

Efektivitas Biolarvasida Ekstrak Fraksi Polar Daun *Citrus hystrix* dan *Citrus aurantifolia* terhadap *Culex quinquefasciatus*

Biolarvicidal Effectivities of Polar Fraction Extract from Citrus hystrix and Citrus aurantifolia Leaf against Culex quinquefasciatus

Arif Nur Muhammad Ansori* , Hebert Adrianto , dan Hamidah

Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga. Jl. Mulyorejo Kampus C, Surabaya, Indonesia

Fakultas Kedokteran, Universitas Ciputra. UC Town Citraland, Sambikerep, Surabaya, Indonesia

Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga. Jl. Mulyorejo Kampus C, Surabaya, Indonesia

INFO ARTIKEL

Article History:

Received: 7 Dec. 2017

Revised: 30 Apr. 2018

Accepted: 8 May 2018

Keywords:

Biolarvicide

Citrus aurantifolia

Citrus hystrix

Culex quinquefasciatus

Kata kunci:

Biolarvasida

Citrus aurantifolia

Citrus hystrix

Culex quinquefasciatus

A B S T R A C T / ABSTRAK

*The development of resistance to chemical insecticides against mosquitoes has been considered as a setback in vector control. This study was aimed to identify Lethal Concentration 90% (LC₉₀) of polar fraction extract from *Citrus hystrix* and *Citrus aurantifolia* leaves as biolarvicide against mosquito larvae after 24 hours of exposure. This study was an experimental research based on a Completely Randomized Design (CRD). The polar fraction extract of *C. hystrix* and *C. aurantifolia* were tested in concentrations of 0 ppm, 500 ppm, 1375 ppm, 2250 ppm, 3125 ppm, and 4000 ppm against the 3rd instar larvae of *Culex quinquefasciatus*. Each treatment was done in five independent replications. The numbers of deceased mosquito larvae were determined after 24 hours of treatment and analyzed by probit. The results showed that the polar fraction extract of *C. hystrix* and *C. aurantifolia* have bio-larvicidal activity against the 3rd instar larvae of *Cx. quinquefasciatus* at LC₉₀ of 1,653 ppm and 2,797 ppm, respectively. In conclusion, the polar fraction extract of *C. hystrix* leaf is more toxic than *C. aurantifolia* leaf's against *Cx. quinquefasciatus* larvae.*

Perkembangan resistensi terhadap insektisida kimia di antara spesies nyamuk telah dianggap sebagai kemunduran dalam pengendalian vektor. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui Lethal Concentration 90% (LC₉₀) ekstrak fraksi polar daun *C. hystrix* dan *C. aurantifolia* sebagai biolarvasida terhadap larva nyamuk setelah paparan 24 jam. Penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Ekstrak fraksi polar daun *C. hystrix* dan *C. aurantifolia* diuji dengan konentrasi 0 ppm, 500 ppm, 1.375 ppm, 2.250 ppm, 3.125 ppm, dan 4.000 ppm terhadap larva nyamuk *Cx. quinquefasciatus* instar III. Setiap konsentrasi dilakukan replikasi sebanyak lima kali. Jumlah larva nyamuk yang mati dihitung setelah 24 jam. Setelah itu, data dari larva nyamuk yang mati dianalisis menggunakan probit. Hasil penelitian ini mengungkapkan bahwa ekstrak fraksi polar daun *C. hystrix* dan *C. aurantifolia* memiliki aktivitas sebagai biolarvasida terhadap larva nyamuk *Cx. quinquefasciatus* instar III dengan LC₉₀ = 1.653 ppm dan 2.797 ppm, secara berurutan. Kesimpulan dari penelitian ini adalah ekstrak fraksi polar dari daun *C. hystrix* lebih toksik dibandingkan dengan *C. aurantifolia* terhadap larva nyamuk *Cx. quinquefasciatus* instar III.

© 2018 Jurnal Vektor Penyakit. All rights reserved

*Alamat Korespondensi : email : arif.nma-17@fkh.unair.ac.id

PENDAHULUAN

Penyakit akibat vektor yang disebabkan oleh nyamuk (Diptera: Culicidae) menggambarkan penyebab morbiditas dan mortalitas yang luar biasa di negara-negara berkembang.¹ Secara khusus, nyamuk telah menghadirkan ancaman besar karena dapat bertindak sebagai vektor yang sangat efektif

untuk penyebaran agen patogen dan parasit.^{2,3}

Cx. quinquefasciatus adalah vektor utama filariasis dan vektor potensial dari *Dirofilaria immitis*, *West Nile Virus* (WNV), virus *Rift Valley fever*, *avian pox*, dan protozoa seperti *Plasmodium relictum* yang menyebabkan malaria pada burung.⁴ Selain itu, *Cx. quinquefasciatus* dapat menularkan

Japanese Encephalitis Virus (JEV), St. Louis Encephalitis Virus (SLEV), virus Reticuloendotheliosis, Murray Valley Encephalitis, dan Reovirus Tipe 3.⁵ Secara global, sebanyak 120 juta orang telah terinfeksi filariasis yang menyebar pada 83 negara di dunia. Filariasis masih menjadi salah satu masalah kesehatan utama yang ada di negara-negara Asia Tenggara, termasuk Indonesia.⁶ Indonesia adalah negara endemis filariasis yang menduduki peringkat kedua di dunia setelah India.⁷ Selain itu, tiga spesies cacing yang menyebabkan filariasis, yaitu *Wuchereria bancrofti*, *Brugia malayi*, dan *Brugia timori*. Semua spesies ini ditemukan di Indonesia, tetapi lebih dari 70% kasus filariasis di Indonesia diakibatkan oleh infeksi *Brugia malayi*.⁸

Pencegahan perkembangbiakan nyamuk dan mengendalikan penyakit untuk meningkatkan kualitas lingkungan dan kesehatan masyarakat adalah hal yang sangat penting. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia melakukan upaya penanggulangan penyakit akibat nyamuk dengan fokus utama memutus rantai siklus hidup nyamuk, yaitu pengendalian vektor.⁹ Insektisida yang berbeda dari semua kelompok bahan kimia telah digunakan untuk mengendalikan *Cx. quinquefasciatus* yang menunjukkan efisiensi rendah dan memunculkan galur yang resisten. Organoklorida, organofosfat, karbamat, dan piretroid tidak memberikan hasil yang menjanjikan untuk mengendalikan nyamuk ini dalam beberapa tahun terakhir.¹⁰ Nyamuk yang resisten terhadap insektisida telah banyak dilaporkan pada berbagai negara di Asia,¹¹⁻¹³ termasuk pada berbagai daerah di Indonesia.¹⁴⁻¹⁶ Selain itu, kandungan kimia sintetik dalam insektisida kimia pada jangka waktu yang lama dapat menyebabkan gangguan kesehatan.⁹

Kondisi ini memunculkan gagasan untuk pengendalian vektor yang lebih aman terhadap manusia dan ramah lingkungan, seperti pengendalian vektor dengan menggunakan insektisida atau larvasida yang berbahan dasar dari tanaman.⁹ *Citrus* (Rutaceae) adalah salah satu tanaman yang mempunyai nilai ekonomi dan populer karena memiliki peranan penting dalam cita rasa masakan, terutama di negara Asia Tenggara.¹⁷

Disisi lain, daun *Citrus* mengandung senyawa kimia yang merupakan metabolit sekunder, seperti minyak atsiri, flavonoid, saponin, steroid, dan terpen.^{18,19}

Hasil penelitian sebelumnya telah menemukan bahwa ekstrak metanol tiga jenis jeruk, yaitu *C. hystrix*, *C. amblycarpa*, dan *C. maxima* dapat menyebabkan mortalitas pada larva nyamuk *Ae. aegypti* instar III.⁹ Selain itu, ekstrak polar dan non polar dari *C. hystrix* dapat membunuh larva *Ae. aegypti*.²⁰ Diharapkan dari keunggulan tersebut, ekstrak daun *Citrus* dapat diproyeksikan menjadi larvasida alternatif masa depan yang lebih aman dan ramah lingkungan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi biolarvasida dari ekstrak fraksi polar daun *C. hystrix* dan *C. aurantifolia* dengan menentukan nilai LC₅₀ terhadap larva nyamuk *Cx. quinquefasciatus*.

BAHAN DAN METODE

Penyediaan daun dan larva nyamuk

Daun *C. hystrix* dan *C. aurantifolia* didapatkan dari Pasuruan, Jawa Timur, Indonesia, seperti penelitian sebelumnya.²⁰ Larva *Cx. quinquefasciatus* diperoleh dari Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Timur, Surabaya. Instar larva yang diuji adalah larva instar III.

Pembuatan ekstrak

Daun *C. hystrix* dan *C. aurantifolia* dicuci bersih lalu dikeringangkan selama satu bulan. Serbuk daun kering sebanyak satu kilogram dimaserasi dengan pelarut metanol selama seminggu. Setelah itu, maserat disaring dan diuapkan dengan alat *rotary evaporator* sehingga didapatkan ekstrak. Ekstrak kental yang diperoleh ditimbang terlebih dahulu dalam (mg) sesuai yang diperlukan kemudian dilarutkan dengan lima tetes *tween 20* sebelum dilarutkan dengan air akuades supaya ekstrak tersebut tidak membentuk gumpalan-gumpalan saat pemberian air akuades.

Uji hayati

Larutan uji hayati dibuat dengan melarutkan ekstrak daun *C. hystrix* dan *C. aurantifolia* dengan akuades dan *tween 20*. Konsentrasi yang disiapkan untuk uji hayati

adalah 0, 500, 1.375, 2.250, 3.125, dan 4.000 ppm. Masing-masing konsentrasi dibuat 5 replikasi. Larutan ekstrak yang telah dibuat dimasukkan 100 ml ke dalam gelas plastik transparan dan diisi 20 ekor larva nyamuk. Kemudian dilakukan pemaparan selama 24 jam, setelah itu larva yang mati dihitung dan dicatat. Selain itu, pada kelompok kontrol menggunakan air akuades dan juga ditambahkan lima tetes *tween 20*, agar semua larutan ekstrak maupun kontrol sama-sama mengandung *tween 20* serta tidak memberikan kesan kematian larva disebabkan oleh *tween 20*. Metode yang digunakan pada penelitian pada metode yang dilakukan oleh Adrianto *et al* dan Ansori *et al.*^{9,20}

Analisis data

Data kematian larva nyamuk untuk setiap konsentrasi yang telah didapatkan kemudian dilakukan perhitungan rerata dan persentasenya lalu dibuat tabel. Data kematian larva nyamuk juga dianalisis dengan perangkat lunak pengolah data serta menggunakan analisis probit untuk mendapatkan nilai Lc_{90} .

HASIL

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak fraksi polar daun *C. hystrix* dan *C. aurantifolia* memperlihatkan aktivitas sebagai biolarvasida terhadap larva nyamuk *Cx. quinquefasciatus* instar III setelah 24 jam paparan. Nilai LC_{90} pada masing-masing ekstrak dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Nilai Konsentrasi Letal (Lc_{90})
Ekstrak Fraksi Polar *C. hystrix* dan
C. aurantifolia setelah 24 Jam

Ekstrak	Lc_{90} (ppm) (interval bawah dan atas)
<i>C. hystrix</i>	1.653 (1.461-1.932)
<i>C. aurantifolia</i>	2.797 (2.518-3.201)

Dari analisis probit menunjukkan bahwa ekstrak fraksi polar daun *C. hystrix* lebih bersifat toksik dan aktif membunuh 90% larva nyamuk *Cx. quinquefasciatus* instar III

dengan konsentrasi paling kecil, yaitu 1.653 ppm. Diperlukan ekstrak fraksi polar daun *C. aurantifolia* dengan konsentrasi 2.797 ppm untuk menyebabkan kematian 90% pada larva nyamuk *Cx. quinquefasciatus* instar III (Tabel 1). Pada perlakuan kontrol, tidak ada larva yang mati karena hanya mengandung akuades sebagai media hidup larva dan *tween 20* yang tidak toksik terhadap larva.

PEMBAHASAN

Pada penelitian ini ekstrak fraksi polar daun *C. hystrix* dan *C. aurantifolia* diujikan terhadap larva nyamuk *Cx. quinquefasciatus* instar III. Larva instar III dipilih karena sesuai dengan standar yang ditetapkan oleh WHO.²¹ Semakin tinggi tingkat instar, semakin tinggi pula daya tahan hidupnya. Larva instar III dan IV merupakan instar dengan ketahanan tubuh terbaik. Penggunaan metanol sebagai pelarut dalam penelitian ini dibandingkan pelarut lain karena metanol merupakan pelarut universal yang dapat melarutkan metabolit sekunder yang bertindak sebagai biolarvasida, yang bersifat polar, semi polar, dan non polar. Selain itu, beberapa penelitian yang menggunakan banyak pelarut menemukan bahwa pelarut metanol memiliki hasil yang baik dibandingkan pelarut lain seperti heksana, benzena, dan kloroform.⁹ Disisi lain, kemampuan untuk menetralisir senyawa yang bersifat toksik juga lebih baik daripada larva instar I-II.⁹ Kematian larva nyamuk *Cx. quinquefasciatus* instar III setelah paparan selama 24 jam oleh ekstrak fraksi polar daun *C. hystrix* dan *C. aurantifolia* disebabkan adanya senyawa-senyawa dalam ekstrak tersebut yang bersifat larvasida.

Penelitian sebelumnya telah menemukan bahwa ekstrak fraksi polar dari *C. hystrix*, *C. amblycarpa*, dan *C. maxima* yang memiliki potensi yang bagus sebagai biolarvasida. Ekstrak daun *C. hystrix* memiliki biotoksitas tertinggi terhadap larva nyamuk *Ae. aegypti* instar III dibandingkan dengan *C. amblycarpa* dan *C. maxima* dengan LC_{95} sebesar 3.176 pasca paparan selama 24 jam.⁹ Lebih jauh akan hal ini, Ansori *et al.* telah melakukan uji efek biotoksitas ekstrak fraksi polar dan non polar dari *C. hystrix* terhadap larva nyamuk *Ae. aegypti* instar III dengan nilai

LC₉₀ sebesar 3.180 ppm dan 2.885 ppm, secara berurutan.²⁰ Selain itu, peneliti lain juga telah melakukan uji aktivitas biolarvasida pada *Citrus grandis*,²² *Citrus sinensis*,²³ *Citrus limon*,²⁴ *Citrus reticulata*,²⁴ dan *Citrus maxima*.²⁵ Hasil ini sangat mendukung potensi *Citrus* (Rutaceae) sebagai biolarvasida serta menjadikan data pendukung untuk aplikasi industri yang dapat memiliki nilai komersial dan nilai manfaat yang lebih tinggi. Namun, sejauh ini data terkait *Cx. quinquefasciatus* masih sangat sedikit.

Saponin, flavonoid, minyak atsiri, dan steroid merupakan metabolit sekunder yang terkandung dalam daun *Citrus*. Senyawa alkaloid dapat bertindak sebagai *stomach poisoning* atau racun perut. Oleh karena itu, apabila masuk ke dalam tubuh larva maka organ pencernaannya akan terganggu.^{18,19} Selain itu, senyawa limonoid adalah minyak esensial pada daun *Citrus* yang dapat menyebabkan hilangnya koordinasi organ pada larva nyamuk. Golongan senyawa steroid dapat mengiritasi saluran pencernaan larva nyamuk yang mengakibatkan gejala *anxiety* serta kematian.⁹ Golongan senyawa saponin yang terkandung dalam ekstrak dapat merusak organ pencernaan dan merusak membran sel larva nyamuk instar III. Selain itu, golongan senyawa terpenoid berpotensi sebagai *antifeedant* terhadap serangga dan bersifat larvasida.²⁶ Disisi lain, peneliti lain menemukan adanya perubahan-perubahan histologi yang terjadi pada larva akibat paparan bahan aktif dari ekstrak tanaman yang bersifat biolarvasida.²⁷

KESIMPULAN

Ekstrak fraksi polar daun *C. hystrix* dan *C. aurantifolia* memiliki potensi sebagai larvasida nyamuk *Cx. quinquefasciatus* instar III. Nilai LC₉₀ ekstrak fraksi polar daun *C. hystrix* dan *C. aurantifolia* masing-masing adalah 1.653 ppm dan 2.797 ppm.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang screening fitokimia ekstrak fraksi polar daun *C. hystrix* dan *C. Aurantifolia* serta kajian penggunaan fraksi lainnya yang belum diteliti. Selain itu, perlu dilakukan penelitian

lanjutan terkait biotoksitas ekstrak fraksi polar daun *C. hystrix* dan *C. aurantifolia* terhadap nyamuk stadium dewasa serta tambahan analisis berbasis molekuler atau histologinya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih diberikan kepada Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi (Kemristekdikti) atas Program Kreativitas Mahasiswa (PKM) dan Beasiswa Program Magister Menuju Doktor untuk Sarjana Unggul (PMDSU) - Batch III. Selain itu, kepada Aulia Puspita Supriyadi, Fauziah Rizqi, dan Maria Veronika Kartjito atas bantuan di laboratorium dan administrasi.

DAFTAR PUSTAKA

1. Tolle MA. Mosquito-borne Diseases. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care*. 2009;39(4):97-140. doi:10.1016/j.cppeds.2009.01.001.
2. World Health Organization. *A Global Brief on Vector-Borne Diseases*. Geneva: World Health Organization; 2014.
3. World Health Organization. Zika Virus Fact Sheet. World Health Organization. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/zika/en/>. Published 2016.
4. Bhattacharya S, Basu P, Sajal Bhattacharya C. The Southern House Mosquito, *Culex quinquefasciatus*: profile of a smart vector. *J Entomol Zool Stud JEZS*. 2016;73(42):73-81.
5. Sakthivadivel M, Saravanan T, Tenzin G, et al. Laboratory Evaluation of Two Meliaceae Species as Larvicides against *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). *Vector Biol J*. 2016;1(2):2-10. doi:10.4172/2473-4810.1000110.
6. World Health Organization. Global Programme to Eliminate Lymphatic Filariasis: Progress Report 2000-2009 and Strategic Plan 2010-2020. *World Health*. 2010.
7. Elkanah O, Elkanah D, Wahedi J, Samaila A, Kela S, Anyanwu G. Lymphatic Filariasis in Muri Emirate: Clinical and Parasitological Studies in Jalingo LGA, Taraba State, Nigeria. *Asian J Med Heal*. 2017;6(1):1-7. doi:10.9734/AJMAH/2017/33898.
8. Sapada E, Anwar C, Salni, Priadi D. Environmental and socioeconomics factors associated with cases of clinical filariasis in Banyuasin District of South Sumatera, Indonesia. *Int J Collab Res Intern*

- Med Public Heal.* 2015;7(6):132-140.
9. Adrianto H, Yotopranoto S, Hamidah H. Efektivitas Ekstrak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix*), Jeruk Limau (*Citrus ambycarpa*), dan Jeruk Bali (*Citrus maxima*) terhadap Larva Aedes aegypti. *ASPIRATOR - J Vector-borne Dis S t u d . 2 0 1 4 ; 6 (1) : 1 - 6 .* doi:10.22435/ASPIRATOR.V6I1.3516.1-6.
 10. Braga IA, Valle D. *Aedes aegypti*: history of control in Brazil. *Epidemiologia e Serviços de Saúde.* 2007; 16 (2) : 113 - 118 . doi:10.5123/S1679-49742007000200006.
 11. Liu H, Lu Y, Liu Q, et al. Comparison of pyrethroid resistance in adults and larvae of *Culex pipiens pallens* (Diptera: Culicidae) from four field populations in China. *J Econ Entomol.* 2013;106(1):360-365. doi:10.1603/EC11439.
 12. Low VL, Chen CD, Lim PE, et al. First molecular genotyping of insensitive acetylcholinesterase associated with malathion resistance in *Culex quinquefasciatus* Say populations in Malaysia. *Pest Manag Sci.* 2013;69(12):1362-1368. doi:10.1002/ps.3512.
 13. Sornpeng W, Pimsamarn S, Akksilp S. Resistance to Temephos of *Aedes aegypti* Linnaeus Larvae (Diptera: Culicidae). *J Heal Sci.* 2009;18(5):650-654.
 14. Mulyaningsih B, UmniyatI SR, Hadianto T. Detection of Nonspecific Esterase Activity in Organophosphate Resistant Strain of *Aedes Albopictus* Skuse (Diptera: Culicidae) Larvae in Yogyakarta, Indonesia. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 2017;48(3):552-560.
 15. Sayono S, Hidayati APN, Fahri S, et al. Distribution of voltage-gated sodium channel (NAV) alleles among the *Aedes aegypti* populations in central Java province and its association with resistance to pyrethroid insecticides. *PLoS One.* 2016;11(3). doi:10.1371/journal.pone.0150577.
 16. 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.
 17. Hongratanaworakit T, Buchbauer G. Chemical composition and stimulating effect of *Citrus hystrix* oil on humans. *Flavour Fragr J.* 2007;22(5):443-449. doi:10.1002/ffj.1820.
 18. Prakash Udaya NK, Bhuvaneswari S, Balamurugan A, et al. Studies on bio activity and phytochemistry of leaves of common trees. *IntJ Res Pharm Sci.* 2013;4(3):476-481.
 19. Intekhab J, Aslam M. Isolation of A Flavonoid from The Roots of *Citrus sinensis*. *Malaysian J PharmSci.* 2009;7(1):1-8.
 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 BiolEng Research Rev.* 2015;2(2):14-17.
 21. World Health Organization. Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides. *World Heal Organ.* 2005:1-41. doi : R e f : WHO/CDS/WHOPES/GCDPP/2005.11.
 22. Mahanta S, Khanikor B, Sarma R. Potentiality of essential oil from *Citrus grandis* (Sapindales: Rutaceae) against *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). *J Entomol Zool Stud.* 2017;5(3):803-809.
 23. Warikoo R, Ray A, Sandhu JK, Samal R, Wahab N, Kumar S. Larvicidal and irritant activities of hexane leaf extracts of *Citrus sinensis* against dengue vector *Aedes aegypti* L. *Asian Pac J Trop Biomed.* 2012; 2 (2) : 152 - 155 . doi:10.1016/S2221-1691(11)60211-6.
 24. Akono PN, Dongmo PMJ, Tonga C, et al. Larvicidal activity of essential oils from pericarps of ripe *Citrus* fruits cultivated in Cameroon on pyrethroids sensitive and resistant strains of *Anopheles gambiae* Giles, 1902. *J Entomol Zool Stud.* 2015;3(4):334-339.
 25. 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. doi:doi: 10.5376/jmr.2016.06.0020.
 26. Minarni E, Armansyah T, Hanafiah M. Daya Larvasida Ekstrak Etil Asetat Daun Kemuning (*Murraya paniculata* (L) Jack) Terhadap Larva Nyamuk *Aedes aegypti*. *J Med Vet.* 2017;7(1):27-29. doi:<http://dx.doi.org/10.21157/j.med.vet.v7i1.2915>.
 27. Yu KX, Wong CL, Ahmad R, Jantan I. Larvicidal activity, inhibition effect on development, histopathological alteration and morphological aberration induced by seaweed extracts in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Asian Pac J Trop Med.* 2015;8(12):1006-1012. doi:10.1016/j.apjtm.2015.11.011.

