

Biokontrol larva nyamuk *Aedes aegypti* menggunakan limbah biji karika (*Vasconcellea pubescens*)

Biocontrol approach of controlling *Aedes aegypti*'s larvae using waste of carica (*Vasconcellea pubescens*) seed

SUPONO¹, SUGIYARTO^{1*}, ARI SUSILOWATI¹, SUSIANA PURWANTISARI²,
FAHRUR NUZULUL KURNIAWATI³

¹ Ps. Biosain PPs Universitas Sebelas Maret Surakarta. Jl. Ir. Sutami36A Surakarta 57126, Jawa Tengah. Tel./Fax. +62-271-663375, *email: sugiyarto_ys@yahoo.com

² Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro. Jl. Prof. H. Sudarto, SH, Tembalang, Semarang 50275, Jawa Tengah.

³Kelompok Studi Biodiversitas, Jurusan Biologi, Universitas Sebelas Maret Surakarta. Jl. Ir. Sutami36A Surakarta 57126, Jawa Tengah.

Manuskrip diterima: 24 April 2015. Revisi disetujui: 21 Juni 2015.

Abstrak. Supono, Sugiyarto, Susilowati A, Purwantisari S, Kurniawati FN. 2015. Biokontrol larva nyamuk *Aedes aegypti* menggunakan limbah biji karika (*Vasconcellea pubescens*). *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon 1: 1127-1131*. Pengendalian nyamuk *Aedes aegypti* belum menunjukkan hasil yang baik terbukti masih sering terjadinya wabah demam berdarah secara periodik di berbagai daerah di Indonesia, sehingga upaya pengendaliannya perlu terus dilakukan, antara lain dengan menggunakan biopestisida. Limbah biji karika (*Vasconcellea pubescens* (Lenné et C. Koch)) diketahui mengandung senyawa terpenoid yang berpotensi untuk digunakan sebagai biopestisida. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui mortalitas larva nyamuk *A. aegypti* menggunakan limbah biji karika. Sampel biji karika diperoleh dari dataran tinggi Dieng. Biji dikeringkan dan diblender hingga menjadi serbuk, kemudian diekstraksi dengan metode maserasi bertingkat menggunakan pelarut n-heksana, etil asetat dan etanol 70%. Fraksi yang dihasilkan digunakan untuk uji larvasida nyamuk *A. aegypti*. Nilai prosentase kematian larva dihitung nilai LC₅₀ menggunakan probit tabel Finney. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak biji karika menyebabkan kematian larva nyamuk *A. aegypti* pada waktu pemaparan 24 dan 48 jam. Fraksi n-heksana paling efektif membunuh larva *A. aegypti* dengan nilai LC₅₀ pada paparan 24 jam adalah 148,30 ppm, sedangkan paparan selama 48 jam adalah 103,99 ppm. Ekstrak limbah biji karika berpotensi digunakan untuk biokontrol larva nyamuk *A. aegypti*.

Kata kunci: *Aedes aegypti*, biji karika, biokontrol, larvasida, *Vasconcellea pubescens*

Abstract. Supono, Sugiyarto, Susilowati A, Purwantisari S, Kurniawati FN. 2015. Biocontrol approach of controlling *Aedes aegypti*'s larvae using waste of carica (*Vasconcellea pubescens*) seed. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon 1: 1127-1131*. Although outbreak of dengue fever frequently occurs at various regions in Indonesia yet the conventional techniques of controlling *Aedes aegypti* mosquito have not demonstrated significant result. So the control efforts should continue to be carried out especially using biopesticides. Waste of Carica bean (*Vasconcellea pubescens* (Lenné et C. Koch)) contains chemical compound named terpenoid that has the potential to be used as a biopesticide. This purpose of this study was to determine the mortality of *A. aegypti* mosquito larvae using carica bean waste. Samples of carica seed were collected from Dieng plateau. Dried beans were blended to make into powder. The extraction was made by maceration method using multilevel of n-hexane, ethyl acetate, and 70% ethanol. The resulted fractions were used to test the *A. aegypti* mosquito larvae. The percentage of larval mortality LC₅₀ value was calculated using Finney probit table. The results showed that the extract of Carica seeds causes the death of *A. aegypti* mosquito larvae at 24 and 48 hours of exposure. N-hexane fraction killed larvae of *A. aegypti* most effectively. The LC₅₀ values at 24-hours and 48 hours exposure were 148.30 and 103.99 ppm respectively. In the future waste of carica seed extract can potentially be used for biocontrol of *A. aegypti* mosquito larvae.

Keywords: *Aedes aegypti*, carica seed, biocontrol, larvacide, *Vasconcellea pubescens*

PENDAHULUAN

Demam berdarah dengue (DBD) ditularkan oleh virus dengue yang masuk ke peredaran darah manusia melalui gigitan nyamuk dari genus *Aedes*, yaitu *Aedes aegypti* atau *Aedes albopictus* (Sembel 2009). Penyakit ini ditemukan di daerah tropis dan subtropis di berbagai belahan dunia, terutama di musim hujan yang lembap. Organisasi kesehatan dunia (WHO) memperkirakan setiap tahunnya

terdapat 50-100 juta kasus infeksi virus dengue di seluruh dunia. Manifestasi klinis DBD berupa pendarahan dan menimbulkan syok yang dapat berakibat kematian (Djallaluddin et al. 2001). Penularan penyakit DBD terjadi secara propagatif dimana virus berkembang biak di dalam badan vektor nyamuk *A. aegypti* dan *A. albopictus* yang merupakan vektor utama dan vektor sekunder DBD di Indonesia (Hoedoyo 1993).

Penyemprotan insektisida sintesis dapat mengakibatkan

nyamuk menjadi resisten dan mengganggu keseimbangan ekologi. Pengendalian dengan menggunakan insektisida nabati atau biolarvasida adalah salah satunya. Insektisida nabati berbahan dasar dari tumbuhan yang mengandung senyawa bioaktif yang toksik terhadap serangga (Moehammad 2005). Pestisida organik bersifat mudah terurai sehingga tidak berbahaya bagi lingkungan (Octavia et al. 2008). Nilai LC_{50} merupakan konsentrasi tertentu yang mengakibatkan kematian organisme uji sebanyak 50%, sedangkan nilai LC_{90} mengakibatkan kematian sebanyak 90% (Klaassen and Watkins 2003).

Karika adalah tanaman buah endemik dataran tinggi Dieng, Jawa Tengah Indonesia. Buah ini memiliki nama latin *Vasconcellea Pubescens* dimana sekarang menjadi buah yang dikonsumsi oleh masyarakat (Permatasari et al. 2015). Pemanfaatan karika hanya sebatas daging buah, sedangkan bagian yang lain seperti daun dan biji belum dimanfaatkan. Dalam pengolahan buah karika biji dibuang dan menjadi limbah. Buah yang masuk dalam famili Caricaceae dan satu genus dengan pepaya ini ternyata memiliki hubungan kekerabatan dekat dengan pepaya (Laily 2001). Menurut Mehidyastuti (2012) ekstrak biji pepaya (*Carica papaya* L.) dapat menyebabkan kematian larva *A. aegypti*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui mortalitas larva nyamuk *A. aegypti* menggunakan limbah biji karika.

BAHAN DAN METODE

Area kajian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Maret sampai dengan Juli 2012, di Laboratorium Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret, Surakarta, Laboratorium Universitas Setia Budi, Surakarta, Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Rancangan penelitian dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pada setiap uji. Uji pendahuluan aktivitas larvasida pada ketiga fraksi menggunakan 15 perlakuan konsentrasi uji. Rentang konsentrasi dan fraksi paling efektif yang didapatkan dari uji pendahuluan digunakan untuk uji aktivitas LC_{50} .

Alat dan bahan

Pada uji aktivitas LC_{50} digunakan peralatan: tempat penjemur biji, kertas, blender biji, bak plastik pemeliharaan jentik nyamuk, bak uji, seperangkat alat untuk proses ekstraksi dengan metode maserasi, cawan petri, rotary evaporator, timbangan analitik, autoklaf, elenmeyer, dan pipet.

Bahan yang diperlukan yaitu: biji karika kering yang diperoleh dari Desa Kepakisan, Kecamatan Batur, Kabupaten Banjarnegara, etanol 70%, etil asetat, n-heksana, akuadest steril, fish food, telur nyamuk *A. aegypti* yang didapatkan dari Balitbang P2B2 (Balai Penelitian dan Pengembangan Pengendalian Penyakit Bersumber Binatang) Banjarnegara, Jl. Selemnik 16A, Banjarnegara.

Cara kerja

Penelitian uji aktivitas larvasida dilakukan sesuai dengan prosedur WHO yang dimodifikasi. Pada uji

aktivitas larvasida konsentrasi uji dicari terlebih dahulu dengan uji pendahuluan.

Pembuatan serbuk biji karika

Biji dipisahkan dari daging buah, dikumpulkan dan dikeringanginkan. Kemudian diblender hingga berbentuk serbuk dan disimpan di wadah tertutup.

Ekstraksi biji karika

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi bertingkat menggunakan pelarut n-heksana, etil asetat, dan etanol 70% yang masing-masing bersifat non polar, semi polar, dan polar. Serbuk biji karika 550 g dilarutkan dalam n-heksana hingga terendam semua (± 2 liter), dikocok, dibiarkan selama 24 jam. Ekstrak disaring untuk diambil filtratnya. Ampas dilarutkan ke dalam pelarut etil asetat hingga terendam semua (± 2 liter), dikocok, dibiarkan selama 24 jam dan ekstrak disaring untuk diambil filtratnya. Ampas yang tersisa dilarutkan dengan pelarut etanol 70% sampai terendam semua (± 2 liter), dikocok, dibiarkan selama 24 jam dan ekstrak disaring untuk diambil filtratnya. Masing-masing filtrat yang didapat dipekatkan dengan cara dievaporasi pada suhu $50^{\circ}C$ hingga diperoleh ekstrak cair. Ekstrak diuapkan untuk menghilangkan pelarut dan diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental kemudian disimpan dalam suhu $4^{\circ}C$.

Penyiapan larva

Larva yang digunakan adalah larva nyamuk jenis *A. aegypti*. Larva didapatkan dari telur yang dipelihara sampai pada instar III-IV, lebih kurang berusia 7-10 hari dari sejak penetasan. Larva ditetaskan pada bak pemeliharaan yang berisi aquades steril. Larva yang mencapai instar III dan IV diambil dan dipisahkan pada bak uji. Setiap satu bak uji diisi 20 ekor larva.

Uji aktivitas larvasida

Uji pendahuluan. Ekstrak kasar diencerkan dengan akuades konsentrasi 0, 1, 6.25, 12.5, 25, 50, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, dan 1000 ppm. Satu bak uji berisi 20 larva dan dimasukkan ekstrak dengan konsentrasi yang berbeda, bak uji ditutup dengan kain dan diamati jumlah kematian larva setiap 6 jam selama 48 jam. Kematian larva dibuat grafik, dan ditentukan kisaran konsentrasi uji.

Uji konsentrasi LC_{50} . Bak uji berisi 20 larva dan ke dalam bak uji yang berisi 200 ml aquades dimasukkan ekstrak sesuai dengan masing-masing konsentrasi uji, bak uji ditutup dengan kain dan diamati jumlah kematian larva setiap 12 jam selama 48 jam.

Analisis data

Data berupa prosentase kematian larva dianalisis normalitas dan homogeny datanya. Presentase kematian dihitung dengan:

$$\% \text{ kematian terkoreksi} = \frac{Y_0 \text{ kematian perlakuan} - Y_0 \text{ kematian kontrol}}{Y_0 \text{ kematian kontrol}} \times 100\%$$

Nilai prosentase kematian ditransformasikan ke nilai probit dengan tabel Finney 1952. Nilai probit dibuat dalam

grafik sebagai nilai Y dan nilai X adalah *Log 10* Konsentrasi (WHO 2005). Nilai LC_{50} didapatkan dari persamaan garis yang dibentuk oleh persamaan linear nilai X dan Y. Data dianalisis secara statistik dengan bantuan program SPSS versi 17 for Windows. Data dianalisis dengan ANOVA (*Analysis of Variance*) dan diteruskan dengan DMRT (*Duncan Multiple Range Test*).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Mortalitas larva *A. aegypti* oleh ekstrak biji karika

Ekstrak dihasilkan dari ekstraksi bertingkat tiga jenis pelarut yang bersifat nonpolar yaitu n-heksana, semipolar yaitu etil asetat dan polar yaitu etanol 70%. Ketiga fraksi memberikan hasil yang berbeda terhadap mortalitas larva *A. aegypti* dalam pengamatan 24 jam dan 48 jam. Pemaparan selama 48 jam semua fraksi mengalami peningkatan mortalitas.

Pemaparan selama 24 jam, didapatkan fraksi n-heksana paling besar menimbulkan kematian larva dibandingkan fraksi yang lain karena mulai mematikan larva pada konsentrasi 100 ppm. Pada konsentrasi 900 dan 1000 ppm fraksi n-heksana menyebabkan kematian 100% pada tiap kontainer. Konsentrasi tersebut dinilai sangat toksik bagi larva *A. aegypti*. Hal ini menunjukkan bahwa fraksi n-heksana memiliki kemampuan larvasida lebih tinggi dibandingkan pada fraksi etil asetat dan etanol 70%. Pola kecenderungan hubungan antara mortalitas dan kenaikan konsentrasi berbanding lurus pada fraksi n-heksana dan etanol 70%. Sifat toksisitas pada ketiga jenis fraksi ekstrak biji karika sangat baik pada waktu paparan 24 jam dan paparan 48 jam.

Adanya peningkatan kematian larva pada waktu paparan 48 jam, menunjukkan bahwa senyawa larvasida yang terkandung masih aktif. Pada fraksi n-heksana pengaruh toksisitasnya masih stabil sehingga pada waktu paparan 48 jam masih mematikan larva dalam jumlah yang besar. Konsentrasi lethal 100% pada fraksi n-heksana terjadi pada 800 ppm, 900 ppm dan 1000 ppm. Pada fraksi etil asetat dan etanol 70% tetap masih mengalami peningkatan jumlah larva yang mati tetapi tidak mencapai konsentrasi lethal 100%. Sifat toksisitas fraksi etanol 70% pada waktu paparan 48 jam lebih stabil dibandingkan pada fraksi etil asetat. Hal ini dibuktikan dengan jumlah kematian larva yang nilainya lebih tinggi mulai pada konsentrasi 600 ppm.

Berdasarkan hasil uji pendahuluan didapatkan jenis fraksi yang paling efektif membunuh larva *A. aegypti* adalah fraksi n-heksana. Fraksi n-heksana yang paling baik menyebabkan kematian larva dibandingkan fraksi etil asetat maupun etanol 70%. Hasil ini sama dengan hasil penelitian pada ketiga fraksi ekstrak daun sirsak. Perbedaan tingkat keefektifan aktivitas larvasida ditentukan oleh pelarut ekstraknya. Tingkat keefektifan ekstrak biji karika ditentukan oleh pelarut yang dipakai. Sehingga ekstrak karika paling baik aktivitas larvasidanya dengan pelarut n-heksana. Pelarut n-heksana dapat melarutkan minyak esensial tanaman dan senyawa lain yang bersifat non polar (Ghosh et al. 2012).

Nilai LC_{50} pada ekstrak biji karika fraksi n-heksana

Persentase mortalitas larva *A. aegypti* terjadi mulai dari konsentrasi 100 ppm dengan nilai 45%. Penetapan nilai LC_{50} dan LC_{90} digunakan sebagai langkah pertama dalam pemeriksaan bahan alami sebagai larvasida (WHO 2005).

Pada waktu paparan 24 jam didapatkan persentase mortalitas larva sampai 63,33% (Tabel 1). Jumlah kematian larva selama 48 jam disajikan dalam angka mortalitas selama 48 jam dimana jumlah mortalitas meningkat dengan konsentrasi awal kematian larva pada 75 ppm (Tabel 2).

Nilai LC_{50} yang dihasilkan dari efek mortalitas fraksi N-heksana selama 48 jam adalah 103,99 ppm (Gambar 2). Nilai R yang diperoleh adalah 0,979 memiliki makna bahwa memiliki korelasi yang sangat kuat antara mortalitas dan konsentrasi ekstrak biji karika.

Pada fraksi n-heksana mulai konsentrasi 800 ppm dengan waktu paparan 48 jam sudah mencapai mortalitas 100%. Sehingga fraksi ini yang paling toksik dalam membunuh larva. Perbedaan daya toksisitas pada ketiga fraksi ekstrak biji karika disebabkan adanya perbedaan kandungan senyawa yang ada dalam ketiga fraksi ekstrak. Pada ekstrak daun sirsak, fraksi yang paling toksik terhadap larva nyamuk adalah fraksi n-heksana dengan nilai LC_{50} sebesar 73,77 ppm (Komansilan et al. 2012). Untuk mencari nilai LC_{50} digunakan kisaran konsentrasi 0-200 ppm. Kisaran ini diambil berdasarkan asumsi yang didapatkan nilai persentase mortalitas dibawah 50% hingga diatas 50%.

Nilai LC_{50} yang dihasilkan dari efek mortalitas fraksi N-Heksana selama 24 jam adalah 148, 30 ppm. Nilai ini didapatkan dari persamaan linear yang dibentuk pada grafik (Gambar 3). Nilai R yang diperoleh adalah 0,883 menunjukkan bahwa antara mortalitas dan konsentrasi ekstrak biji karika memiliki korelasi yang sangat kuat.

Nilai LC_{50} antara waktu paparan 24 jam dan 48 jam memiliki perbedaan nilai yang besar, dimana nilai LC_{50} pada paparan 48 jam lebih kecil dari paparan pada 24 jam. Hal ini memberikan bukti bahwa senyawa yang berperan sebagai larvasida masih aktif pada air dalam kontainer uji dalam waktu 2 x 24 jam. Selain itu juga dimungkinkan karena mekanisme kerja dari terpenoid sebagai larvasida nabati yang terkandung di dalam ekstrak biji karika terhadap larva nyamuk *A. aegypti*.

Besar nilai LC_{50} pada fraksi n-heksana ekstrak biji karika pada paparan 48 jam mendekati nilai 104 ppm. Besar nilai ini masih dalam kisaran larvasida yang dihasilkan oleh banyak spesies tanaman. Nilai yang masih dapat dipakai sebagai larvasida nabati di bawah 1000 ppm (Ghost et al. 2012).

Hasil yang diperoleh dari data mortalitas larva menunjukkan bahwa fraksi n-heksana yang memberikan aktivitas larvasida yang paling besar. Aktivitas ini sangat erat kaitannya dengan senyawa bioaktif yang ada didalamnya. Senyawa yang terkandung dalam fraksi n-heksana adalah dari golongan terpenoid dengan jenis tertentu. Kandungan senyawa lainnya yaitu alkaloid dan saponin (Supono et al. 2014).

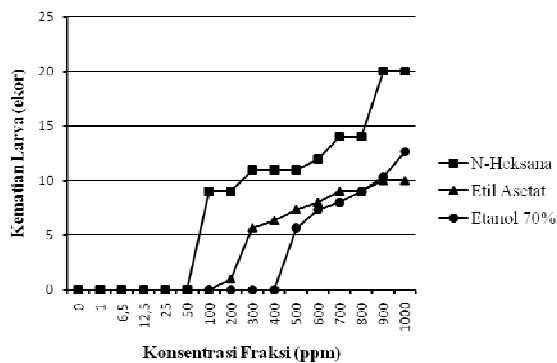
Penelitian karika untuk biolarvasida juga sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Lailatul et al. (2010)

Tabel 1. Kematian larva pada fraksi n-heksana ekstrak biji karika selama 24 jam

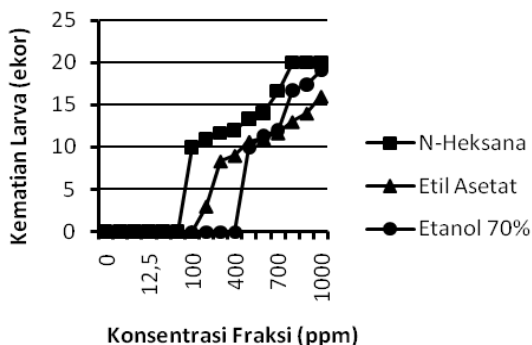
Konsentrasi (ppm)	N	Jumlah larva	Mortalitas rata-rata	Mortalitas (%)
0	3	20	0	0 ^a
50	3	20	0	0 ^a
75	3	20	1,3	6.67 ^b
100	3	20	9	45 ^c
125	3	20	9	45 ^c
150	3	20	10,33	51.67 ^d
175	3	20	11,33	56.67 ^d
200	3	20	12,66	63.33 ^e

Tabel 2. Kematian larva pada fraksi n-heksana ekstrak biji karika selama 48 jam

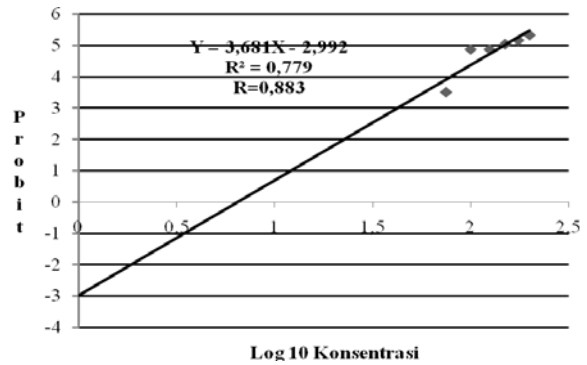
Konsentrasi (ppm)	N	Jumlah larva	Mortalitas rata-rata	Mortalitas (%)
0	3	20	0	0 ^a
50	3	20	0	0 ^a
75	3	20	1,66	41.67 ^b
100	3	20	9,66	48.33 ^c
125	3	20	10,33	51.67 ^c
150	3	20	12,33	61.67 ^d
175	3	20	13	65 ^{de}
200	3	20	14,33	71.67 ^e



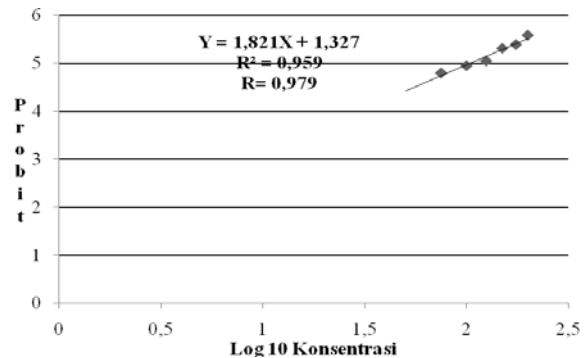
Gambar 1. Jumlah kematian larva *A. aegypti* dikenai ekstrak biji karika fraksi n-heksana, etil asetat dan etanol 70% pada paparan 24 jam



Gambar 2. Jumlah kematian larva yang dikenai ekstrak biji karika fraksi n-heksana, etil asetat dan etanol 70% pada paparan 48 jam



Gambar 3. Persamaan garis antara nilai probit dan log konsentrasi yang membentuk persamaan linear. Persamaan dari fraksi n-heksana pada waktu paparan 24 jam yang terbentuk adalah $Y = 3.681X - 2.992$



Gambar 4. Persamaan garis antara nilai probit dan log konsentrasi yang membentuk persamaan linear. Persamaan yang terbentuk dari fraksi n-heksana pada waktu paparan 48 jam adalah $Y = 1.821 X + 1.327$

yang menyatakan limbah minyak akar wangi dapat membunuh larva *Aedes aegypti*, *Culex* sp., dan *Anopheles sudaicus* selama 24 jam dengan prosentase kematian berturut-turut adalah 56%, 50%, dan 100% dengan nilai LC₅₀ yaitu 1373.6; 7095.4; dan 482.7 ppm. Sedangkan pada konsentrasi 4000 ppm LT₅₀ untuk spesies *Aedes aegypti*, *Culex* sp., dan *Anopheles sudaicus* adalah 353.3; 1351.6 ; dan 168.4 menit. Sehingga dapat diketahui bahwa dengan menggunakan ekstrak karika fraksi n-heksana lebih efisien membunuh larva *A. aegypti* dan menjadikannya sebagai agen hayati untuk biokontrol pengendalian populasi nyamuk *A. aegypti*. Biokontrol yang dilakukan yaitu dengan memutus siklus hidup suatu organisme sehingga populasinya dapat dikendalikan. Salah satunya dengan memutus siklus hidup pada tahapan larva

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak biji karika menyebabkan kematian pada larva nyamuk *A. aegypti* pada waktu paparan 24 dan 48 jam. Nilai LC₅₀ yang dihasilkan dari efek mortalitas fraksi n-Heksana pada paparan selama 24 jam adalah 148, 30 ppm, sedangkan pada paparan 48 jam adalah 103,99 ppm. Sehingga penggunaan ekstrak biji karika dapat dijadikan sebagai biokontrol untuk menekan populasi larva nyamuk *A. aegypti*.

DAFTAR PUSTAKA

- Djallalluddin, Hasni HB, Riana W, Lisda H. 2004. Gambaran penderita pada kejadian luar biasa demam berdarah dengue di Kabupaten Banjar dan Kota Banjarbaru tahun 2001. *Dexa Media* 2 (17): 85-91.
- Ghosh A, Chowdhury N, Chandra G. 2012. Review article: Plant extract as potential mosquito larvicides. *Indian J. Med Res* 135
- Hoedoyo. 1993. Vektor DBD dan penanggulangan. *Majalah Parasitologi Indonesia* 6 (1): 32-41.
- Klaassen CD, Watkins JB. 2003. *Essensial of Toxicology*. Mc Graw Hill Companies, New York.
- Komansilan A, Abadi AL, Yaniwiadi B, Kaligis D. 2012. Effective fraction of n-hexane and identification of active larvasida from sirzak (*Annona muricata*. linn) due to larva of *Aedes aegypti*. *J Basic Appl Chem* 2 (4): 16-20.
- Lailatul KL, Kadarohman A, Ratnaningsih E. 2010. Efektivitas biolarvasida ekstrak etanol limbah penyulingan minyak akar wangi (*Vetiveria zizanoides*) terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*, *Culex* sp., dan *Anopheles sundaicus*. *Jurnal Sains dan Teknologi Kimia* 1 (1): 59-65.
- Laily AN. 2011. Karakterisasi *Carica pubescens* Lenne & K. Koch berdasarkan morfologi, kapasitas antioksidan, dan pola pita protein di Dataran Tinggi Dieng. [Tesis]. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Mehidyastuti E. 2012. Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) Sebagai Larvasida Terhadap Mortalitas Larva *Aedes aegypti*. [Tesis]. Universitas Kristen Duta Wacana. Yogyakarta.
- Moehammadi N. 2005. Potensi biolarvasida ekstrak herba *Ageratum conyzoides* Linn. dan daun *Saccopetalum horsfieldii* Benn. terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* L. *Jurnal Berk Penelitian Hayati* 10: 1-4.
- Octavia D, Andriani S, Qirom MA, Fatahul A. 2008. Keanekaragaman Jenis Tumbuhan Sebagai Pestisida Alam di Savana Bekol Taman Nasional Baluran, Proceeding Seminar Nasional PEI, Bandung.
- Permatasari A, Sugiyarto, Marsusi, Hailu HW. 2015. Transplantation of carica (*Vasconcellea pubescens*) at various altitudes of Mount Lawu, Central Java with treatment of shade and different types of fertilizers. *Nusantara Bioscience* 7(1): 6-14.
- Sembel DT. 2009. *Entomologi Kedokteran*. Andi Offset, Yogyakarta.
- Supono, Sugiyarto, Susilowati A. 2012. Potensi ekstrak biji karika (*Carica pubescens*) sebagai larvasida nyamuk *Aedes aegypti*. *El-Vivo* 2 (1): 78-89.
- WHO. 2005. Guidelines for Laboratory and field testing of mosquito larvicides. WHO/CDS/WHOPES/GCDPP/2005