

TOKSISITAS GRANULA EKSTRAK BIJI ALPUKAT (*Persea americana* Mill.) TERHADAP MORTALITAS LARVA NYAMUK *Aedes aegypti* L.

(*Toxicity of Avocado Seed Extract Granules against The Mortality of Aedes aegypti L. Larvae*)

Dwi Wahyuni, Dyah Prajnaparamita Dewi, Suratno
Program Studi Pendidikan Biologi, Jurusan Pendidikan MIPA, Fakultas Keguruan dan Ilmu
Pendidikan, Universitas Jember (UNEJ)
Jln. Kalimantan 37, Jember 68121
E-mail: dwiwahyunifkip@unej.ac.id

Abstrak

Aedes aegypti L. adalah vektor penyakit demam berdarah *dengue*. Kebanyakan orang menggunakan insektisida kimia sintesis yang mempunyai dampak negatif, dalam pengendalian vektor. Alpukat adalah salah satu tanaman yang berpotensi sebagai alternatif atas substansi insektisida kimia sintesis yang telah banyak digunakan (sebagai insektisida botani). Biji alpukat memiliki kandungan saponin yang tinggi. Penelitian ini bertujuan untuk menguji toksisitas granula ekstrak biji alpukat (LC_{50}) dan LT_{50} terhadap mortalitas larva *Ae. aegypti* dengan waktu dedah 24 jam. Serial konsentrasi granula yang digunakan adalah 50, 60, 70, 80, 90, dan 100 ppm dengan tiga kali pengulangan. Setiap perlakuan menggunakan 20 larva *Ae. aegypti* instar tiga akhir sampai empat awal. Pengujian toksisitas terhadap *Ae. aegypti* memberikan hasil LC_{50} sebesar 37,89 ppm, sedangkan LT_{50} pada konsentrasi 50, 60, 70, 80, 90, dan 100 ppm berturut-turut adalah 20,37; 16,90; 14,12; 14,09; 12,92; dan 12,34 jam.

Kata Kunci: *Ae. aegypti*, biji alpukat, granula, larva, saponin.

Abstract

Aedes aegypti L. is a vector that causing Dengue Hemorrhagic Fever. Most of people used synthetic chemical insecticides which have negative impacts, in controlling the dengue vector. Avocado is the one of plants that potential as alternative to the synthetic chemical substances that are commonly used (as botanical insecticide). Seeds of avocado were rich in saponins. The present study had the aim of testing the avocado seed extract granules, in order to determine their toxicity (LC_{50}) and LT_{50} during 24 hours towards *Ae. aegypti*. Concentration serials of granules that used in this study were 50, 60, 70, 80, 90, and 100 ppm for three replications. Each treatment used 20 larvae in the late of third instar to early forth instar. In toxicity tests against *Ae. aegypti* larvae, the LC_{50} results obtained was 37,89 ppm, whereas the LT_{50} of 50, 60, 70, 80, 90, and 100 ppm of avocado seed extract granules in series were 20,37; 16,90; 14,12; 14,09; 12,92; and 12,34 hours.

Keywords: *Ae. aegypti*, avocado seed, granules, larvae, saponin.

PENDAHULUAN

Nyamuk *Aedes aegypti* L. merupakan jenis nyamuk yang dapat membawa virus *dengue* dan merupakan vektor utama penyebab penyakit DBD di Indonesia. Penyebaran jenis penyakit ini sangat luas, meliputi hampir semua daerah tropis di seluruh dunia [1]. Upaya penanggulangan DBD menggunakan *vaccine virus dengue* yang telah dikembangkan hingga saat ini keberhasilannya masih menemui kendala [2], sehingga penanggulangannya sangat bergantung pada program pengendalian vektor [3].

Pengendalian vektor sampai saat ini masih dititikberatkan pada penggunaan insektisida kimia sintesis. Insektisida kimia sintesis meninggalkan dampak negatif berupa residu yang dapat masuk ke dalam komponen lingkungan, resistensi serangga sasaran, dan efek lain yang tidak diinginkan terhadap manusia dan binatang peliharaan [4].

Usaha untuk mengurangi dampak negatif yang ditimbulkan oleh insektisida sintesis sangat diperlukan, yaitu dengan mencari insektisida alternatif yang lebih efektif

dalam mengendalikan vektor, mudah terdegradasi, dan mempunyai dampak yang kecil terhadap lingkungan. Insektisida alternatif tersebut diharapkan menjadi jawaban terhadap ajakan pemerintah untuk memasuki era akhir abatesasi. Insektisida alternatif yang akan dikembangkan juga harus mampu untuk diaplikasikan tidak hanya dalam skala laboratorium, melainkan secara luas (langsung ke lapangan).

Salah satu insektisida alternatif yang berpotensi dalam mengendalikan vektor adalah insektisida nabati. Jenis insektisida ini bersifat mudah terurai (*biodegradable*) di alam sehingga tidak mencemari lingkungan dan relatif aman bagi manusia dan ternak peliharaan karena residunya mudah hilang [5].

Ada lebih dari 1000 spp. tumbuhan yang memiliki kemampuan sebagai insektisida, lebih dari 380 spp. mengandung zat pencegah makan (*antifeedant*), lebih dari 35 spp. mengandung akarisisida, dan lebih dari 30 spp. mengandung zat penghambat pertumbuhan [6]. Salah satu

tumbuhan yang berpotensi sebagai insektisida adalah alpukat (*Persea americana* Mill.).

Senyawa-senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada biji buah alpukat adalah alkaloid, triterpenoid, tanin, flavonoid, dan saponin [7]. Saponin adalah senyawa yang paling banyak terkandung dalam biji alpukat [8]. Aktivitas pestisidal dari saponin sudah banyak dilaporkan. Glikosida saponin sangat beracun bagi hewan berdarah dingin, tetapi tidak pada mammalia. Ekstrak tanaman yang mengandung persentase saponin yang tinggi telah umum digunakan di Afrika untuk air persediaan yang terkontaminasi vektor penyakit; setelah itu, air tersebut aman untuk diminum manusia [9]. Aktivitas dari saponin adalah menghambat enzim dalam saluran pencernaan sehingga menurunkan kemampuan dalam mencerna nutrisi tertentu (mengganggu penyerapan makanan) [10].

Beberapa penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa biji alpukat yang mengandung beberapa senyawa aktif mempunyai kemampuan antiprotozoal, anti-giardiasis, antitripanosidal, dan antimikrobal. Uji toksisitas ekstrak biji alpukat segar maupun kering terhadap larva *Artemia salina* menghasilkan nilai LC_{50} sebesar 34,302 mg/L hingga 42,270 mg/L. Nilai ini menunjukkan bahwa biji buah alpukat bersifat toksik [11]. Ekstrak biji alpukat juga dilaporkan memiliki kemampuan sebagai larvasida terhadap *Ae. aegypti* dengan LC_{50} sebesar 16,7 mg/L [12].

Ekstrak biji alpukat memiliki kelemahan untuk dapat diaplikasikan secara langsung. Pertama, ekstrak dapat mengotori perairan apabila diaplikasikan ke dalam air. Kedua, dalam proses penyimpanannya ekstrak tidak tahan terhadap pengaruh udara. Untuk itu perlu diusahakan suatu cara menanggulangi permasalahan tersebut. Salah satunya adalah memproses ekstrak menjadi sediaan granula. Granula adalah gumpalan-gumpalan dari partikel-partikel yang lebih kecil dan merupakan sediaan dasar farmasi yang selanjutnya dapat diproses menjadi sediaan jadi farmasi yang lebih stabil sehingga dapat disimpan dalam jangka waktu lama, seperti serbuk, tablet, kapsul, dan suppositoria [13]. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dan pengetahuan baru mengenai pemanfaatan granula ekstrak biji alpukat sebagai pengendali larva *Ae. aegypti*.

METODE PENELITIAN

Metode yang diterapkan adalah rancangan acak lengkap. Serial konsentrasi granula ekstrak biji alpukat yang digunakan adalah 50, 60, 70, 80, 90, dan 100 ppm dengan 3 kali replikasi. Larva *Aedes aegypti* L. yang digunakan sebanyak 480 ekor. Setiap perlakuan menggunakan 20 ekor larva dalam 100 ml larutan granula ekstrak biji alpukat. Sampel penelitian yang digunakan adalah larva *Ae. aegypti* instar III akhir sampai instar IV awal dengan kondisi sehat dan gerakannya aktif hasil pembiakan telur yang diperoleh dari *Tropical Disease Diagnostic Center* Universitas Airlangga Surabaya, sedangkan biji alpukat yang digunakan adalah biji alpukat varian merah panjang didapat dari Desa Kajarharjo Kecamatan Kalibaru Kabupaten Banyuwangi.

Granula ekstrak biji alpukat diperoleh dari pencampuran 1 gram ekstrak pekat biji alpukat dengan 5 gram maltodekstrin sebagai bahan pengisinya (eksipien). Data yang diperoleh

adalah data mortalitas larva *Ae. aegypti* pada 24 jam. Selain mortalitas, parameter yang diamati adalah suhu dan kelembaban lingkungan dengan pengamatan sebanyak 3 kali yaitu pada 6 jam, 12 jam, 18 jam, dan 24 jam. Analisis data yang digunakan untuk menentukan LC_{50} dan LT_{50} selama waktu dedah 24 jam yaitu analisis probit dengan program komputer *Minitab 14*.

HASIL PENELITIAN

Mortalitas larva *Aedes aegypti* L. semakin meningkat dengan konsentrasi granula ekstrak biji alpukat yang semakin tinggi. Rerata mortalitas terendah (55%), berada pada konsentrasi granula ekstrak biji alpukat paling minimum yaitu sebesar 50 ppm, sedangkan rerata mortalitas tertinggi (83,33%) berada pada konsentrasi granula ekstrak biji alpukat 100 ppm, yang merupakan konsentrasi tertinggi yang digunakan dalam pengujian akhir.

Tabel 1. Mortalitas Larva Nyamuk *Ae. aegypti* dengan Waktu Dedah 24 jam

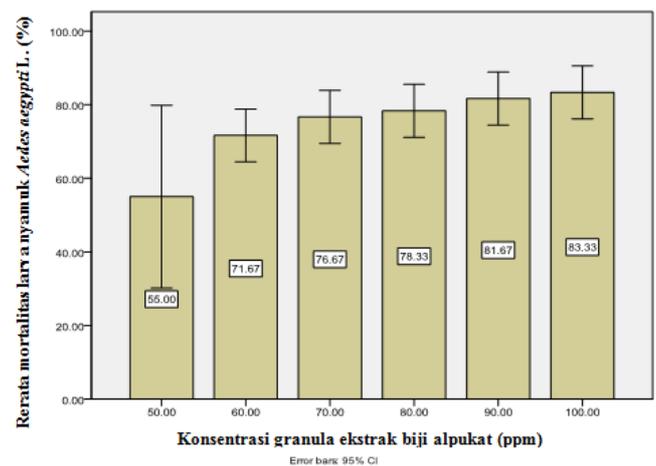
Konsentrasi (ppm)	Total Larva Uji	Rerata Mortalitas Larva <i>Ae. aegypti</i> ± SD
K-	20	0 ± 0,00
K+	20	100 ± 0,00
GE 50	20	55 ± 10,00
GE 60	20	71,67 ± 2,89
GE 70	20	76,67 ± 2,89
GE 80	20	78,33 ± 2,89
GE 90	20	81,67 ± 2,89
GE 100	20	83,33 ± 2,89

Keterangan:

K- : Kontrol negatif dengan akuades (0 ppm)

K+: Kontrol positif dengan abate 50 ppm

GE: Granula ekstrak biji alpukat



Gambar 1. Grafik Hubungan antara Rerata Mortalitas (%) Larva Nyamuk *Ae. aegypti* dengan Konsentrasi Granula Ekstrak Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.) dalam Waktu Dedah 24 Jam

Hasil analisis probit LC_{50} dan LT_{50} granula ekstrak biji alpukat (*P. americana*) terhadap mortalitas larva nyamuk

Ae. aegypti secara berurutan ditunjukkan pada Tabel 2 dan Tabel 3.

Tabel 2. Hasil Analisis Probit LC₅₀ dengan Waktu Dedah 24 Jam

Mortalitas Larva <i>Ae. aegypti</i> (%)	Konsentrasi Granula Ekstrak Biji Alpukat (ppm)	Batas Bawah	Batas Atas
50	37,89	17,52	48,76

Tabel 3. Hasil Analisis Probit Perbandingan LT₅₀ Kontrol Positif (Abate 50 ppm) dengan LT₅₀ Granula Ekstrak Biji Alpukat 50 ppm, 60 ppm, 70 ppm, 80 ppm, 90 ppm, dan 100 ppm dalam Waktu Dedah 24 jam

Konsentrasi Granula Ekstrak Biji Alpukat (ppm)	LT ₅₀ (jam)	Batas Bawah	Batas Atas
Abate 50	3,25	2,82	3,62
50	20,37	17,94	24,06
60	16,90	14,79	19,82
70	14,12	12,73	15,65
80	14,09	12,79	15,48
90	12,92	11,66	14,19
100	12,34	10,97	13,75

Hasil analisis probit toksisitas granula ekstrak biji alpukat terhadap larva nyamuk *Ae. aegypti* menunjukkan bahwa LC₅₀ 24 jam sebesar 37,89 ppm, sedangkan hasil analisis probit LT₅₀ toksisitas granula ekstrak biji alpukat menunjukkan bahwa besarnya LT₅₀ pada konsentrasi granula ekstrak biji alpukat 50 ppm yaitu 20,37 jam. LT₅₀ pada konsentrasi granula ekstrak biji alpukat 60 ppm yaitu 16,90 jam. LT₅₀ pada konsentrasi granula ekstrak biji alpukat 70 ppm yaitu 14,12 jam. LT₅₀ pada konsentrasi granula ekstrak biji alpukat 80 ppm yaitu 14,09 jam. LT₅₀ pada konsentrasi granula ekstrak biji alpukat 90 ppm yaitu 12,92 jam dengan batas bawah waktu sebesar 11,66 jam. LT₅₀ pada konsentrasi granula ekstrak biji alpukat 100 ppm yaitu 12,34 jam.

PEMBAHASAN

Hasil dan analisis data memberikan gambaran bahwa semakin tinggi konsentrasi granula ekstrak biji alpukat (*Persea americana* Mill.) yang digunakan dalam perlakuan, maka semakin tinggi mortalitas atau jumlah kematian larva nyamuk *Aedes aegypti* L. Hal ini disebabkan oleh kandungan toksin yang terdapat dalam granula ekstrak biji alpukat. Semakin tinggi konsentrasi larutan maka semakin banyak kandungan zat aktif yang masuk ke dalam tubuh larva sehingga ketahanan larva terhadap zat terlarut semakin berkurang dan larva menjadi lebih rentan, akibatnya akan terjadi kematian yang lebih tinggi [14]. Demikian pula pendedahan pada waktu yang lebih lama akan menyebabkan mortalitas larva yang lebih tinggi. Hal ini terjadi karena toksisitas suatu insektisida ditentukan oleh dua faktor, yaitu *dosage* (dosis) dan *duration* (lama pendedahan).

Biji alpukat dapat disebut sebagai insektisida nabati (botani) karena terbukti bersifat toksik terhadap larva

nyamuk *Ae. aegypti*. Kematian (mortalitas) larva nyamuk *Ae. aegypti* dalam penelitian ini disebabkan oleh aktivitas dari senyawa saponin. Gejala keracunan larva nyamuk *Ae. aegypti* akibat saponin dapat dilihat dengan mengamati perubahan larva yang meliputi perubahan warna, ukuran, dan aktivitasnya. Larva yang teracuni warna tubuhnya berubah menjadi transparan dibandingkan larva yang sehat (normal) dan tubuhnya menjadi mengkerut. Berubahnya kutikula ini dimungkinkan akibat terdegradasinya protein sehingga pada kutikula hanya tertinggal serabut kolagen dan lapisan keratin. Gerakan larva sebelum mengalami kematian adalah melambat, kemudian diam di dasar gelas, dan akhirnya mati. Larva dapat dipastikan mati setelah menyentuh lidi lentur pada larva dan tidak memberikan respon (tidak bergerak), sedangkan secara kimia, tubuhnya berwarna transparan ketika ditetesi larutan eosin. Hal ini dikarenakan sel-sel yang menyusun tubuh larva sudah mati sehingga tidak dapat menyerap warna [15].

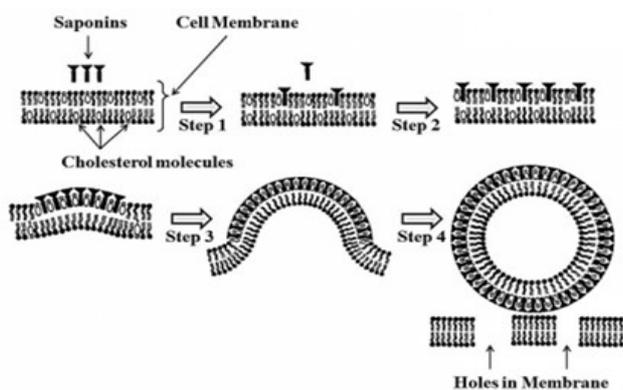
Granula ekstrak biji alpukat (*P. americana*) bersifat sebagai racun perut bagi larva nyamuk *Ae. aegypti* dikarenakan makanan bagi larva yang terdapat di dalam air yang menjadi habitat larva, turut terkontaminasi oleh granula ekstrak biji alpukat dan dapat masuk ke dalam tubuh larva ketika larva memperoleh makanan. Makanan yang mengandung zat toksik ini memasuki usus, sehingga mampu menyebabkan gangguan pada bagian mesenteron larva nyamuk *Ae. aegypti*. Setelah masuk ke dalam saluran pencernaan serangga, toksin melewati membran peritropik dan kemudian akan terikat pada reseptor khusus yang terdapat pada mikrovili sel epitelium saluran pencernaan tengah (mesenteron) yang terdiri atas lipid dan protein, sehingga mengakibatkan struktur tiga dimensi protein terganggu dan terbuka. Hal ini yang menyebabkan protein terdenaturasi, aktivitas biologisnya menjadi rusak, dan dinding saluran pencernaan rusak. Terjadinya gangguan pada bagian mesenteron tersebut berdampak pada terganggunya proses metabolisme yang mengakibatkan produksi ATP terhambat dan tidak dapat memperbaiki sel-sel yang sudah rusak sehingga larva pada akhirnya mengalami kematian [16].

Saponin ternyata juga bekerja sebagai racun penghambat metamorfosis serangga. Kehadiran saponin meskipun dalam jumlah sedikit akan mengikat sterol bebas dalam perut sehingga rata-rata jumlah sterol yang diambil hemolimfa berkurang. Pengurangan kadar sterol tersebut dapat mempengaruhi proses molting serangga. Serangga tidak mampu untuk mensintesis struktur sterol dengan diri mereka sendiri, tetapi serangga memerlukan senyawa yang mampu mensintesis steroid seperti kolesterol dan hormon molting serangga yaitu *20-hydroxyecdysone* (20E). Itu berarti serangga memerlukan makanan untuk mendapatkannya. Saponin menghalangi pengambilan sterol. Saponin dapat membentuk kompleks tidak terlarut dengan sterol, yang menyebabkan mencegah penyerapan. Jika semua kolesterol dalam makanan berikatan dengan saponin, serangga tidak dapat mendapatkannya. Lebih jauh, saponin yang termakan juga dapat berikatan dengan kolesterol yang terdapat pada tubuh serangga, dan menghentikan biosintesis *ecdysteroid*. Hal ini dapat mengganggu proses *ecdysis* (kegagalan

ecdysis). Saponin memiliki struktur steroid yang mirip dengan *ecdysteroid*, beberapa menunjukkan aktivitas antagonis atau aktivitas kompetitif pada sisi reseptor 20 E, misalnya kompleks EcR (*ecdysteroid reporter*) [17].

Saponin adalah senyawa yang dapat menurunkan aktivitas enzim protease dalam saluran pencernaan, sehingga mengganggu penyerapan makanan [18]. Saponin juga mampu meningkatkan permeabilitas membran plasma. Saponin dapat berinteraksi dengan sel-sel mukosa pada saluran pencernaan serangga dan membuatnya lebih permeabel, sehingga mengurangi kemampuan saluran pencernaan serangga dalam mentranspor nutrisi [19]. Hal ini diduga karena struktur bipolarnya. Sisi lipofilik dari saponin dapat dengan mudah berintegrasi ke dalam fraksi lipid membran plasma [17]. Gangguan pada saluran pencernaan dapat menghambat penyerapan makanan. Kekurangan asupan nutrisi, sebagai akibat dari gangguan pencernaan dan proses asimilasi, dapat menurunkan laju pertumbuhan serangga. Terdapat hasil penelitian yang mendukung hipotesis ini karena dalam penelitian yang telah mereka lakukan, larva uji yang diuji dengan saponin kehilangan banyak berat badannya daripada larva yang menjadi kontrol, sesaat sebelum proses pupasi [20]. Selain itu, saponin juga dilaporkan dapat menurunkan tegangan permukaan selaput mukosa saluran pencernaan larva sehingga dinding saluran pencernaan menjadi rusak [21].

Saponin mempunyai kemampuan spesifik untuk membentuk porus pada membran. Adanya porus ini memungkinkan membran menjadi lebih permeabel terhadap molekul lain yang lebih besar [19].



Gambar 2. Mekanisme Saponin dalam Membentuk Porus pada Membran, Sumber: [22]

Mekanisme saponin dalam menyebabkan kerusakan pada saluran pencernaan menurut Sansone (2014), dapat terjadi interaksi antara saponin dengan sisi polar membran fosfolipid dan gugus -OH dari kolesterol melalui gugus OH pada C₃ atau C₂₈ sehingga akan menghasilkan kemampuan untuk membentuk *micelle*. Lebih jauh, rantai belakang aglikon saponin yang bersifat hidrofobik dapat melakukan interkalasi ke dalam membran *bilayer* yang hidrofobik (Gambar 2) [19]. Jumlah glikosida yang dibutuhkan untuk mempengaruhi permeabilitas membran lebih kecil untuk lapisan lemak yang kaya kolesterol daripada membran yang bebas kolesterol [23].

Saponin juga bekerja sebagai racun saraf, yaitu mempunyai efek menghambat kerja enzim kemotripsin, asetilkolinesterase dan protease. [24]. Terhambatnya enzim

asetilkolinesterase akan berpengaruh terhadap aktifitas otot-otot pada larva *Ae. aegypti*, karena apabila asetilkolinesterase terhambat, asetilkolin tidak dapat berdifusi ke membran pascasinaps untuk bergabung dengan suatu reseptor. Apabila asetilkolin tidak dapat bergabung dengan reseptor, tidak akan terjadi depolarisasi untuk permulaan kontraksi otot. Otot dan saraf merupakan sistem yang terlebih dahulu mengalami kerusakan, mengingat letaknya yang berada langsung di bawah kutikula [25].

Granula ekstrak biji alpukat (*P. americana*) menurut cara masuknya, termasuk ke dalam racun kontak karena diberikan ke dalam air yang merupakan habitat larva *Ae. aegypti*, sehingga senyawa aktif (saponin) masuk ke dalam tubuh dapat masuk melalui permukaan tubuhnya, khususnya bagian kutikula yang tipis, misal pada bagian daerah perhubungan antara segmen, lekukan-lekukan yang terbentuk dari lempengan tubuh, pada bagian pangkal rambut, dan pada saluran pernafasan (spirakulum). Kutikula yang terkena insektisida akan menyerap racun sehingga terbawa oleh aliran darah dan tersebar ke seluruh tubuh serangga. Selain itu, kutikula juga dapat menyerap residu insektisida [26]. Kehadiran saponin dapat menyebabkan kerusakan kutikula, karena adanya interaksi antara molekul saponin dengan membran kutikula tersebut [27].

Tingkat keamanan dari suatu bahan aktif dalam penelitian perlu untuk ditinjau lebih lanjut agar tidak menimbulkan dampak negatif baru bagi lingkungan dan ekosistem. Granula ekstrak biji alpukat yang terbuat dari campuran 1 gram ekstrak pekat biji alpukat dan 5 gram maltodekstrin sebagai pengisinya, aman apabila diaplikasikan ke dalam perairan. Hal ini didasarkan dari beberapa penelitian terdahulu. Eksiipien berupa maltodekstrin dalam pembuatan granula aman untuk digunakan. Penambahan maltodekstrin berfungsi untuk mempercepat pengeringan dan mencegah kerusakan akibat panas, meningkatkan total padatan, dan memperbesar volume. Maltodekstrin telah dikenal secara luas sebagai bahan yang *nonirritant* dan *nontoxic* [28].

KESIMPULAN

Besarnya toksisitas (LC₅₀) pada waktu dedah 24 jam granula ekstrak biji alpukat (*Persea americana* Mill.) terhadap mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* L. adalah 37,89 ppm, sementara besarnya LT₅₀ granula ekstrak biji alpukat (*P. americana*) terhadap mortalitas larva nyamuk *Ae. aegypti* pada konsentrasi 50 ppm, 60 ppm, 70 ppm, 80 ppm, 90 ppm, dan 100 ppm berturut-turut adalah 20,37 jam; 16,90 jam; 14,12 jam; 14,09 jam; 12,92 jam; dan 12,34 jam.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Soegijanto, S. 2004. *Demam Berdarah Dengue, Tinjauan dan Temuan Baru di Era 2003*. Cetakan Pertama. Surabaya: Airlangga University Press.
- [2] National Institute of Allergy and Infectious Diseases. 2013. *Dengue Fever Overview*. <http://www3.niaid.nih.gov/healthscience/healthtropics/dengue/overview.htm>. Diakses tanggal 31 Desember 2013.

- [3] WHO. 2004 *Panduan Lengkap Pencegahan dan Pengendalian Dengue dan Demam Berdarah*. Jakarta: EGC.
- [4] Naria, E. 2005. Insektisida Nabati untuk Rumah Tangga. *Info Kesehatan Masyarakat*, 9 (1): 28-32.
- [5] Kardinan, A. 2004. *Tanaman Pengusir dan Pembasmi Nyamuk*. Cetakan Ketiga. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- [6] Prakash, A. dan Rao, J. 1997. *Botanical Pesticides in Agriculture*. America: CRC Press.
- [7] Zuhrotun, A. 2007. *Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol Biji Buah Alpukat (Persea americana Mill.) Bentuk Bulat*. Karya Ilmiah yang Tidak Dipublikasikan. Bandung: Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran.
- [8] Arukwe, U., Amadi, B.A., Duru, M.K.C., Agomuo, E.N., Adindu, E.A., Odika, P.C., Lele, K.C., Egejuru, L., dan Anudike, J. 2012. Chemical Composition of *Persea americana* Leaf, Fruit, and Seed. *IJRRAS*, 11 (2): 346-349.
- [9] Wiesman, Z. dan Chapagain, B.P. 2003. Laboratory Evaluation of Natural Saponin as a Bioactive Agent against *Aedes aegypti* and *Culex pipiens*. *Dengue Bulletin*, 27: 168-173.
- [10] Cheeke, P.R. 1971. Nutritional and Physiological Implications of Saponins: A Review. *Can.J.Anim.Sci*, 51: 621-632.
- [11] Marlinda, M., Sangi, M.S., dan Wuntu, A.D. 2012. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Biji Buah Alpukat (*Persea americana* Mill.). *Jurnal MIPA UNSRAT Online*, 1(1): 24-28. <http://ejournal.unstrat.ac.id/index.php/jmuo>. Diakses tanggal 31 Desember 2013.
- [12] Leite, J.J.G., Brito, E.H.S., Cordeiro, R.A., Brilhante, R.S.N., Sidrim, J.J.C., Bertini, L.M., Morais, S.M., dan Rocha, M.F.G. 2009. Chemical Composition, Toxicity and Larvicidal and Antifungal Activities of *Persea americana* (Avocado) Seed Extracts. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 42(2): 110-113.
- [13] Ansel, H. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Jakarta: UI-Press.
- [14] Wahyuni, D., Waluyo, J., dan Hariyadi, S. 2012. *Granulasi Senyawa Toksik sebagai Bioinsektisida Baru Pemberantas Larva Nyamuk Aedes aegypti yang Strategis di Indonesia*. Laporan Hasil Penelitian, Hibah Penelitian Strategis Nasional. Jember: Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember.
- [15] Wahyuni, D. 1988. *Perbedaan Toksisitas Isolat Bacillus thuringiensis dengan Isolat Pumillus terhadap Larva Nyamuk Aedes aegypti dalam Kondisi Laboratorium*. Jember: Lemlit Universitas Jember.
- [16] Trizelia. 2001. *Pemanfaatan Bacillus thuringiensis untuk Pengendalian Hama Crocidolomia binotalis*. Skripsi. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- [17] Geyter, E.D., Lambert, E., Geelen, D., dan Smagghe, G. 2007. Novel Advances with Plant Saponins as Natural Insecticides to Control Pest Insects. *Pest Technology (Global Science Books)*.
- [18] Shabuddin dan Pasaru, F. 2009. Pengujian Efek Penghambatan Ekstrak Daun Widuri terhadap Pertumbuhan Larva *Spodoptera exigua* Hubn. (Lepidoptera: Noctuidae) dengan Menggunakan Indeks Pertumbuhan Relatif. *Jurnal Agroland*, 16 (2): 148-154.
- [19] Francis, G., Kerem, Z., Makkar, H.P.S., dan Becker, K. 2002. The Biological Action of Saponins in Animal Systems: A Review. *Journal of Nutrition*, 88: 587-605.
- [20] Adel, M.M., Sehna, F., dan Jurzysta, M. 2000. Effects of Alfalfa Saponins on the Moth *Spodoptera littoralis*. *Journal of Chemical Ecology* 26: 1065-1078.
- [21] Aminah, N.S., Singgih, H., Soetiyono, P., dan Chaorul. 2001. *S. rarak*, *D. metel* dan *E. prostata* sebagai Larvasida *Aedes aegypti*. *J. Cermin Dunia Kedokteran*, 131.
- [22] Sansone, L. 2014. *Are Potatoes Paleo?*. <http://www.walkandburnfat.com/arepotatoespaleofiles95bcd5ed48glocoalcolakoliodal-1.jpg>. Diakses tanggal 9 Juli 2014.
- [23] Gogelein, H. dan Huby, A. 1984. Interaction of Saponin and Digitonin with Black Lipid Membranes and Lipid Monolayers. *Biochimica et Biophysica Acta*, 773: 32-38.
- [24] Suhara. 2010. *Pengantar Tentang Enzim*. <http://upi.ac.id>. Diakses tanggal 25 April 2014.
- [25] Sherman, I.G. dan Sherman, V.G. 1988. *The Invertebrates Function and Form*. New York: MacMillan Publishing Co. Inc.
- [26] Tarumingkeng, R.C. 2001. *Pestisida dan Penggunaannya*. Bogor: Institut Pertanian Bogor. <http://tumoutou.net/TOX/PESTISIDA.htm>. Diakses tanggal 14 Mei 2014.
- [27] Chapagain, B. dan Wiesman, Z. 2005. Larvicidal Effects of Aqueous Extracts of *Balanites aegyptiaca* (Desert Date) against The Larvae of *Culex pipiens* Mosquitoes. *African Journal of Biotechnology*, 4 (11): 1351-1354.
- [28] Rowe, C.R., Sheskey, P.J., dan Quinn, M.E. 2009. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. Sixth Edition. London: Pharmaceutical Press.