkelambu, perlengkapan pemeliharaannya. Alat untuk menangkap nyamuk : Aspirator

Prosedur Penelitian

Pembuatan *Cold Cream* pada penelitian ini penambahan konsentrasi natrium lauril sulfat pada basis *cold cream* repelan minyak atsiri daun sere (*Cymbopogon citratus* (D.C) Stapf.) dibuat dalam 4 jenis formula. Formula pembuatan cold cream dapat dilihat pada tabel I.

Adapun pembuatan *cold cream* yaitu cetaceum dan cera alba diiris menjadi bagian kecil-kecil, lelehkan keduanya di waterbath dengan paraffin liquidum dan dilanjutkan penghangatan sampai suhu dari campuran mencapai 70°C. Kemudian larutkan Na tetraboras, natrium lauril sulfat pada aquadest kemudian tambahkan ke dalam campuran di atas, aduk dengan cepat, sampai campuran homogen dan terbentuk krim. Penambahan Natrium Lauril Sulfat sebagai emulgator sebanyak 2-5% b/b. Setelah dingin, tambahkan minyak atsiri ke dalam basis dan aduk merata.

Uji repelan menggunakan metode yang digunakan oleh MD Fradin M. S dan Day J.F. dalam penelitiannya yang berjudul *Comparative Efficacy of Insect Repellent against Mosquito Bites* (2002). Sedangkan mekanisme uji repelan dapat dijelaskan sebagai berikut :

Uji pertama

Subjek (probandus) melakukan uji pertama dari tiap sampel repelan dengan memasukkan tangan ke dalam sangkar pengujian untuk satu menit, apabila tidak digigit, dilakukan lagi satu menit penuh tiap lima menit selama 20 menit, jika tidak digigit kemudian lengan tangan dimasukkan kembali untuk satu menit penuh tiap 15 menit sampai gigitan pertama terjadi.

Tabel I. Formulasi *cold cream* minyak atsiri daun sere dengan penambahan emulgator natrium lauril sulfat

Bahan	Formula I	Formula II	Formula III	Formula IV
<i>Cetaceum</i>	0,625 g	0,625 g	0,625 g	0,625 g
Minyak atsiri daun sere	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml
<i>Cera alba</i>	0,6 g	0,6 g	0,6 g	0,6 g
<i>Paraffin liq</i>	2,29 g	2,24 g	2,19 g	2,14 g
<i>Natrii tetraboras</i>	0,025 g	0,025 g	0,025 g	0,025 g
<i>Natrium Lauril Sulfat</i>	0,10 g	0,15 g	0,20 g	0,25 g
<i>Aqua destillata</i>	0,95 ml	0,95 ml	0,95 ml	0,95 ml

Keterangan :
 Formula I : penambahan natrium lauril sulfat 2%
 Formula II : penambahan natrium lauril sulfat 3%
 Formula III : penambahan natrium lauril sulfat 4%
 Formula IV : penambahan natrium lauril sulfat 5%

Uji kedua

Jika sampel repelan yang diuji pertama bekerja kurang dari 20 menit maka subjek memasukkan pergelangan tangannya dalam sangkar selama satu menit tiap lima menit, jika repelan uji pertama bekerja selama 20 menit sampai empat jam maka lengan tangan subjek masuk dalam sangkar selama satu menit tiap 15 menit. Jika uji pertama repelan bekerja selama lebih dari 4 jam, maka pergelangan tangan subjek masuk dalam sangkar selama satu menit tiap jam selama 4 jam, kemudian selama 1 menit setiap 15 menit, sampai terjadi gigitan pertama.

Data yang diambil adalah waktu penolakan sampai gigitan nyamuk pertama terjadi. Sangkar dengan menggunakan ukuran 20 x 20 x 20 cm yang terbuat dari kelambu dengan lubang sirkuler berdiameter 15 cm, ke dalamnya dimasukkan 15 ekor nyamuk *Aedes aegypti* betina yang belum pernah digigitkan, dipuasakan sehari sebelum percobaan dilakukan.

Percobaan dibagi dalam 3 kelompok perlakuan, yaitu kelompok kontrol negatif yaitu menggunakan basis *cold cream* tanpa penambahan minyak atsiri dan natrium lauril sulfat, kelompok uji yang terbagi atas 4 kelompok uji, yaitu krim dengan variasi penambahan konsentrasi emulgator 2-5 %, sedangkan kelompok kontrol positif yaitu lotion yang mengandung DEET 12,5%.

Pada masing-masing tangan yang diolesi dipastikan bebas dari pengaruh bahan kimia lainnya dengan cara mencuci tangan dengan sabun atau surfaktan selanjutnya dibilas dengan etanol 96%, banyaknya sediaan yang dioleskan di tangan adalah 1,5 gram krim mulai dari ujung jari tengah ke atas 20 cm, area diatas 20 cm ditutup dengan kain yang telah disediakan agar nyamuk tidak menggigit pada daerah yang tidak diinginkan. Setiap kelompok perlakuan dilakukan replikasi sebanyak 3 kali. Pengujian dilakukan pada pukul 08.00-11.00 karena mengikuti perilaku nyamuk *Aedes aegypti* yang menggigitnya dalam periode waktu yang menjelang tengah hari berkisar antara pukul 08.00-12.00 (Sugito, 1989).

Uji sifat fisik krim yang dilakukan adalah sebagai berikut :

Daya lekat

Krim diletakkan diatas objek gelas yang telah ditentukan luasnya kemudian objek gelas lain diletakkan diatasnya. Setelah itu objek gelas ditekan dengan beban 1 kg selama 5 menit. Objek gelas dipasang pada alat tes dan dilepaskan beban seberat 80 g. Dicatat waktu yang diperlukan hingga kedua objek gelas tersebut terlepas.

Daya sebar

Krim ditimbang 500 mg dan di letakkan ditengah kaca bulat berskala. Kemudian kaca bulat lain (tidak berskala) yang telah ditimbang diletakkan diatas krim dan dibiarkan selama 1 menit. Setelah itu diameter krim diukur dengan cara mengukur diameter salep yang menyebar dari empat sisi. Ditambah beban seberat 50 g sampai bobot mencapai 100 g diatas kaca dan didiamkan selama 1 menit. Catat diameter salep yang menyebar.

Daya iritasi kulit

Penelitian ini menggunakan marmut jantan berumur rata-rata 3-4 bulan dan berat badan rata-rata 200-300 gram sebagai hewan percobaan. Dalam penelitian ini uji iritasi menggunakan metode yang digunakan pada buku Remington's Pharmaceutical Science (1990), yaitu *pach test* atau uji sampel.

Rambut marmut dicukur pada bagian punggungnya sampai bersih. Punggung marmut dibagi menjadi 2 bagian yang berbentuk bujur sangkar. Pada masing-masing bagian diberi perlakuan sebagai berikut bagian kontrol negatif, terbagi atas 2 kelompok kontrol yaitu punggung marmut tanpa dioleskan krim dan punggung marmut dioleskan basis *cold cream* tanpa penambahan minyak atsiri dan natrium lauril sulfat, bagian uji terbagi atas 4 kelompok uji yaitu krim dengan variasi penambahan emulgator natrium lauril sulfat 2-5 %.

Evaluasi dilakukan selama 24 jam untuk melihat perubahan-perubahan yang terjadi

seperti eritema yaitu kulit menjadi kemerahan dan timbul bercak bercak. Penelitian ini tidak terjadi edema maka penilaiannya menjadi 0 = tidak ada eritema, 1 = eritema ringan, 2 = eritema sedang, 3 = eritema berat.

Analisis Hasil

Data yang diperoleh dianalisa dengan SPSS menggunakan uji homogenitas dengan uji *Levene*. Kemudian diuji normalitasnya dengan uji *Kolmogorof Smirnov*. Dan dilanjutkan uji statistik menggunakan *Kruskal-Wallis* dan *Mann Whitney* dengan taraf kepercayaan 95% untuk melihat perbedaan dari masing-masing kelompok perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada uji yang dilakukan diperoleh hasil bahwa aktivitas repelan pada konsentrasi emulgator 3 % memiliki aktivitas repelan yang optimum. Hasil uji aktivitas repelan dapat terlihat pada tabel II. Pada penambahan emulgator 2, 4, 5 % terjadi penurunan aktivitas repelan jika dibandingkan dengan konsentrasi 3 %, Hal ini dapat terjadi dimungkinkan karena peningkatan konsentrasi emulgator telah

melebihi titik CMC yaitu 0,045 % b/v (Anonim, 1996) menyebabkan semakin banyak terbentuk micel sehingga minyak atsiri terjebak dalam micel tersebut. Akibatnya penguapan minyak atsiri berkurang dan mengakibatkan penurunan aktivitas repelannya.

Berdasarkan data pada tabel III diketahui bahwa kelompok uji yaitu krim minyak atsiri sere dengan variasi penambahan emulgator dalam berbagai konsentrasi jika dibandingkan dengan kontrol negatif maka hasilnya berbeda bermakna, dengan rata-rata waktu penolakan untuk krim minyak atsiri daun sere dengan variasi penambahan emulgator lebih besar daripada rata-rata waktu penolakan untuk kontrol negatif sehingga dapat disimpulkan bahwa krim minyak atsiri daun sere memiliki aktivitas repelan terhadap nyamuk *Aedes aegypti* betina.

Hasil pengujian repelan minyak atsiri daun sere pada basis cold cream dengan penambahan emulgator menunjukkan hasil yang lebih baik pada aktivitas repelan terhadap nyamuk *Aedes aegypti* selama 83,67 menit dibandingkan penelitian Kumalasari (2008) yaitu selama 42 menit.

Tabel II. Hasil uji aktivitas repelan minyak atsiri daun sere dalam basis cold cream dengan penambahan natrium lauril sulfat dan sifat fisiknya

Uji Formula	Aktivitas repelan x ± sd (menit)	Daya Lekat x ± sd (detik)	Daya Sebar x ± sd (cm ²)	Iritasi x ± sd
Formula I	66,67 ± 1,15	1,51 ± 0,05	10,91 ± 0,50	0
Formula II	83,67 ± 1,15	1,82 ± 0,02	9,19 ± 0,29	0
Formula III	67,00 ± 1,00	1,79 ± 0,06	11,04 ± 0,37	0
Formula IV	66,33 ± 0,58	1,45 ± 0,03	13,79 ± 0,05	0
Kontrol negatif	0,11 ± 0,18	3,15 ± 0,03	9,83 ± 0,19	0
Kontrol Positif	240 ± 0,00	6,55 ± 0,16	61,14 ± 0,91	0

Keterangan: Formula I : penambahan natrium lauril sulfat 2%
 Formula II : penambahan natrium lauril sulfat 3%
 Formula III : penambahan natrium lauril sulfat 4%
 Formula IV : penambahan natrium lauril sulfat 5%
 Kontrol negatif : basis cold cream
 Kontrol positif : Lotion DEET 12,5 %

Berdasarkan tabel II daya lekat tertinggi pada penambahan natrium lauril sulfat sebesar 3%. Hal tersebut dapat terlihat pada konsistensi yang lebih kental dibandingkan formula yang lain. Daya lekat paling rendah pada penambahan emulgator natrium lauril sulfat 5%. Penurunan daya lekat diikuti dengan konsistensi sediaan yang semakin lunak, hal ini dapat menurunkan kemampuan melekatnya krim.

Hasil uji statistik pada tabel IV menunjukkan bahwa terdapat data yang memiliki perbedaan yang bermakna, yaitu pada konsentrasi 3% dan 5%, juga pada konsentrasi 4% dan 5% dapat disimpulkan bahwa penambahan emulgator pada perbandingan konsentrasi tersebut mempengaruhi sifat fisik repelan minyak atsiri pada basis *cold cream* yaitu daya lekatnya. Semakin tinggi konsentrasi emulgator semakin kecil kemampuan melekatnya, hal ini dapat terjadi karena konsistensinya semakin lunak. Adanya perbedaan tidak bermakna pada hasil uji statistik dapat disimpulkan bahwa variasi penambahan natrium lauril sulfat pada konsentrasi tersebut tidak memberikan perbedaan sifat fisik yang berarti terutama pada daya lekatnya. Hal ini dimungkinkan berkaitan dengan konsistensi krim repelan yang perbedaannya tidak signifikan.

Hasil penelitian pada tabel II menunjukkan bahwa krim dengan penambahan emulgator sebesar 5% memiliki daya sebar yang paling luas karena konsistensinya lebih lunak dibandingkan formula yang lain. Sedangkan dengan penambahan emulgator pada konsentrasi 2 %, 3 %, dan 4 %, luas penyebaran krim menurun. Oleh karena itu, dalam penggunaan formula uji membutuhkan penekanan agar penyebaran krim lebih luas.

Berdasarkan hasil pada tabel V maka terlihat bahwa perbedaan yang bermakna antara kontrol negatif yaitu basis *cold cream* dengan krim uji repelan minyak atsiri sere dalam basis *cold cream* dengan penambahan natrium lauril sulfat sebagai emulgator. Hasil ini menunjukkan bahwa variasi penambahan emulgator natrium

lauril sulfat mempengaruhi kemampuan menyebarnya krim.

Hasil uji iritasi yang diperoleh menunjukkan bahwa repelan minyak atsiri sere basis *cold cream* dengan variasi konsentrasi emulgator natrium lauril sulfat tidak memberikan efek iritasi pada kulit marmut sehingga dapat disimpulkan bahwa krim aman untuk digunakan.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diperoleh kesimpulan :

1. Dengan peningkatan konsentrasi emulgator natrium lauril sulfat maka aktivitas repelan minyak atsiri daun sere (*Cymbopogon citratus* (D.C) Stapf.) dalam basis *cold cream* akan menurun.
2. Aktivitas repelan minyak atsiri daun sere (*Cymbopogon citratus* (D.C) Stapf.) dalam basis *cold cream* dengan penambahan emulgator natrium lauril sulfat sebesar 3% b/b memiliki kemampuan menolak nyamuk *Aedes aegypti* betina selama 83,67 menit, tetapi hasil yang diperoleh belum optimal jika dibandingkan dengan minyak atsiri murni tidak dalam bentuk sediaan yaitu selama 378,71 menit.
3. Dengan peningkatan konsentrasi emulgator maka krim memiliki daya lekat yang rendah dan daya sebar yang semakin luas dengan konsistensi yang semakin lunak. Pada semua formula krim tidak menunjukkan iritasi pada kulit marmut.

SARAN

Perlu dilakukan pengujian dengan meningkatkan konsentrasi minyak atsiri daun sere (*Cymbopogon citratus* (D.C) Stapf.) sehingga diharapkan dapat meningkatkan efek repelannya.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 1996. Available from www.disolution.com/vbulletin/archieve/index.php/t-165.html. diakses pada 31 Agustus 2009.
- Anonim, 2007, *Nyamuk Aedes aegypti*, <http://www.WikipediaIndonesia.com.htm>. diakses pada 25 juli 2008.
- Fradin M. S, MD , Day J.F., 2002. Comparative Efficacy of Insect Repellent against Mosquito Bites. *The New England Journal of Medicine*. Volume 347:13 – 48
- Gennaro, R.A., 1990, *Remington's Pharmaceutical Science*, 18st Ed, Mack Publishing Company, Easton Pennsylvania, , hal : 1308–1314, 1358.
- Kardinan, A. 2004. *Tanaman Pengusir dan Pembasmi Nyamuk*. Agromedia pustaka. Cet I : Jakarta.
- Kumalasari, Tin, H. Optimasi komposisi minyak atsiri temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) dan Sere (*Cymbopogon citratus* (D.C) Stapf.) pada Basis *Unguentum liniens* sebagai bahan aktif repelan terhadap nyamuk *Aedes aegypti* Betina dengan metode *simplex lattice design*. *Skripsi*. Fakultas FArmasi Universitas Ahmad Dahlan. Yogyakarta.
- Owen, Sheskey, R.. 2006. *Handbook of Pharmaceutical Excipient*, 5th Ed, 667-669, Phaemaceutical Press, London
- Setyorini, Indah. 2006. Efektivitas Minyak Atsiri Sere *Cymbopogon nardus* (L) terhadap Kematian Nyamuk *aedes aegypti*. *Tesis*. Program Pasca Sarjana. Universitas Gajah Mada. Yogyakarta.
- Sugito, R., 1989, Aspek Entimologi Demam Berdarah dalam Haryanto B., Sri R.H., Suharyono W., I Made Djaja, Berbagai Aspek DBD dan Penanggulannya, *Laporan Semiloka*, Depok.
- Wulandari, T.. 2001. Vektor Demam Berdarah dan Penaggulangannya. *Mutiara Merdeka*. Vol I : Jakarta.

