

Daun Binahong (*Andredera cordifolia* Steenis) Sebagai Alternatif Insektisida Terhadap Miasis yang Disebabkan Lalat *Chrysomya bezziana*

*(ANREDERA CORDIFOLIA STEENIS (BINAHONG) LEAF AS AN ALTERNATIVE
INSECTICIDE AGAINST CHRYSOMYA BEZZIANA CAUSED MYIASIS)*

**Ietje Wientarsih¹, Aulia Andi Mustika², April Hari Wardhana³,
Dodi Darmakusumah⁴, Lina Noviyanti Sutardi¹**

¹Laboratorium Farmasi, Departemen Klinik, Reproduksi dan Patologi,

²Bagian Farmakologi dan Toksikologi Departemen Anatomi, Fisiologi, dan Farmakologi
Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor,
Jalan Agatis, Kampus IPB Darmaga, Bogor, Jawa Barat, Indonesia, 16680
Fax: 0251-8629462 Telp:0251-8629462, Email: ietjewientarsih@gmail.com

³Bagian Parasitologi Balai Besar Penelitian Veteriner,
Jalan RE. Martadinata No. 30, Bogor 16114

⁴Laboratorium Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi,
Universitas Nusa Cendana, Jalan Adisucipto, Penfui-Kupang

ABSTRAK

Miasis merupakan infestasi larva lalat yang terdapat pada jaringan hidup. Penyakit ini umum menyerang hewan maupun manusia. Obat yang digunakan sebagai pengendalian kasus miasis di lapangan sampai saat ini sangat terbatas dan menggunakan insektisida sintetik. Penelitian ini bertujuan melihat aktivitas ekstrak etanol daun binahong terhadap larva lalat *Chrysomya bezziana* pada stadium L1, L2, dan L3. Penelitian dibagi menjadi lima kelompok perlakuan dengan lima ulangan. Kelompok perlakuan terdiri dari kontrol negatif (tanpa pemberian obat), kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak binahong dengan konsentrasi berturut-turut 0,5%, 1%, 2%, dan kelompok yang diberikan *coumaphos* (kontrol positif). Peubah yang diamati adalah jumlah larva yang hidup dan berkembang menjadi pupa, bobot pupa, dan daya tetas pupa menjadi imago. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun binahong pada konsentrasi 0,5% mempunyai efikasi sebagai larvasidal terhadap L1 dan L2 serta pada konsentrasi 2% merupakan konsentrasi terbaik sebagai larvasidal L3 larva *C. bezziana*. Ekstrak etanol daun binahong memiliki kemampuan menghambat larva lalat *C. bezziana* akibat dari efek cerna dan efek kontak bahan aktif yang terkandung di dalam daun binahong.

Kata-kata kunci: Insektisida nabati; daun binahong; miasis; *Chrysomya bezziana*

ABSTRACT

Larvae *Chrysomya bezziana* caused myiasis in most livestock in Indonesia. Drugs of choice for treating myiasis are synthetic insecticides. Unfortunately the insecticides have negative effect on animal product, killed insect non target and insect resistance. The research was conducted on the activity of ethanol extract of binahong leaves against various stages of *C. bezziana* larvae (L1, L2, dan L3). Five treatments group tested were: group without any treatment (negative control), groups treated with ethanol extracts of binahong leaves 0.5%, 1% and 2%, respectively, Positive control were given coumaphos. The treatments were applied with five replications. Number of living larvae and pupae, pupae weight and number of imago were observed. The results demonstrated that 0.5% of the extract effective concentration which was able to kill the larvae (L1 and L2). Finally 2% of the extract was the most effective concentration which was able to kill larvae (L3) and decrease the pupae weight. Ethanol extract of binahong leaves was significantly able to reduce the growth of *C. bezziana* larvae due to contact and digestive effect of the active compounds contained in *Andredera cordifolia* leaf.

Key words: bioinsecticide; binahong leaves; myiasis; *Chrysomya bezziana*

PENDAHULUAN

Miasis merupakan penyakit parasitik yang disebabkan oleh larva lalat (belatung) yang menyerang semua jenis hewan vertebrata yang berdarah panas termasuk manusia. Larva lalat penyebab penyakit ini memakan jaringan yang hidup, mati, atau nekrosis (Rohela *et al.*, 2006). Agen primer penyebab miasis terbagi menjadi tiga, yaitu lalat *Cochliomya hominivorax* (*The New World Screwworm Fly*) yang tersebar di benua Amerika, lalat *Wohlfahrtia magnifica* yang tersebar di Eropa hingga Tiongkok, serta lalat *Chrysomya bezziana* yang tersebar di kawasan Afrika bagian tropis dan sub tropis, subkontinen India, Asia Tenggara termasuk Indonesia dan Papua New Guinea (Hall, 2004; Gealh *et al.*, 2009; Hall dan Farkas, 2000)

Penyakit miasis dilaporkan menimbulkan kerugian ekonomi yang sangat besar, terutama di daerah-daerah sentral ternak. Badan Kesehatan Hewan Dunia (OIE) mencantumkan penyakit ini dalam daftar B, yaitu penyakit menular yang mempunyai dampak sosial ekonomi atau mempunyai nilai kepentingan kesehatan di dalam suatu negara, serta berdampak nyata dalam perdagangan internasional terkait dengan produk-produk asal hewan (Wardhana *et al.*, 2011).

Pengendalian dan pengobatan miasis selama ini menggunakan antibiotik dan insektisida sintetik melalui pengobatan topikal (efek cerna) dan perendaman (*dipping*-efek kontak) (Wardhana, 2006). Penggunaan insektisida sintetik terbukti menimbulkan dampak negatif seperti berkembangnya ras resisten, keracunan pada manusia dan ternak peliharaan, kanker, residu pada daging dan susu (De Roos *et al.*, 2003). Pentingnya bahaya yang ditimbulkan akibat penggunaan insektisida sintetik, maka peternak perlu berinovasi untuk mencari obat alternatif dengan memanfaatkan tanaman sebagai obat. Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa keluarga tanaman yang bersifat sebagai insektisida nabati adalah *Meliaceae*, *Annonaceae*, *Asteraceae*, *Piperaceae*, *Rutaceae*, dan *Basellaceae* (Kumarasinghe *et al.*, 2002). Potensi tanaman *Basellaceae* yang dapat digunakan untuk pengobatan miasis adalah binahong hijau (*Androdera cordifolia steenis*). Beberapa penelitian menyebutkan bahwa daun binahong mampu membantu mempercepat penyembuhan luka (Miladiyah dan Prabowo, 2012), aktivitas antibakteri (Astuti, 2011),

memiliki aktivitas antioksidan, membantu penyembuhan luka (Djamil *et al.*, 2012; Manoi, 2009).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi ekstrak daun binahong sebagai bioinsektisida terhadap larva 1, larva 2, dan larva 3 lalat miasis (*C. bezziana*) secara *in vitro*.

METODE PENELITIAN

Persiapan dan Ekstraksi Sampel

Bahan baku diperoleh dari Unit Kebun Percobaan, Pusat Studi Biofarmaka LPPM IPB. Serbuk kering simplisia daun binahong diekstraksi menggunakan metode maserasi. Maserasi dilaksanakan selama 3x24 jam dengan pelarut etanol 96%. Perbandingan simplisia dan pelarut adalah 1:10. Ekstrak kental diperoleh dari evaporasi filtrat hasil maserasi menggunakan alat *rotary evaporator* pada suhu 40°C dan 50 rpm, kemudian diubah menjadi ekstrak kering menggunakan *freeze dryer*.

Profil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Screening Fitokimia

Pemisahan bioaktif dilakukan dengan cara meneteskan larutan ekstrak pada plat KLT kemudian dibiarkan mengering. Setelah kering plat KLT dimasukkan ke dalam bejana yang berisi larutan pengembang dan dibiarkan pada suhu kamar. Setelah terjadi pengembangan sempurna plat KLT dibiarkan mengering, zona yang terbentuk dihitung nilai *Retardation factor* (Rf), kemudian disesuaikan dengan pustaka mengenai senyawa aktif berdasarkan nilai Rf tersebut. Metode *screening* fitokimia berdasarkan metode Harborne (1998).

Media Tumbuh Larva

Dua jenis media digunakan pada penelitian ini, baik untuk pertumbuhan larva di laboratorium maupun untuk uji biologi. Kedua media tersebut harus disediakan dalam bentuk segar.

Media Meat-Blood Mixture (MBM). Media MBM digunakan untuk pemeliharaan L1 yang baru menetas dari telur. Sebanyak 15 gram daging sapi segar digiling dan dicampurkan dengan 30 mL darah sapi segar hingga homogen (Sukarsih *et al.*, 2000). Media MBM ini juga digunakan untuk uji efektivitas ekstrak etanol daun binahong pada L1.

Larval Rearing Media (LRM). Media LRM dibuat berdasarkan formula Sukarsih *et*

al. (2000) dengan melakukan modifikasi, yaitu mengganti tepung darah dengan darah segar yang dikoleksi dari Rumah Potong Hewan (RPH) dan mengganti *water lock gel* dengan serbuk kertas CF100. Sebanyak 450 gram darah sapi segar beku (marus) digiling menggunakan *blender* hingga homogen. Selanjutnya, sebanyak 45 gram susu skim, 45 gram tepung telur *ex Belovo* (PT. Benhmeyer, Jakarta), 50 gram CF 100 (serbuk kertas), 1,0 mL formalin 10%, dan 980 mL akuades ditambahkan ke dalam *blender* tersebut dan dicampur hingga homogen. Media LRM juga digunakan untuk uji efektivitas ekstrak metanol daun binahong pada L1 dan L2.

Perlakuan

Uji efektivitas ekstrak daun binahong terhadap larva *C. bezziana* dilakukan pada instar I (L1), II (L2), dan III (L3). Pengujian terhadap L1 dan L2 ditujukan untuk mempelajari efek larvasida yang bersifat racun cerna, sedangkan pengujian terhadap L3 ditujukan untuk mempelajari efek larvasida yang bersifat racun kontak. Penelitian dibagi menjadi lima kelompok perlakuan, dan setiap kelompok terdiri dari lima ulangan.

Kelompok perlakuan terdiri dari kontrol negatif (tanpa pemberian obat), kelompok yang diberikan ekstrak binahong dengan konsentrasi berturut-turut 0,5%, 1%, 2%, dan kelompok yang diberikan *coumaphos* (kontrol obat).

Uji Ekstrak Daun Binahong pada L1

Media MBM yang telah dicampur ekstrak daun binahong dengan konsentrasi bertingkat dimulai dari 0,5–2,0 mg/mL diletakan di dalam wadah/kontainer plastik berukuran 18,5x13,5x4,5 cm. Sebanyak 20 L1 per ulangan diletakan di atas media dan dipelihara pada ruangan dengan suhu 30-32°C. Larva yang masih hidup sampai hari ke-2 dipindahkan ke kontainer plastik yang baru dan dipelihara pada media LRM sampai menjadi pupa dan menetas menjadi imago (Wardhana *et al.*, 2011).

Uji Ekstrak Daun Binahong pada L2

Media yang digunakan untuk uji ini adalah LRM yang telah dicampur dengan ekstrak methanol binahong dan sirih merah dengan konsentrasi bertingkat dimulai dari 0.5 mg/mL. Sebanyak 215 g LRM dimasukan ke dalam masing-masing kontainer plastik yang berukuran 18,5x13,5x 4,5 cm. Sejumlah 20 L2

per ulangan diinfestasikan pada media tersebut dan diamati perkembangannya hingga menjadi pupa dan imago (Wardhana *et al.*, 2011).

Uji Ekstrak Metanol Daun Binahong pada L3

Uji ini dilakukan di dalam pot obat yang berisi ekstrak daun binahong dengan konsentrasi bertingkat dimulai dari 0.5 mg/mL. Sebanyak 20 larva per ulangan direndam dalam masing-masing larutan perlakuan (10 mL) selama 10 detik, kemudian ditiriskan menggunakan saringan alumunium. Selanjutnya L3 diletakan di atas kertas saring dan dipindahkan ke dalam kontainer plastik yang berisi *vermicullite*. Larva-larva tersebut diinkubasi pada suhu 30-32°C sampai menjadi pupa dan menetas menjadi imago (Spradbery, 2002).

Analisis Data

Peubah yang diamati adalah jumlah larva yang hidup dan berkembang menjadi pupa, bobot pupa, dan daya tetas pupa menjadi imago. Data hasil penelitian dianalisis menggunakan *general model linier* (GLM) dengan program minitab 2016.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Daun binahong yang digunakan dalam penelitian ini dikoleksi dari Pusat Studi Biofarmaka LPPM IPB. Daun yang digunakan sebanyak 1000 gram simplisia untuk diekstrak dengan pelarut etanol menggunakan metode maserasi. Ekstrak etanol daun binahong yang diperoleh 164,24 gram, sehingga persentase randemennya adalah 16,42%. Ekstrak tersebut selanjutnya diuji dengan menggunakan KLT dan uji *screening* fitokimia.

Kromatografi lapis tipis ekstrak etanol daun binahong menggunakan fase diam *silica gel GF₂₅₄* dan fase gerak metanol : khloroform (1 : 39). Profil KLT menunjukkan terdapat dua spot berdasarkan hasil identifikasi dengan sinar UV 254 nm dan sinar UV 366 nm. Senyawa yang terdapat pada daun binahong yang berperan sebagai larvasidal miasis diduga dari spot-spot yang terbentuk tersebut. Senyawa tersebut berdasarkan nilai Rf dan warna spot yang terbentuk termasuk kedalam golongan flavonoid. Senyawa tersebut larut pada pelarut semipolar. Hal tersebut sesuai dengan prinsip *like dissolves like* yang berarti suatu zat akan larut pada

Tabel 1. Rataan mortalitas L1 *Chrysomya bezziana* pascapemberian ekstrak etanol daun binahong dalam berbagai konsentrasi serta jumlah dan bobot pupa yang terbentuk.

Perlakuan	L1 yang diuji (n)	Mortalitas larva	Pupa	
			Jumlah (n)	Bobot (mg)
Kontrol	20,00	0,00 ± 0,00 ^c	20,00 ± 0,00 ^a	39,12 ± 1,14 ^a
0,50%	20,00	16,40 ± 2,15 ^b	3,60 ± 0,81 ^b	21,73 ± 0,81 ^b
1,00%	20,00	18,20 ± 1,60 ^b	1,80 ± 0,81 ^c	16,27 ± 0,8 ^c
2,00%	20,00	20,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^d	0,00 ± 0,00 ^d
Coumaphos	20,00	20,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^d	0,00 ± 0,00 ^d

Keterangan : huruf *superscript* yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan hasil yang berbeda nyata pada P<0,05

Tabel 2. Rataan mortalitas L2 *Chrysomya bezziana* pascapemberian ekstrak etanol daun binahong dalam berbagai konsentrasi serta jumlah dan bobot pupa yang terbentuk.

Perlakuan	L2 yang diuji (n)	Mortalitas larva	Pupa	
			Jumlah (n)	Bobot (mg)
Kontrol	20,00	0,00 ± 0,00 ^e	20,00 ± 0,00 ^a	39,12 ± 1,02 ^a
0,50%	20,00	8,80 ± 1,28 ^d	11,20 ± 1,20 ^b	33,18 ± 1,24 ^b
1,00%	20,00	15,4 ± 1,07 ^c	4,60 ± 1,07 ^c	28,62 ± 1,29 ^c
2,00%	20,00	19,00 ± 0,44 ^b	1,00 ± 0,44 ^d	24,08 ± 00 ^d
Coumaphos	20,00	20,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^e	0,00 ± 0,00 ^e

Keterangan : huruf *superscript* yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan hasil yang berbeda nyata pada P<0,05

Tabel 3. Rataan jumlah mortalitas L3 *Chrysomya bezziana* pascapemberian ekstrak etanol daun binahong dalam berbagai konsentrasi serta jumlah dan bobot pupa yang terbentuk dan daya tetasnya menjadi lalat dewasa.

Perlakuan	L3 yang diuji (n)	Daya tetas	Pupa	
			Jumlah (n)	Bobot (mg)
Kontrol	20,00	19,32 ± 0,37 ^a	20,00 ± 0,00 ^a	40,10 ± 1,12 ^b
0,50%	20,00	13,40 ± 0,92 ^b	20,00 ± 0,00 ^a	33,24 ± 0,24 ^b
1,00%	20,00	11,40 ± 0,74 ^c	20,00 ± 0,00 ^a	28,62 ± 1,27 ^c
2,00%	20,00	4,00 ± 0,70 ^e	20,00 ± 0,00 ^a	25,08 ± 1,20 ^d
Coumaphos	20,00	9,00 ± 0,40 ^d	16,80 ± 1,50 ^b	26,03 ± 1,12 ^d

Keterangan : huruf *superscript* yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan hasil yang berbeda nyata pada P<0,05

pelarut dengan kepolaran yang hampir sama (Harborne, 1998). Hasil *screening* fitokimia dari kedua tanaman tersebut positif mengandung flavonoid dan tanin.

Hasil uji *in vitro* ekstrak etanol daun

binahong menunjukkan aktivitas larvasida terhadap L1, sebagian kecil L1 pada konsentrasi 0,5% dan 1% mampu berkembang hingga menjadi L3 dan pupa, meskipun bobot pupa yang dihasilkan tidak termasuk dalam kategori

normal (kurang dari 26 mg) (Wardhana, 2006). Hal tersebut mengindikasikan bahwa senyawa aktif yang terdapat dalam daun binahong memiliki aktivitas sebagai racun cerna dan *antifeedant*. Racun cerna dapat dilihat dari kematian mendadak dari L1 sejak dilakukan perlakuan, sedangkan *antifeedant* dapat dilihat dari bobot pupa yang terbentuk (Wardhana *et al.*, 2010). Bobot pupa yang berada di bawah standar mengindikasikan bahwa selama menjadi larva, konsumsi pakan dari larva lebih sedikit dibandingkan konsumsi umumnya (Wardhana *et al.*, 2011). Seluruh larva yang diberi ekstrak daun binahong pada konsentrasi 2% mengalami kematian 100% yang terjadi pada hari pertama pascaperlakuan, hal tersebut juga terjadi pada kontrol obat (Tabel 1). Pada konsentrasi 2%, mekanisme yang terjadi adalah racun cerna. Pupa yang terbentuk tidak ada yang menetas pada semua kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak daun binahong, sedangkan pada kontrol negatif pupa mampu menetas 100%.

Pengujian pada L2 menunjukkan bahwa mortalitas larva meningkat seiring dengan penambahan konsentrasi ekstrak daun binahong. Mortalitas tertinggi ditunjukkan pada kelompok 2%. Pada kelompok tersebut larva mengalami kematian 95%. Pada kelompok 0,5, 1%, dan 2% terdapat L2 yang mampu berkembang hingga menjadi L3 dan pupa, meskipun beberapa pupa yang dihasilkan tidak termasuk dalam kategori memiliki bobot normal (kurang dari 26 mg). Penjelasan mengenai mekanisme kerja senyawa aktif yang terkandung dalam daun binahong sama dengan mekanisme pada L1. Pada kelompok ini mekanisme kerja yang terjadi adalah ekstrak etanol daun binahong sebagai racun cerna dan *antifeedant*. Pupa yang terbentuk tidak ada yang menetas pada semua kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak daun binahong, sedangkan pada kontrol negatif pupa mampu menetas 100%.

Hasil uji ekstrak etanol daun binahong pada L3 menunjukkan bahwa kelompok kontrol negatif memiliki daya tetas yang tinggi (100%), yang mampu menyelesaikan siklus hidupnya dari L3 hingga menjadi lalat dewasa, sebaliknya kelompok perlakuan dan kontrol positif (*coumaphos*) mengalami kegagalan menjadi lalat dewasa meskipun jumlah pupa yang dihasilkan cukup banyak terutama pada konsentrasi 2%. Daya tetas menurun secara berurutan mulai dari konsentrasi terbesar

sampai dengan yang terkecil. Pada stadium ini, larva L3 sudah tidak mengkonsumsi makanan, sehingga apabila terjadi kematian pada larva adalah karena pengaruh dari kontak bahan aktif dengan larva. Hasil ini mengindikasikan bahwa ekstrak etanol daun binahong pada konsentrasi 2% memiliki aktivitas sebagai racun kontak terbaik pada L3 *C. bezziana*.

Senyawa flavonoid mempunyai efek toksik pada serangga melalui beberapa mekanisme di antaranya sebagai antiproliferatif, yaitu dengan cara menghambat transduksi sinyal ke nukleus sel. Mekanisme kedua, menginduksi fragmentasi DNA sehingga menyebabkan apoptosis sel. Mekanisme ketiga, menghambat aktivasi protein kinase pada daerah pengikatan ATP sehingga pertumbuhan sel menjadi terhambat (Mungenge *et al.*, 2014). Ketiga mekanisme tersebut diduga menyebabkan kematian sel pada larva L1 dan L2 lalat *C. bezziana* melalui mekanisme racun pencernaan. Tanin yang terdapat pada daun binahong, menghambat bekerja enzim asetil kolinesterase sehingga terjadi penumpukan asetilkolin yang menyebabkan terjadinya kekacauan pada sistem penghantaran impuls ke otot yang dapat berakibat otot kejang sehingga terjadi kelumpuhan (paralisis), ini sebagai indikator kerja dari racun kontak. Selain itu, tanin sebagai insektisida juga memiliki mekanisme mengoksidasi traktus digestivus dan menghasilkan *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang menyebabkan rusaknya jaringan *traktus digestivus* (Wardani *et al.*, 2010). Semakin banyak kandungan bahan aktif yang terdapat dalam ekstrak suatu tanaman, maka potensinya akan semakin tinggi (Gaedcke dan Steinhoff, 2003).

SIMPULAN

Simpulan dari penelitian ini adalah ekstrak etanol daun binahong memiliki kemampuan sebagai larvasidal terhadap larva lalat *C. bezziana* agen utama penyebab miasis secara *in vitro*. Senyawa aktif yang berpotensi sebagai larvasidal adalah flavanoid dan tannin yang merupakan hasil *screening* fitokimia.

SARAN

Perlu dilaksanakan uji *in vivo* pada hewan ternak, untuk mengetahui efektivitas dan keamanan ekstrak etanol daun binahong sebagai alternatif pengobatan miasis.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Kementerian Pertanian yang telah mendanai penelitian ini melalui program Kerjasama Kemitraan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Nasional (KKP3N) Tahun Anggaran 2014.

DAFTAR PUSTAKA

- Astuti SM. 2011. Determination of Saponin Compound From *Anredera Cordifolia Steenis* Plant (Binahong) to Potential Treatment for Several Diseases. *Journal of Agricultural Science* 3(4): 223-232
- De Roos AJ, Zahm SH, Cantor KP, Weisenburger DD, Holmes FF, Burmeister LF, Blair A. 2003. Integrative assessment of multiple pesticides as risk factors for non-Hodgkin's lymphoma among men. *Occupational and Environmental Medicine* 60: e11
- Djamil R, Wahyudi PS, Wahono S, Hanafi . 2012. Antioxidant Activity of Flavanoid From *Anredera Cordifolia Steenis* Leaves. *International Research Journal of Pharmacy* 9:241- 243
- Gaedcke F, Steinhoff B. 2003. *Herbal Medicinal Product*. Stuttgart, Germany. Scientific Publisher Stuttgart, CRC Press Boca Raton. Hlm. 5-75
- Gealh WC, Ferreira GM, Farah JG, Teodoro U, Camarini ET. 2009. Treatment of oral myiasis caused by *Cochliomyia hominivorax*, two cases treated with ivermectin. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 47(1): 23-26
- Hall MJR. 2004. New World screwworm (*Cochliomyia hominivorax*) and Old World screwworm (*Chrysomya bezziana*). Manual of Diagnostic Test and Vaccines for Terrestrial Animals (Mammals, Birds, and Bees). Paris (FR): World Organization for Animal Health.
- Hall MJR, Farkas R. 2000. Traumatic myiasis of humans and animals. Chapter 1.18, pages 751-768, In: *Contributions to a Manual of Palaearctic Diptera. General and Applied Dipterology*, Volume 1. Papp L, Darvas B, (Editors). Budapest. Science Herald, Hlm. 978.
- Harborne JB. 1998. *Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis*. 3rd Edition. New York: Chapman and Hall International Edition.
- Kumarasinghe SP, Karunaweera ND, Ihalmulla RL, Arambewela LSR, Dissanayake DS, 2002. Larvacidal effects of mineral turpentine, low aromatic white spirits, aqueous extracts of *Cassia alata*, and aqueous extracts, ethanolic extracts and essential oil of betel leaf (*Piper crocatum*) on *Chrysomya megachepala*. *Int J Dermatol* 41: 877-880.
- Manoi F. 2009. Binahong (*Anredera cordifolia*) Sebagai Obat. *Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri* 15(1): 3-5
- Miladiyah I, Prabowo BR. 2012. Ethanolic extract of *Anredera Cordifolia Steenis* Leaves Improved Wound Healing in Guinea Pigs. *Universa Medicina* 31(1): 4-10
- Mungenge C, Zimudzi C, Zimba M, Nhiwatiwa T. 2014. Phytochemical screening, cytotoxicity and insecticidal activity of the fish poison plant *Synaptolepis alternifolia* Oliv. (Thymelaeaceae). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 2(5): 15-19
- Rohela M, Jamaiah I, Amir L, Nissapatorn V. 2006. A case of auricular myiasis in Malaysia. *J Trop Med Public Health* 37(3): 91-98.
- Spradbery JP . 2002 . The screwworm fly problem : A background briefing. Proc. of screw worm fly emergency preparedness conference Canberra . Canberra, 12-15 November 2001 . Departement of Agriculture Fisheries and Forestry Australia . Hlm. 33-35
- Sukarsih S, Partoutomo G . Weijffels, Willadsen P. 2000. Vaccination Trials in sheep against *Chrysomya bezziana* larvae using the recombinant peritrophin antigens Cb 15, Cb 42 and C 48 . *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 5(3): 192-196 .
- Wardhana AH. 2006. *Chrysomya bezziana* penyebab miasis pada hewan dan manusia: permasalahan dan penanggulangannya. *Wartazoa*. 16(3): 146-159.

- Wardhana AH, Muharsini S, Santosa S, Arambewela LSR, Kumarasinghe SPW. 2010. Studi In Vitro Efek Larvasidal Minyak Atsiri Daun Sirih Sri Lanka dan Bogor Terhadap Larva *Chrisomya bezziana*. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 15(4): 297-307
- Wardhana AH, Muharsini S, Santosa S, Arambewela LSR, Kumarasinghe SPW. 2011. Pengobatan myiasis dengan sediaan krim minyak atsiri daun sirih hijau (*Piper betle* L) pada domba yang diinfestasi dengan larva *Chrsomya bezziana*. Bogor. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Hlm. 586-597
- Wardani RS, Mifbakhiddin, Yokorinanti K. 2010. Pengaruh Konsentrasi Daun Tembelakan Terhadap Kematian Larva *Aedes aegypti*. *Jurnal Kesehatan Masyarakat Indonesia* 6(2): 30-38.