

## Potensi Larvasida dari Ekstrak Daun Jeruk Bali (*Citrus maxima*) terhadap *Aedes aegypti* dan *Culex quinquefasciatus*

### Larvicidal Potential of Pomelo (*Citrus maxima*) Leaf Extract Against *Aedes Aegypti* and *Culex quinquefasciatus*

Hebert Adrianto<sup>\*a</sup>, Arif Nur Muhammad Ansori<sup>b</sup>, dan Hamidah<sup>c</sup>

<sup>a</sup> Fakultas Kedokteran, Universitas Ciputra. UC Town Citraland, Sambikerep, Surabaya, Indonesia

<sup>b</sup> Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga. Jl. Mulyorejo Kampus C, Surabaya, Indonesia

<sup>c</sup> Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga. Jl. Mulyorejo Kampus C, Surabaya, Indonesia

#### INFO ARTIKEL

##### Article History:

Received: 31 Oct. 2017

Revised: 29 Jan. 2018

Accepted: 29 Jan. 2018

##### Keywords:

larvicidal,  
*Aedes aegypti*,  
*Culex quinquefasciatus*,  
pomelo  
n-hexane

##### Kata kunci:

larvasida,  
*Aedes aegypti*,  
*Culex quinquefasciatus*,  
jeruk bali  
n-heksana

#### ABSTRACT / ABSTRAK

The used of chemical insecticides for mosquito control has caused resistance in the mosquito populations. The aims of this study are to find out Lethal Concentration of non-polar extract from pomelo (*Citrus maxima*) leaf against mosquito larvae after 24 hours exposure. *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* larvae were tested in the study. A Larvicidal assay was using 20 larvae for each concentration in 100 ml solution with 5 replications. The non-polar extract was tested at concentrations of 0 ppm, 500 ppm, 1375 ppm, 2250 ppm, 3125 ppm, and 4000 ppm. The number of larvae mortality was determined after 24 hours exposure. The dead larvae were counted and the data was analyzed using probit analyze. The results showed that non-polar extract from *Citrus maxima* Leaf has potential larvicidal,  $LC_{90} = 880$  ppm for mortality of *Aedes aegypti* larvae,  $LC_{90} = 408$  ppm for mortality of *Culex quinquefasciatus* larvae, and the non-polar extract is more toxic against *Culex quinquefasciatus* than *Aedes aegypti* larvae. The non-polar extract from pomelo (*Citrus maxima*) leaf has the potential of being developed as larvicides for mosquito control.

Penggunaan insektisida kimia untuk mengontrol nyamuk dapat menyebabkan resistensi pada populasi nyamuk. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menemukan nilai Konsentrasi Letal ( $LC_{90}$ ) ekstrak non polar daun jeruk bali (*Citrus maxima*) terhadap nyamuk setelah 24 jam. Larva yang digunakan dalam penelitian ini adalah larva *Aedes aegypti* dan *Culex quinquefasciatus*. Kematian larva dihitung setelah 24 dan 48 jam. Uji larvasida menggunakan 20 ekor larva untuk setiap konsentrasi di dalam 100 ml larutan ekstrak dengan lima replikasi. Ekstrak non polar diuji dengan konsentrasi 0 ppm, 500 ppm, 1.375 ppm, 2.250 ppm, 3.125 ppm, and 4.000 ppm. Angka kematian larva dihitung setelah 24 jam paparan. Data dihitung dan dianalisa dengan analisis probit. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak non polar daun *Citrus maxima* berpotensi sebagai larvasida, Nilai  $LC_{90} = 880$  ppm untuk kematian larva nyamuk *Aedes aegypti*, Nilai  $LC_{90} = 408$  ppm untuk kematian larva nyamuk *Culex quinquefasciatus*, Ekstrak non polar lebih toksik terhadap larva *Culex quinquefasciatus* daripada larva *Aedes aegypti*. Ekstrak non polar dari daun *Citrus maxima* memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai larvasida untuk pengendalian nyamuk.

© 2018 Jurnal Vektor Penyakit. All rights reserved

\*Alamat Korespondensi : email : hebert.rubay@ciputra.ac.id

#### PENDAHULUAN

Nyamuk merupakan serangga ordo Diptera yang dekat dengan kehidupan manusia. Keberadaan nyamuk merugikan manusia karena dapat menularkan berbagai penyakit. Genus nyamuk yang banyak ditemukan di Indonesia adalah nyamuk *Aedes*, *Culex*, dan *Anopheles*.<sup>1</sup> Spesies nyamuk *Ae. aegypti* dapat menularkan virus dengue dan

chikungunya.<sup>1,2</sup> Nyamuk *Cx. quinquefasciatus* dapat menularkan filariasis. *Cx. tritaeniorhynchus* dapat menularkan Japanese B Encephalitis (JE).<sup>1,3,4</sup> *Anopheles* dapat menularkan penyakit malaria.<sup>1,5</sup> Demam Berdarah Dengue (DBD), filariasis, dan malaria merupakan penyakit tropis endemis yang hingga sekarang belum berhasil tuntas dari Indonesia. Kementerian Kesehatan

Republik Indonesia melaporkan bahwa 34 provinsi di Indonesia pada tahun 2016, memiliki kasus DBD. Jumlah kasus tertinggi pada tahun tersebut berada di Provinsi Jawa Timur sebesar 24.005 kasus dan kematian tertinggi juga terjadi di provinsi tersebut sebanyak 340 orang. Malaria masih endemis di provinsi luar Jawa dan kasus paling tinggi ditemukan di Provinsi Papua.<sup>6</sup> Filariasis atau dikenal kaki gajah dilaporkan pada tahun 2015 masih endemis di Indonesia. Terdapat 241 kabupaten/ kota yang endemis kasus filariasis, kasus tinggi ditemukan di Nusa Tenggara Timur, Aceh, Papua Barat, Papua, dan Jawa Barat.<sup>7</sup> Iklim tropis yang dimiliki Indonesia sangat mendukung kelangsungan hidup serangga nyamuk.<sup>8</sup> Reproduksi yang tinggi dan habitat yang bervariasi untuk larva hidup, membuat nyamuk dapat berkembang biak dan menyebar tidak terkendali.

Kementerian Kesehatan Republik Indonesia melakukan upaya penanggulangan penyakit tular vektor dengan fokus utama memutus rantai siklus hidup nyamuk, yaitu pengendalian vektor.<sup>9</sup> Pengendalian vektor yang sering digunakan oleh masyarakat adalah menggunakan larvasida dan insektisida.<sup>10,11</sup> Namun, akhir-akhir ini beberapa kota di Indonesia telah melaporkan adanya kasus resistensi nyamuk yang tidak mati setelah terpapar larvasida maupun insektisida, seperti di Surabaya, Tasikmalaya, dan Ambon.<sup>12-14</sup>

Larvasida nabati adalah harapan dan alternatif untuk pengendalian vektor terutama larva nyamuk.<sup>15</sup> Isnawati dkk. menyebutkan bahwa pengendalian vektor dengan membunuh larva nyamuk merupakan cara yang paling efektif.<sup>16</sup>

Jeruk (*Citrus*) memiliki keanekaragaman dan nilai ekonomi yang sangat tinggi di masyarakat yaitu buahnya sebagai sumber vitamin C dan penyegar minuman. Daun jeruk purut dimanfaatkan sebagai penyedap masakan. Dalam bidang medis sebagai anti karsinogenik, anti diabetes, antioksidan, antiplatelet, dan anti mikroba.<sup>17</sup>

Jeruk bali (*Citrus maxima*) salah satu dari berbagai jenis jeruk yang memiliki daun dan buah paling besar. Penelitian terdahulu yang telah meneliti potensi toksik jeruk (*Citrus*)

terhadap nyamuk adalah Mallick *et al.* melaporkan bahwa ekstrak berbagai fraksi pelarut biji buah jeruk bali dapat menyebabkan mortalitas larva instar tiga nyamuk *Cx. quinquefasciatus*, dimana LC<sub>50</sub> 24 jam dari ekstrak n-heksana, etil asetat, dan metanol berturut-turut adalah 204.60, 640.95, dan 336.36 ppm.<sup>18</sup> Penelitian yang ditemukan sebelumnya bahwa ekstrak polar metanol tiga jenis jeruk, yaitu *C. hystrix*, *C. amblycarpa*, dan *C. maxima* dapat menyebabkan mortalitas pada larva nyamuk *Ae. aegypti* instar 3.<sup>19</sup> Penelitian kali ini menguji ekstrak n-heksana *C. maxima*, dengan memakai pelarut n-heksana yang bersifat non polar. Ansori *et al.* melaporkan bahwa ekstrak polar metanol dan non polar n-heksana dari *C. hystrix* dapat membunuh larva *Ae. aegypti*.<sup>20</sup> Dengan pertimbangan perolehan daun dalam jumlah banyak dan ukuran daun yang cukup besar dibandingkan daun jeruk lainnya, maka diharapkan daun *C. maxima* memiliki potensi yang lebih sebagai larvasida nabati nyamuk. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi larvasida dari ekstrak non polar n-heksana daun jeruk Bali (*C. maxima*) dengan menentukan nilai LC<sub>90</sub> terhadap larva nyamuk *Ae. aegypti* dan *Cx. quinquefasciatus*.

## BAHAN DAN METODE

Daun tua jeruk bali (*C. maxima*), segar dan tidak rusak sebanyak 3 kg didapatkan dari Balai Penelitian Tanaman Jeruk dan Buah Subtropika Kementerian Pertanian di Kota Batu, Malang, Jawa Timur. Larva nyamuk *Ae. aegypti* diperoleh dari Lembaga Penyakit Tropis Universitas Airlangga Surabaya, sedangkan larva *Cx. quinquefasciatus* diperoleh dari Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Timur di Surabaya. Instar larva yang diuji adalah larva instar III.

Cara membuat ekstrak adalah dengan menyiapkan daun *C. maxima* sebanyak tiga kg dicuci bersih lalu dikeringanginkan selama satu bulan. Setelah satu bulan, daun jeruk bali diblender agar didapatkan serbuk daun lalu direndam penuh (maserasi) dengan pelarut n-heksana di dalam stoples kaca kedap udara ukuran besar delapan liter selama seminggu. Setelah satu minggu, maserat disaring dan diuapkan dengan alat *rotary vacuum evaporator* sehingga didapatkan ekstrak.<sup>6,16</sup>

Larutan uji hayati dibuat dengan melarutkan ekstrak daun *C. maxima* dengan akuades dan 1% tween 20. Konsentrasi yang disiapkan untuk uji hayati adalah 0,500, 1375, 2250, 3125, dan 4000 ppm. Masing-masing konsentrasi dibuat lima replikasi. Larutan ekstrak yang telah dibuat dimasukkan 100 ml ke dalam gelas plastik transparan dan diisi 20 ekor larva nyamuk. Selanjutnya dilakukan pemaparan selama 24 jam, setelah itu jumlah larva nyamuk yang mati dihitung dan dicatat.<sup>6,12,16</sup>

Data kematian nyamuk per konsentrasi yang telah didapatkan kemudian dilakukan perhitungan rerata dan persentasenya. Data kematian dilakukan analisis statistik, yaitu probit untuk mendapatkan nilai  $LC_{90}$ .<sup>6,12,13</sup>

## HASIL

Hasil penelitian diketahui bahwa ekstrak non polar daun *C. maxima* menunjukkan aktivitas sebagai biolarvasida, dengan ditemukannya larva nyamuk *Ae. aegypti* dan *Cx. quinquefasciatus* yang mati setelah 24 jam paparan. Nilai konsentrasi letal (*Lethal Concentration/LC*) setelah 24 jam pada masing- masing ekstrak dapat dilihat pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Nilai Konsentrasi Letal ( $LC_{90}$ ) Ekstrak Non Polar *C. maxima* setelah 24 jam

Nyamuk	$LC_{90}$ (ppm) (interval bawah dan atas)
<i>Ae. aegypti</i>	880 (673 – 1.370)
<i>Cx. quinquefasciatus</i>	408 (349- 468)

Analisis probit menunjukkan bahwa ekstrak non polar daun *C. maxima* terbukti lebih toksik dan aktif membunuh 90% larva nyamuk *Cx. quinquefasciatus* instar III dengan konsentrasi paling kecil, yaitu 408 ppm. Tabel 1 menunjukkan bahwa diperlukan ekstrak dengan konsentrasi 880 ppm untuk menyebabkan kematian 90% pada larva nyamuk *Ae. aegypti*.

## PEMBAHASAN

Pada penelitian ini ekstrak non polar daun jeruk bali (*C. maxima*) diujikan terhadap larva nyamuk *Ae. aegypti* dan *Cx. quinquefasciatus* instar III. Pelarut yang digunakan pada saat maserasi serbuk daun adalah pelarut n-heksana. Pelarut n-heksana dapat digunakan untuk mengekstrak senyawa metabolit sekunder yang bersifat non polar seperti lemak (lipid), sterol, kumarin dan beberapa terpenoid.<sup>15,21</sup>

Penggunaan Tween 20 di dalam membuat larutan ekstrak di penelitian ini berfungsi agar ekstrak tidak membentuk gumpalan-gumpalan saat dicampur dengan akuades.<sup>19</sup> Tidak ada pengaruh pemberian Tween 20 terhadap kematian larva nyamuk *Ae. aegypti* dan *Cx. quinquefasciatus* dibuktikan dengan kelompok kontrol (0 ppm) yang mengandung akuades dan Tween 20 tidak dijumpai kematian larva nyamuk (0%).

Alasan penggunaan larva nyamuk stadium instar III dalam penelitian ini karena mengikuti standar WHO, yaitu ukuran sudah lebih panjang dari pada instar I dan II sehingga lebih tahan terhadap faktor fisik dan mekanis saat terjadi pemindahan tempat, ruang gerak terbatas karena hidup di air, serta memiliki waktu yang cukup lama untuk berubah menjadi nyamuk dewasa.<sup>22,23</sup>

Ekstrak non polar daun *C. maxima* berpotensi sebagai larvasida dalam penelitian ini, yang dapat menyebabkan mortalitas pada larva nyamuk *Ae. aegypti* dan *Cx. quinquefasciatus*. Penelitian yang pernah dilakukan oleh Lame et al. pada tahun 2015 bahwa ekstrak fraksi n-heksan daun *Annona senegalensis* dapat menyebabkan mortalitas pada larva *An. gambiae* dan *Cx. quinquefasciatus*.<sup>24</sup> Ekstrak non polar dari jeruk purut (*C. hystrix*) yang diteliti oleh Ansori et al. dapat menyebabkan mortalitas pada larva *Ae. aegypti* pada  $LC_{90}$  = 2.855 ppm.<sup>20</sup>

Potensi tanaman jeruk (*Citrus*) sebagai larvasida sudah dibuktikan di penelitian sebelumnya pada tahun 2014 dengan ekstrak metanol *C. hystrix*, *C. amblycarpa*, dan *C. maxima* bersifat toksik terhadap larva

nyamuk.<sup>19</sup> Sattar *et al.* menemukan bahwa ekstrak daun *C. sinensis* bersifat larvasida terhadap nyamuk *Cx. quinquefasciatus*.<sup>25</sup> Mallick *et al.* melaporkan bahwa ekstrak berbagai fraksi pelarut biji buah jeruk bali dapat menyebabkan mortalitas larva nyamuk *Cx. quinquefasciatus*, dimana LC<sub>50</sub> 24 jam dari ekstrak n-heksana, etil asetat, dan metanol berturut-turut adalah 204.60, 640.95, dan 336.36 ppm.<sup>18</sup> Dari angka LC<sub>50</sub> tersebut disimpulkan bahwa ekstrak n-heksan biji buah jeruk bali lebih toksik karena memiliki LC<sub>50</sub> yang lebih kecil. Penelitian ini juga melakukan pengulangan pengujian daya bunuh jeruk bali terhadap larva nyamuk *Ae. aegypti* dan *Cx. quinquefasciatus* tetapi menggunakan daun. Pertimbangan menggunakan daun dalam penelitian ini apabila nantinya ekstrak jeruk bali diproduksi massal sebagai pengendalian vektor maka daun dapat diperoleh dalam jumlah yang banyak dibandingkan biji buah.

Konsentrasi ekstrak yang diperlukan untuk menyebabkan kematian 90% pada larva nyamuk *Ae. aegypti* adalah 880 ppm dan larva nyamuk *Cx. quinquefasciatus* sebesar 480 ppm. Berbeda dengan penelitian sebelumnya yang menemukan bahwa ekstrak polar metanol daun *C. maxima* memiliki konsentrasi sebesar 6.369 ppm untuk dapat membunuh 95% larva nyamuk *Ae. aegypti*.<sup>19</sup> Hal ini dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan daya bunuh larva nyamuk dari ekstrak polar dan ekstrak non polar daun *C. maxima*. Perbandingan daya bunuh dari ekstrak polar dan ekstrak non polar terhadap nyamuk juga dibuktikan oleh Ansori *et al.* bahwa ekstrak non polar daun jeruk (*C. hystrix*) memiliki nilai LC yang lebih kecil dibandingkan ekstrak polar.<sup>20</sup> Nzelibe dan Albaba menyebutkan bahwa ekstrak non polar n-heksan biji *Persea americana* memiliki nilai LC yang lebih kecil (1.972 ppm) dibandingkan ekstrak polar etanol (10.242 ppm) dan etilasetat (9.016 ppm).<sup>26</sup> Arti LC dalam aplikasi pembuatan ekstrak sebagai larvasida adalah semakin kecil LC maka jumlah ekstrak yang dibutuhkan semakin sedikit. Semakin besar nilai LC maka semakin banyak ekstrak yang dibutuhkan untuk membunuh larva nyamuk. Secara sederhana, pemakaian ekstrak non polar tidak membutuhkan jumlah banyak dibandingkan

ekstrak polar (metanol) penelitian sebelumnya untuk membunuh larva nyamuk. Perbedaan daya bunuh ekstrak polar dan non polar dari *C. maxima* kemungkinan adanya perbedaan metabolit sekunder dan perbedaan tempat tumbuhnya *C. maxima*. Belum adanya data metabolit sekunder ini diharapkan dapat terungkap di masa mendatang.

Daun *C. maxima* mengandung metabolit sekunder, seperti alkaloid, flavonoid, steroid, triterpenoid, minyak atsiri citronellol dan limonoid, serta saponin.<sup>27,28</sup> Senyawa tersebut berpotensi toksik terhadap serangga. Cara kerja alkaloid sebagai insektisida dilaporkan dapat mempengaruhi protein kinase yang berperan dalam sinyal transduksi dan perkembangan sel maupun jaringan, menghambat enzim asetilkolinesterase. Alkaloid juga berpotensi sebagai *stomach poisoning* atau racun perut. Alkaloid dapat merusak saluran pencernaan dengan cara merusak sel epitel *midgut* dan *gastric caecum* larva sehingga larva mengalami kematian.<sup>29-31</sup> Saponin bekerja dengan merusak membran kutikula larva, merusak membran sel, menurunkan nafsu makan, dan mengiritasi saluran pencernaan.<sup>32,33</sup> Kandungan metabolit sekunder seperti alkaloid, minyak atsiri, saponin, dan flavonoid dapat mempengaruhi sistem saraf dan sistem pernafasan pada larva sehingga menyebabkan kematian.<sup>8,34</sup> Limonoid yang merupakan minyak esensial dalam jeruk dapat menyebabkan hilangnya koordinasi organ larva *Ae. aegypti*.<sup>19</sup>

Bukti larva nyamuk mati akibat pemberian ekstrak adalah adanya perbedaan dengan kelompok kontrol (0 ppm) yang masih hidup dan bila larva disentuh maka larva akan bergerak. Larva nyamuk pada kelompok perlakuan tidak bergerak ketika disentuh dengan batang pengaduk, tubuh larva terbenam di dasar gelas, dan tubuh larva nyamuk berwarna putih. Dengan demikian, kandungan metabolit sekunder di dalam daun *C. maxima* berpotensi sebagai larvasida nyamuk.

## KESIMPULAN

Ekstrak non polar dari daun *C. maxima* bersifat toksik dan dapat menyebabkan mortalitas *Ae. aegypti* dan *Cx.*

*quinquefasciatus*. Ekstrak non polar dari daun *C. maxima* memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai larvasida nyamuk.

#### SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang profil metabolit sekunder ekstrak polar dan ekstrak non polar daun *C. maxima* dengan analisis kromatografi lapis tipis termasuk ada tidaknya pengaruh perbedaan lokasi dengan ada tidaknya metabolit sekunder tertentu. Selain itu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut uji toksisitas ekstrak non polar daun *C. maxima* terhadap nyamuk dewasa.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih diberikan kepada Aulia Puspita Supriyadi, Maria Veronika Kartjito, Fauziah Rizqi di Fakultas Sains dan Teknologi Unair yang telah membantu di laboratorium. Staf peneliti di Balai Penelitian Tanaman Jeruk dan Buah Subtropika, Lembaga Penyakit Tropis Universitas Airlangga, dan Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Timur atas kerjasama yang baik membantu peneliti dalam memperoleh daun dan larva nyamuk.

#### DAFTAR PUSTAKA

1. Lailatul L, Kadarohman A, Eko R. Efektivitas biolarvasida ekstrak etanol limbah penyulingan minyak akar wangi (*Vetiveria zizanoides*) terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*, *Culex sp.*, dan *Anopheles sundaicus*. *J Sains dan Teknol Kim*. 2010;1(1):59-65.
2. Bisimwa N, Angwenyi S, Kinimi E, Shayo M, Bwihangane B, Kasanga C. Molecular detection of arboviruses in *Aedes* mosquitoes collected from Kyela district, Tanzania. *Rev Med Vet (Toulouse)*. 2016;167(5-6):138-144.
3. Selvakumar B, Gokulakrishnan J, Elanchezhiyan K, Deepa J. Mosquito larvicidal, ovicidal and pupicidal activities of *Annona reticulata* Linn (annonaceae) against *Aedes aegypti* (Linn.), *Anopheles stephensi* Liston and *Culex quinquefasciatus* (Say) (diptera : culicidae). *Int J Recent Sci Res*. 2015;6(2):2690-2696.
4. Widiarti, Tunjungsari R, Garjito TWA. Pendekatan molekuler konfirmasi vektor japanese encephalitis (JE) di kota Surabaya Jawa Timur. *Vektora*. 2014;6(2):73-79.

5. Lestari S, Adrial, Rasyid R. Identifikasi nyamuk *Anopheles* sebagai vektor malaria dari survei larva di Kenagarian Sungai Pinang, kecamatan koto XI tarusan, kabupaten pesisir selatan. *J Kesehat Andalas*. 2016;5(3):656-660.
6. Kementerian Kesehatan RI. *Profil Kesehatan Indonesia Tahun 2016*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia; 2017.
7. Kementerian Kesehatan RI. *Profil Kesehatan Indonesia Tahun 2015*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia; 2016.
8. Andriani L, Yulianis, Sukmawati N. Uji aktivitas larvasida terhadap larva *Culex sp* dan *Aedes sp* dari ekstrak daun alpukat. *Pros Semin Nas Work "Pengembangan Terkini Sains Farm dan Klin 5."* 2015:97-102.
9. Indonesia KKR. *Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor : 374/Menkes/Per/III/2010 Tentang Pengendalian Vektor*. Jakarta; 2012:1-94.
10. Boesri H, Heriyanto B, Susanti L, Handayani SW. Uji repelen (daya tolak) beberapa ekstrak tumbuhan terhadap gigitan nyamuk *Aedes aegypti* vektor demam berdarah dengue. *J Vektora*. 2015;7(2):79-84.
11. Hayatie L, Biworo A, Suhartono E. Aqueous extracts of seed and peel of *Carica Papaya* against *Aedes aegypti*. *J Med Bioeng*. 2015;4(5):417-421.
12. Mulyatno KC, Yamanaka A, Ngadino, Konishi E. Resistance of *Aedes aegypti* (L.) larvae to temephos in Surabaya, Indonesia. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 2012;43(1):29-33.
13. Fuadzy H, Wahono T, Widawati M. Susceptibility of *Aedes aegypti* larvae against temephos in dengue hemorrhagic fever endemic area Tasikmalaya City. *J Aspirator*. 2017;9(1):29-34.
14. Tasane I. Uji resistensi insektisida malathion 0,8% terhadap nyamuk *Aedes aegypti* di wilayah fogging kantor kesehatan pelabuhan kelas II Ambon. *J Kesehat Masy*. 2015;3(3):162-174.
15. El-bokl MM. Toxicity and bioefficacy of selected plant extracts against the mosquito vector *Culex pipiens* L. (diptera : culicidae). *J Entomol Zool Stud*. 2016;4(2):483-488.
16. Isnawati R, Murni, Nelfita. Uji daya bunuh ekstrak daun *Nerium oleander* L. terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* dan *Culex quinquefasciatus*. *J Vektor Penyakit*. 2015;9(2):59-64.

17. Manorenjitha MS, Zairi J, Ling SK, Mailina J, Nuziah H. Chemical constituents of the fruit peel from white flesh Citrus grandis (L.) osbeck. *Int J Pharma Bio Sci.* 2016;7(1):267-278.
18. Mallick S, Mukherjee D, Ray AS, Chandra G. Larvicidal efficacy of fruit peel extracts of Citrus maxima against Culex quinquefasciatus. *J Mosq Res.* 2016;6(20):1-8.
19. Adrianto H, Yotopranoto S, Hamidah. Efektivitas ekstrak daun jeruk purut (Citrus hystrix), jeruk limau (Citrus amblycarpa), dan jeruk bali (Citrus maxima) terhadap larva Aedes aegypti. *J Aspirator.* 2014;6(1):1-6.
20. Ansori ANM, Supriyadi AP, Kartjito MV, Rizqi F, Adrianto H, Hamidah. Biolarvicidal effectivities of polar and non-polar extract fraction from kaffir lime (Citrus hystrix) leaf against 3rd instar larvae of Aedes aegypti. *J Biol Eng Res Rev.* 2015;2(2):14-17.
21. Tanaya V, Retnowati R, Suratmo. Fraksi semi polar dari daun mangga kasturi (Mangifera casturi Kosterm). *Kim Student J.* 2015;1(1):778-784.
22. World Health Organization. *Guidelines For Laboratory and Field Testing of Mosquito Larvicides.* World Health Organization; 2005.
23. Tennyson S, Samraj DA, Jeyasundar D, Chalieu K. Larvicidal efficacy of plant oils against the dengue vector Aedes aegypti (L.) (diptera: culicidae). *Middle-East J Sci Res.* 2013;13(1):64-68.
24. Lame Y, Nukenine EN, Pierre DYS, Elijah AE, Esimone CO. Laboratory evaluations of the fractions efficacy of Annona senegalensis (annonaceae) leaf extract on immature dtage development of malarial and filarial mosquito vVectors. *J Arthropod Borne Dis.* 2015;9(2):226-237.
25. Sattar M, Iqbal MN, Ashraf A, et al. Larvicidal efficacy of Citrus sinensis extracts against Culex quinquefasciatus. *PSM Microbiol.* 2016;1(2):56-61.
26. Nzelibe H, Albaba S. Larvicidal potential of Persea americana seed extract against Aedes vittatus mosquito. *Br J Appl Sci Technol.* 2015;11(2):1-9.
27. Azizah N, Jayuska A, Harlia. Aktivitas anti rayap ekstrak daun jeruk bali (Citrus maxima (Burm.) Merr.) terhadap rayap tanah Coptotermes sp. *J Kim Khatulistiwa.* 2015;4(3):33-39.
28. Prasad DA, Prasad BR, Prasad DK, Shetty P, Kumar KNS. GC-MS compositional analysis of essential oil of leaf and fruit rind of Citrus maxima (Burm.) Merr. from Coastal Karnataka, India. *J Appl Pharm Sci.* 2016;6(5):68-72.
29. Velu K, Elumalai D, Hemalatha P, Babu M, Janaki A, Kaleena P. Phytochemical screening and larvicidal activity of peel extracts of Arachis hypogaea against chikungunya and malarial vectors. *Int J Mosq Res.* 2015;2(1):1-8.
30. Ojha K, Pattabhiramaiah M. Evaluation of phytochemicals, larvicidal activity of Jatropha curcas seed oil against Aedes aegypti. *Int J Appl Res Stud.* 2013;2(12):1-12.
31. Ni'mah T, Oktarina R, Mahdalena V, Asyati D. Potensi ekstrak biji duku (Lansium domesticum Corr) terhadap Aedes aegypti. *Bul Penelit Kesehat.* 2015;43(2):131-136.
32. Jawale CS. Larvicidal activity of some saponin containing plants against the dengue vector Aedes Aegypti. *Trends Biotechnol Res.* 2014;3(1):1-11.
33. D'Incao MP, Gosmann G, Machado V, Fiuza LM, Moreira G. Effect of saponin extracted from Passiflora alata Dryander (passifloraceae) on development of the Spodoptera frugiperda (J.E. Smith) (lepidoptera, noctuidae). *Int J Plant Res.* 2012;2(5):151-159.
34. Lumowa T, Nova P. Larvicidal Activity of Syzygium polyanthum W. Leaf Extract Against Aedes aegypti L Larvae. *Prog Heal Sci.* 2015;5(1):102-106.