

## Uji Daya Tolak Lilin Aromaterapi Minyak Atsiri Serai (*Cymbopogon citratus*) terhadap Nyamuk *Aedes aegypti*

### *The Repellency Effect of Lemongrass (Cymbopogon citratus) Essential Oil Aromatherapy Candle against Aedes aegypti*

Anizah Paramitha Dewi<sup>1</sup>, Novyan Lusiyana<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Mahasiswa Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Indonesia

<sup>2</sup>Departemen Parasitologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Indonesia

Jalan Kaliurang Km. 14,5, Ngemplak, Kabupaten Sleman, Yogyakarta 55584, Indonesia

\*E\_mail: 107110411@uii.ac.id

*Received date: 09-01-2020, Revised date: 24-05-2020, Accepted date: 03-06-2020*

#### ABSTRAK

Lilin aromaterapi merupakan repelen yang aman, efektif dan hemat biaya. Lilin aromaterapi memiliki potensi sebagai penolak serangga khususnya nyamuk. Serai merupakan tanaman yang berpotensi sebagai repelen alami terhadap nyamuk *Aedes aegypti*. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek daya tolak lilin aromaterapi minyak atsiri serai terhadap nyamuk *Ae. aegypti*. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan *post-test only with control group design* yang dibagi menjadi enam kelompok (satu kelompok kontrol negatif dan lima kelompok perlakuan 9%, 10%, 11%, 12%, dan 13%) dengan empat kali pengulangan. Setiap kelompok terdiri dari 20 ekor nyamuk *Ae. aegypti* betina, sehingga total nyamuk uji berjumlah 480 ekor. Nyamuk uji dipaparkan dengan lilin aromaterapi selama satu jam dan daya tolak dinilai setiap interval 15 menit. Hasil pengujian daya tolak tertinggi terdapat pada konsentrasi minyak atsiri serai 13% dengan daya tolak sebesar 100%, sedangkan daya tolak terendah terdapat pada konsentrasi 9% yaitu sebesar 0%. Rerata daya tolak pada kelompok kontrol negatif dan kelompok minyak perlakuan pada menit ke-60 berturut-turut yaitu 7,5%; 0%; 33,33%; 66,67%; 66,67%; dan 100%. Kesimpulan penelitian yaitu lilin aromaterapi minyak atsiri serai memiliki daya tolak 100% terhadap *Ae. aegypti* pada konsentrasi 13%.

**Kata kunci:** minyak atsiri, serai, lilin aromaterapi

#### ABSTRACT

*Aromatherapy candle is a safe, effective, and cost-effective repellent. It has a potential repellent effect particularly on mosquitoes. Lemongrass is a potential plant as a natural repellent for Aedes aegypti. The purpose of this study was to determine the repellency effect of lemongrass essential oils against Ae. aegypti. This study was an experimental study with a post-test only with control group design, which was divided into six groups (one negative control and five treatment groups 9%, 10%, 11%, 12%, and 13%) with four repeats. Each group consisted of 20 Ae. aegypti female mosquitoes, so the total number of mosquitoes used was 480. Tested mosquitos were exposed to aromatherapy candles for one hour, and their repellency observed every 15-minute intervals. The average of repellency effect of the negative control and 5 treatment groups at minute 60 were 7.5%; 0%; 33.33%; 66.67%; 66.67%; and 100% respectively. We conclude that the aromatherapy candle of lemongrass essential oil was effective as a 100% repellency effect against Ae. aegypti at a concentration of 13%.*

**Keywords:** essential oil, lemongrass, aromatherapy candle

#### PENDAHULUAN

Demam Berdarah Dengue (DBD) merupakan penyakit infeksi yang disebabkan oleh virus dengue dan ditularkan melalui nyamuk *Aedes aegypti* dan *Ae. albopictus*. Penyakit tersebut bersifat endemik, dapat

ditemukan sepanjang tahun dan hingga kini masih menjadi masalah kesehatan utama di Indonesia. Insidensi DBD meningkat 30 kali selama lima dekade terakhir dan semakin meningkat seiring dengan meningkatnya mobilitas dan kepadatan penduduk.<sup>1</sup> Sebanyak

390 juta kasus baru terjadi setiap tahunnya dengan 29.000 kasus kematian akibat infeksi dengue di lebih dari 128 negara.<sup>2</sup>

Kondisi tersebut mendorong munculnya berbagai upaya penanganan dan pengendalian DBD menggunakan bahan kimia maupun alami. Saat ini, insektisida kimiawi merupakan pilihan utama untuk pengendalian vektor meskipun penggunaan jangka panjang dapat menimbulkan resistensi dan menyebabkan dampak negatif pada lingkungan.<sup>3</sup> Metode pengendalian alternatif yang juga banyak dikembangkan satu diantaranya adalah penggunaan insektisida berbahan alami seperti serai, cengkih, tembakau, zodia, lavender.<sup>4</sup>

Serai (*Cymbopogon citratus*) merupakan salah satu tanaman yang banyak ditemukan di Indonesia dan masif digunakan sebagai bahan makanan. Tanaman ini memiliki kandungan senyawa yang berpotensi sebagai repelen alami seperti geraniol, sitronelol, sitronelal, dan sitral.<sup>4</sup> Senyawa tersebut berikatan dan berinteraksi dengan reseptor penghidu serangga yang kemudian merubah aktivitas serangga.<sup>5</sup> Hal ini didukung dengan penelitian yang menunjukkan bahwa ekstrak daun serai dosis 100% mampu menolak 95,5% gigitan nyamuk *Ae. aegypti* selama 1 jam.<sup>4</sup> Losion minyak atsiri serai juga diketahui memiliki efek repelen terhadap nyamuk *Ae. aegypti* dan *Culex quinquefasciatus*.<sup>6</sup>

Penggunaan repelen bertujuan untuk mencegah transmisi patogen dari vektor kepada manusia. Bentuk aplikasi repelen yang banyak digunakan oleh masyarakat adalah *spray*, krim, dan *patch*.<sup>7</sup> Sediaan repelen dalam bentuk lilin aromaterapi belum banyak digunakan oleh masyarakat, walaupun sebenarnya sediaan ini memiliki potensi yang baik guna mencegah kontak antara manusia dengan nyamuk. Hal ini disebabkan oleh karena belum adanya produk komersial repelen anti-nyamuk yang beredar di masyarakat. Beberapa penelitian menunjukkan jika sediaan lilin aromaterapi dari bahan Citronela dari *Cymbopogon* spp. dapat

digunakan sebagai penolak nyamuk. Praktik penggunaan lilin oleh masyarakat lebih banyak digunakan sebagai pengusir lalat dan tungau.<sup>8</sup> Penelitian bertujuan untuk melihat daya tolak (repelen) pada sediaan lilin aromaterapi minyak atsiri serai terhadap nyamuk *Ae. aegypti*.

## METODE

### Desain dan Lokasi Penelitian

Peneliti telah mendapatkan persetujuan dari Komite Etik Penelitian Kedokteran dan Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia dengan nomor 20/Ka.Kom.Et/70/ KE/XI/2018.

Jenis penelitian ini merupakan *true experimental study* dengan rancangan *post-test only with control group design*. Minyak atsiri serai diperoleh dari Pusat Studi Minyak Atsiri (*Center Essential Oil Study*) (CEOS) Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia (FMIPA UII). Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia (FK UII).

### Populasi dan Sampel

Subjek penelitian ini adalah nyamuk *Ae. aegypti* betina dalam rentang usia 5-7 hari yang belum pernah minum darah hewan maupun manusia.<sup>9</sup> Kriteria inklusi penelitian ini adalah nyamuk *Ae. aegypti* betina yang dipuaskan 24 jam sebelum pengujian, aktif bergerak, anggota tubuh lengkap dan berwarna hitam cerah. Berdasarkan metode Putri *et al*<sup>10</sup> yang telah disesuaikan, didapatkan bahwa jumlah nyamuk uji pada setiap kelompok adalah 20 ekor nyamuk. Ruang uji yang digunakan yaitu menggunakan *glass chamber* yang telah dimodifikasi dari metode Putri *et al*<sup>10</sup> Penelitian ini terdiri dari enam kelompok dengan 4 pengulangan, sehingga total nyamuk yang diperlukan adalah 480 ekor.

### Bahan dan Alat Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah parafin, minyak atsiri

serai, benang katun, lidi, dan hati ayam. Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah ruang uji berukuran 30 cm<sup>3</sup>, kandang nyamuk berukuran 30 cm<sup>3</sup>, aspirator nyamuk, *stopwatch*, timbangan *digital*, mangkuk *stainless steel*, pencetak lilin, termometer dan *hygrometer* ruangan.

### **Koleksi dan Tahap Persiapan Penelitian**

Minyak atsiri serai diperoleh dengan menggunakan metode penyulingan. Setiap lima kg serai direndam dengan 10 liter air yang bersuhu 100°C untuk mendapatkan minyak atsiri serai sebanyak 4-5 ml. Penelitian ini menggunakan 63 kg daun dan batang serai sehingga didapatkan 67 ml minyak atsiri.

Lilin aromaterapi serai dibuat menggunakan metode sederhana.<sup>11,12</sup> Sebanyak 30 gram parafin padat dituangkan ke dalam mangkuk *stainless steel*, kemudian dipanaskan di atas air mendidih dan ditunggu hingga mencair. Minyak atsiri serai konsentrasi 9%, 10%, 11%, 12%, dan 13% yang didapatkan berdasarkan uji pendahuluan<sup>9</sup> kemudian dicampurkan ke dalam parafin cair, diaduk hingga merata. Campuran parafin dan minyak atsiri dimasukkan ke dalam cetakan yang sudah diberi sumbu benang katun, dibiarkan dalam suhu ruang hingga mengeras.

Telur nyamuk diletakkan pada cawan plastik berisi air bersih dan ditunggu hingga telur menetas menjadi larva dalam waktu dua hari. Larva kemudian diberi pakan hati ayam hingga menjadi pupa. Pupa nyamuk dipindahkan ke dalam kandang nyamuk berukuran 20 cm<sup>3</sup> hingga menjadi dewasa dan diberi larutan gula 10%.

### **Uji Daya Tolak**

Uji utama menggunakan metode *glass chamber* yang telah dimodifikasi dengan menggunakan kotak kaca berukuran 30 cm<sup>3</sup> sebagai ruang uji.<sup>9,11</sup> Nyamuk uji dibagi dalam 6 kelompok yaitu kelompok kontrol negatif berupa parafin murni dan 5 kelompok perlakuan dengan variasi konsentrasi minyak atsiri serai 9%, 10%, 11%, 12% dan 13%.

Lilin aromaterapi dimasukkan ke dalam ruang uji, diletakkan di tengah ruang uji selama 30 menit sebelum pengujian untuk mendapatkan konsentrasi maksimal di dalam ruang uji.<sup>13</sup> Ruang uji kemudian dipantau suhu dan kelembabannya. Ruang uji dengan kondisi suhu optimal 27±2°C dan kelembaban 80±10%, maka pengujian dapat dilakukan.<sup>9</sup> Selama pengujian ruang uji selalu dipantau baik suhu dan kelembabannya.

Nyamuk yang digunakan untuk setiap kelompok uji adalah 20 ekor. Penelitian ini terdiri dari enam kelompok uji dengan masing-masing 4 kali pengulangan, sehingga total didapatkan 480 ekor nyamuk. Dua puluh ekor nyamuk *Ae. aegypti* betina yang dipilih secara *purposive sampling* dan telah dipuasakan selama 24 jam kemudian dimasukkan ke dalam ruang uji. Mencit umpan yang telah dicukur bulu punggungnya dimasukkan ke dalam ruang uji berbarengan dengan dimulainya waktu pengujian. Setiap replikasi pada 5 kelompok uji dan kelompok kontrol negatif dilakukan secara bersamaan.

Daya tolak dihitung berdasarkan jumlah nyamuk *Ae. aegypti* betina yang hinggap ditubuh mencit setiap interval 15 menit, kemudian pada menit ke-30 lilin dimatikan, dan pengamatan dilanjutkan hingga menit ke-60. Setiap nyamuk yang hinggap pada tubuh mencit dilakukan pengusikan supaya nyamuk tidak sempat menghisap darah mencit.<sup>11</sup> Pengusikan dilakukan dengan cara memberikan rangsangan getaran pada dinding ruang uji. Uji daya tolak lilin aromaterapi ini dilaksanakan selama 1jam dan pelaksanaan dimulai dari pukul 09.00 hingga 10.00 WIB. Ruang uji dilakukan pembersihan dengan cara diseka menggunakan kain bersih untuk menghilangkan bau dan sisa pengujian sebelumnya pada ruang uji.

### **Analisis Data**

Suhu ruangan dan kelembaban ruangan dicatat sebelum dan setelah pengujian. Daya tolak dihitung berdasarkan jumlah nyamuk yang kontak dengan mencit setiap interval 15 menit. Daya tolak minyak atsiri

serai terhadap gigitan nyamuk dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:<sup>4</sup>

$$DT = (K-P)/K \times 100\%$$

Keterangan:

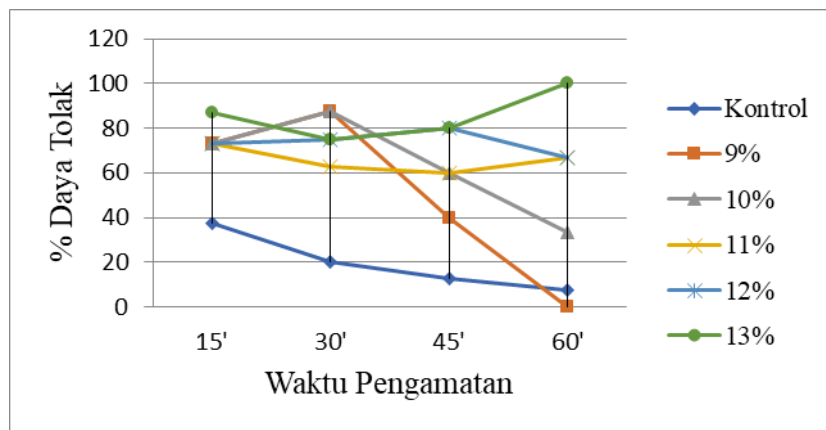
- DT : daya tolak minyak atsiri serai  
 K : jumlah nyamuk yang hinggap pada kelompok kontrol  
 P : jumlah nyamuk yang hinggap pada kelompok perlakuan

## HASIL

Penelitian ini dilakukan pada hasil pengukuran rerata suhu ruang uji selama pengujian yaitu  $26 \pm 5^\circ\text{C}$  dengan kelembaban ruangan yaitu  $74 \pm 3\%$ . Daya tolak lilin aromaterapi serai sebagaimana disajikan dalam Tabel 1 menunjukkan bahwa minyak atsiri serai dalam sediaan lilin aromaterapi memiliki aktifitas daya tolak terhadap nyamuk *Ae. aegypti*.

Tabel 1. Daya Proteksi Lilin Aromaterapi Serai terhadap *Ae. aegypti* Selama 1 Jam

Menit ke-	Kelompok uji (%)					
	9	10	11	12	13	Kontrol
15	73,33	73,33	73,33	73,33	86,67	37,5
30	87,5	87,5	62,5	75	75	20
45	40	60	60	80	80	12,5
60	0	33,33	66,67	66,67	100	7,5



Gambar 1. Persentase Daya Tolak Lilin Aromaterapi Serai

Tabel 1 menunjukkan bahwa rerata daya tolak tertinggi hingga menit ke-60 terdapat pada konsentrasi 13% dengan daya tolak sebesar 100%, sedangkan rerata daya tolak terendah yaitu pada konsentrasi 9% dengan daya tolak sebesar 0%. Hasil ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi maka semakin tinggi juga daya tolaknya.

Dari 5 variasi konsentrasi uji menunjukkan adanya variasi daya tolak terhadap nyamuk *Ae. aegypti*.

Daya tolak tertinggi pada awal hingga akhir paparan yaitu pada konsentrasi 13%. Daya tolak kelompok konsentrasi 13% sejak awal selalu di atas 80% dan pada 1 jam terakhir daya tolaknya 100% (Gambar 1). Konsentrasi uji yang memiliki kecenderungan rendah daya tolaknya adalah pada konsentrasi 9%, dimana pada awal paparan daya tolaknya relatif sama dengan konsentrasi lainnya, akan tetapi pada menit ke-30 daya tolaknya menurun hingga pada menit ke-60 sudah tidak mampu menghalau nyamuk *Ae. aegypti*.

Pada konsentrasi uji lainnya yaitu konsentrasi 10%, 11% dan 12% memiliki daya tolak yang relatif sama yaitu pada kisaran 30-70% (Gambar 1). Hasil daya tolak pada kelompok uji juga lebih baik dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif, kecuali pada konsentrasi 9%.

## PEMBAHASAN

Penelitian ini menunjukkan bahwa minyak atsiri serai dalam sediaan lilin aromaterapi memiliki kemampuan menolak nyamuk *Ae. aegypti*. Hasil ini didukung oleh penelitian lainnya yang membuktikan bahwa minyak atsiri *Cymbopogon citratus* dalam sediaan krim juga memiliki daya tolak terhadap nyamuk *Ae. aegypti*.<sup>14</sup>

Daya tolak tertinggi pada penelitian ini terdapat pada kelompok uji dengan konsentrasi 13%. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa hasil penelitian mendekati hasil penelitian lainnya yang menunjukkan bahwa daya tolak sediaan krim minyak atsiri serai yang dicampur dengan etanol memiliki daya tolak sebesar 100% pada konsentrasi 10%.<sup>15</sup> Berdasarkan hasil tersebut diketahui bahwa daya tolak sediaan krim lebih baik dibandingkan sediaan lilin aromaterapi. Kondisi ini dapat disebabkan oleh perbedaan bentuk sediaan yang digunakan pada kedua penelitian yaitu krim dan lilin aromaterapi. Pada proses pembuatan lilin aromaterapi terdapat tahapan dimana minyak atsiri dicampurkan dalam lilin cair panas. Tahap tersebut dapat mengurangi kadar minyak atsiri sehingga dapat mengurangi konsentrasi minyak atsiri dalam sediaan lilin.<sup>16</sup>

Hasil penelitian ini lebih lebih baik dibandingkan dengan penelitian yang menggunakan *insence combustible* (dupa) minyak atsiri serai, dimana daya tolak terhadap nyamuk *Ae. aegypti* didapatkan sebesar 100% pada konsentrasi 40%.<sup>17</sup> Kadar minyak atsiri yang rendah menyebabkan kurang maksimalnya daya tolak pada sediaan dupa. Hal ini diakibatkan oleh proses pengeringan dan pembuatan serbuk dupa, sehingga

dibutuhkan konsentrasi yang lebih tinggi untuk menghasilkan daya tolak yang lebih besar.<sup>17</sup>

Efektivitas daya tolak minyak atsiri dapat ditingkatkan melalui variasi konsentrasi minyak atsiri serai yang ditambahkan, namun semakin tinggi kadar minyak atsiri yang ditambahkan ke dalam lilin, maka konsistensi lilin menjadi lebih encer dan lilin makin cepat habis.<sup>12</sup> Cara lain untuk meningkatkan efektivitas daya tolak adalah dengan menggabungkan bahan repelen dengan material lain seperti vanilin, asam salisilat, mustard, minyak kelapa.<sup>15</sup> Penambahan minyak kelapa tidak dianjurkan karena asam lemak dalam minyak kelapa juga memiliki aktivitas repelen terhadap nyamuk.<sup>18</sup>

Efektivitas daya tolak minyak atsiri juga dipengaruhi oleh suhu dan kelembaban.<sup>19</sup> Jumlah nyamuk *Aedes* sp. yang hinggap akan meningkat pada suhu yang tinggi dengan kelembaban lingkungan yang rendah.<sup>20</sup> Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa suhu dan kelembaban ruang uji saat pengujian berada dalam kisaran rentang optimal (26,9°C dan 74,3%). Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya dimana uji daya tolak beberapa minyak atsiri terhadap *Ae. albopictus* yang dilakukan di laboratorium memiliki kelembaban ruang uji berkisar 70±5% dan suhu 27±2°C.<sup>21</sup>

Daya tolak minyak atsiri serai pada nyamuk uji dipengaruhi oleh komponen yang terkandung seperti geraniol, linalool dan sitronela.<sup>15</sup> Senyawa-senyawa tersebut merupakan komponen yang penting dalam memberikan efek daya tolak terhadap serangga.<sup>22</sup> Lilin aromaterapi minyak atsiri akan mengeluarkan komponen bahan aktif bersamaan dengan uap air yang terbebas ke udara akibat pemanasan. Uap yang mengandung geraniol, sitronelol, dan linalool ini akan bercampur dengan gas lainnya sehingga akan terdeteksi oleh reseptor pencium (*olfactory receptor*) serangga. Bau tersebut akan diubah menjadi impuls yang diteruskan oleh akson saraf indera ke pusat saraf (otak) dan akan memberikan respon

nyamuk untuk menghindar dari sumber bau tersebut.<sup>19</sup>

Penelitian ini masih memerlukan penelitian lebih lanjut untuk menilai potensi minyak atsiri serai dalam sediaan lilin aromaterapi sebagai salah satu alternatif repelen terhadap nyamuk *Ae. aegypti*. Lama waktu pengujian ini masih terbatas pada 1 jam, dimana potensi efek repelen yang baik harus memiliki daya tolak 80% hingga 6 jam.<sup>9</sup> Penelitian ini juga masih memiliki beberapa kelemahan seperti nyala api yang belum stabil. Kondisi ini menyebabkan pengeluaran minyak atsiri menjadi kurang optimal. Hal tersebut dapat diantisipasi dengan penambahan beberapa komponen lain dalam lilin aromaterapi, diantaranya adalah asam stearat dan *cera flava* supaya lilin menjadi lebih stabil.<sup>11</sup> Pembuatan sumbu lilin yang ditambahkan borak dan garam dapur menjadi salah satu hal yang perlu dipertimbangkan karena dengan metode tersebut, sumbu akan lebih stabil dan tidak mudah habis.<sup>11</sup>

## KESIMPULAN

Penelitian ini menunjukkan bahwa lilin aromaterapi minyak atsiri serai (*Cymbopogon citratus*) memiliki daya tolak terhadap nyamuk *Ae. aegypti*. Daya tolak tertinggi didapatkan pada konsentrasi 13% dengan daya tolak 100% pada menit ke-60.

## SARAN

Minyak atsiri serai memiliki potensi sebagai repelen, akan tetapi perlu diteliti lebih lanjut terkait kandungan senyawa aktif di dalam minyak atsiri serai. Penelitian lanjutan juga perlu dilakukan untuk melihat aktivitas repelen setiap senyawa aktif tersebut. Bentuk sediaan lainnya juga dapat dikembangkan seperti bentuk *spray* dan dikombinasikan dengan minyak atsiri dari herbal lainnya.

## KONTRIBUSI PENULIS

APD merupakan kontributor utama yang bertanggung jawab terhadap konsep, jalan penelitian, analisis hasil. NL merupakan kontributor pendamping yang bertanggung

jawab terhadap analisis data, penyajian data, penyusunan hasil dan pembahasan.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih ditujukan pada Departemen Parasitologi FK UII terkait pelaksanaan penelitian. Ucapan ini juga ditujukan kepada kepala dan staf Pusat Studi Minyak Atsiri FMIPA, khususnya Bapak Nora yang telah membantu peneliti dalam pelaksanaan penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Kementerian Kesehatan. Situasi penyakit demam berdarah di Indonesia tahun 2017. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI; 2016.
2. World Health Organization. Dengue Bulletin. 2016. Available from: <https://www.https://apps.who.int/iris/handle/10665/255696>.
3. Rather IA, Parray HA, Lone JB, Paek WK, Lim J, Park Y. Prevention and control strategies to counter dengue virus infection. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2017; 7:1–8.
4. Boesri H, Heriyanto B, Susanti L, Handayani SW. Uji repelen (daya tolak) beberapa ekstrak tumbuhan terhadap gigitan nyamuk *Aedes aegypti* vektor demam berdarah dengue. *Vektora.* 2015;7(2):79–85.
5. Rodriguez SD, Drake LL, Price DP, Hammond JI, Hansen IA. The efficacy of some commercially available insect repellents for *Aedes aegypti* (Diptera : Culicidae) and *Aedes albopictus* (Diptera : Culicidae). *J. Insect Sci.* 2018;15(140):6–10. doi:10.1093/jisesa/iev125.
6. Soonwera M, Phasomkusolsil S. Efficacy of Thai herbal essential oils as green repellent against mosquito vectors. *Acta Trop.* 2015;142:127–30. doi:10.1016/j.actatropica.2014.11.010.
7. Moore EL, Scott MA, Rodriguez SD, Mitra S, Vulcan J, Cordova JJ, et al. An online survey of personal mosquito-repellent strategies. *PeerJ.* 2018;6:e5151.
8. Diaz JH. Chemical and plant-based insect repellents: efficacy, safety, and toxicity. *Wilderness Environ. Med.* 2016;27(1):153–63. doi:10.1016/j.wem.2015.11.007.
9. WHO. Guidelines for efficacy testing of

- mosquito repellents for human. 2009. Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/70072>.
10. Putri LAC, Nugraha, Yusuf AL. Uji Efektivitas minyak nilam (*patchouli oil*) sebagai lilin penolak nyamuk (repelan) *Aedes aegypti* L. J. Kesehat. 2016;3(1):75–81.
  11. Yuliani S, Usmiati S, Nurdjannah N. Efektifitas lilin aromaterapi lalat (repelen) dengan bahan aktif limbah penyulingan minyak nilam. J. Pascapanen. 2005;2(1):1–10.
  12. Patmasari Y, Herawati L, Windarso SE. Pengaruh konsentrasi minyak serai wangi (*citronela oil*) dalam lilin padat terhadap penurunan kepadatan lalat rumah (*Musca domestica*) di warung makan sepanjang Pantai Depok. Jurnal Riset Daerah. 2014;8(2):2039–47.
  13. Muller G, Junnila A, Kravchenko V, Revay E. Ability of essential oil candles to repel biting insects in high and low biting pressure environments. J. Am. Mosq. Control Assoc. 2008;24(1):154–60. doi: 10.2987/8756-971X(2008)24.
  14. Ojewumi ME, Banjo MG, Oresegun MO, Ogunbiyi TA, Ayoola AA, Awolu OO, et al. Analytical investigation of the extract of lemon grass leaves in repelling mosquito. Int. J. Pharm. Sci. Res. 2017;8(5):2048–55. doi: 10.13040/IJPSR.0975-8232.8(5).2048-55.
  15. Kimutai A, Ngeiywa M, Mulaa M, Njagi PGN, Ingonga J, Nyamwamu LB, et al. Repellent effects of the essential oils of *Cymbopogon citratus* and *Tagetes minuta* on the sandfly, *Phlebotomus duboscqi*. BMC Res. Notes. 2017;10(98):1–9. doi:10.1186/s13104-017-2396-0.
  16. Suprobowati OD. Aromatherapy candle made of lime leaves (*Citrus hystrix*) for mosquito repellent (*Aedes aegypti*). Int. J. Sci. Res. 2018;7(6):474-6. doi:10.21275/ART20183058.
  17. Mulyani S, Mulyaningsih B, Lestari AW, Ana FM, Ana DSS. Lemongrass, cloves, orange leaves as incense combustible for *Aedes aegypti* repellent. Tradit. Med. J. 2013;18:195–200. <https://doi.org/10.22146/tradmedj.8225>.
  18. Zhu JJ, Cermak AC, Kenar JA, Brewer G, Haynes KF, Boxler D, et al. Better than DEET repellent compounds derived from coconut oil. Sci Rep. 2018;8:14053. doi:10.1038/s41598-018-32373-7.
  19. Aini R, Widiastuti R, Nadhifa NA. Uji Efektifitas formula spray dari minyak atsiri herba kemangi (*Ocimum Sanctum* L) sebagai repellent nyamuk *Aedes aegypti*. J. Ilm. Manuntung. 2016;2(2):189–97.
  20. Sintorini MM. The correlation between temperature and humidity with the population density of *Aedes aegypti* as dengue fever's vector. IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci. 2018;106:012033. doi:10.1088/1755-1315/106/1/012033.
  21. Tyagi V, Islam J, Aghnihotri A, Goswani D, Rabha B, Talukdar PK, et al. Repellent efficacy of some essential oils against *Aedes albopictus*. J. Parasit. Dis. Diagnosis Ther. 2016;1(1):1–5.
  22. Martin T, Barkman B, Chandre F, Deletre E, Menut C. Naturally occurring bioactive compounds from four repellent essential oils against *Bemisia tabaci* whiteflies. Pest Manag. Sci. 2015;72(1):79–189. doi: 10.1002/ps.3987.

