

## EFEKTIVITAS EKSTRAK ETANOL DAUN LEGUNDI (*Vitex trifolia L.*) SEBAGAI LARVISIDA PADA LARVA *Aedes aegypti*

Putu Bagus Onicha Baskaranatha<sup>1</sup>, I Made Sudarmaja<sup>2</sup>, I Kadek Swastika<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Sarjana Kedokteran dan Profesi Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Udayana

<sup>2</sup>Departemen Parasitologi, Fakultas Kedokteran Universitas Udayana

Email: onichabaskara@gmail.com

### ABSTRAK

Nyamuk *Aedes aegypti* adalah vektor penyakit Demam Berdarah Dengue (DBD). Pengendalian vektor menjadi hal penting untuk mencegah penyebaran penyakit. Salah satu caranya adalah menggunakan insektisida. Penggunaan insektisida dari bahan alami mulai banyak dilirik, salah satunya adalah tumbuhan legundi (*Vitex trifolia L.*). Daun legundi (*Vitex trifolia L.*) mengandung berbagai macam senyawa yang diketahui mempunyai aktivitas larvisida. Tujuan penelitian untuk mengetahui pengaruh konsentrasi ekstrak etanol daun *Vitex trifolia L.* pada konsentrasi 0,25%, 0,5%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5% terhadap mortalitas larva *Aedes aegypti* bila dibandingkan dengan kontrol (air dan pelarut CMC 0,25%) serta mengetahui nilai LC<sub>50</sub> dan LC<sub>90</sub> ekstrak daun *Vitex trifolia L.* Metode penelitian ini adalah *cross-sectional* eskperimental murni. Uji larvisida dari ekstrak etanol daun *Vitex trifolia L.* pada konsentrasi 0,25%, 0,5%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5% dan kontrol mendapatkan hasil persentase rerata mortalitas larva nyamuk masing-masing adalah 45,2%, 65,2%, 77,2%, 94,8%, 93,2%, 92%, 97,2% dan 0%. Dari hasil penelitian disimpulkan ekstrak etanol daun *Vitex trifolia L.* konsentrasi 0,25%, 0,5%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5% efektif dalam membunuh larva *Aedes aegypti* bila dibandingkan dengan kontrol, dengan efektivitas semakin meningkat sampai konsentrasi 2% dan peningkatan konsentrasi selebihnya tidak memberikan perbedaan yang bermakna serta mempunyai nilai LC<sub>50</sub> = 0,169% (0,0- 1,32) dan LC<sub>90</sub> = 1,78% (0,017-7,535).

**Kata Kunci:** *Vitex trifolia L.*, larvisida, *Aedes aegypti*, Demam Berdarah Dengue, Insektisida

### ABSTRACT

*Aedes aegypti* mosquito is a vector of Dengue Hemorrhagic Fever (DHF). Vector control is essential to prevent the spread of the disease. One of the ways is to use insecticides. The use of insecticides from natural ingredients began to be glimpsed, one of which was Legundi (*Vitex trifolia L.*). Legundi leaves (*Vitex trifolia L.*) contains a variety of compounds known to have larvicidal activity. The aims of study is to determine the effect of the concentration of ethanolic extract of *Vitex trifolia L.* leaves concentration of 0.25%, 0.5%, 1%, 2%, 3%, 4%, and 5% on mortality of *Aedes aegypti* larvae when compared with control (water and CMC 0.25% solvent) and to know the value of LC<sub>50</sub> and LC<sub>90</sub> of *Vitex trifolia L.* leaves extract. This research method is cross-sectional pure experimental. Larvicide test of ethanolic extract of *Vitex trifolia L.* leaves concentration of 0.25%, 0.5%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5% and control obtained the mean percentage of larvae mortality were 45.2%, 65.2%, 77.2%, 94.8%, 93.2%, 92%, 97.2% and 0% respectively. From the results of the study concluded the ethanolic extract of *Vitex trifolia L.* leaves at concentrations of 0.25%, 0.5%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5% effective in killing *Aedes aegypti* larvae when compared with control, with effectiveness increasing until the concentration of 2% and the increase in the remaining concentration does not provide a significant difference, and has an LC<sub>50</sub> value = 0.169% (0.0-1.32) and LC<sub>90</sub> = 1.78% (0.017-7.535).

**Keywords:** *Vitex trifolia L.*, larvicide, *Aedes aegypti*, Dengue Hemorrhagic Fever, Insecticide

## PENDAHULUAN

Di wilayah Pasifik Barat dilaporkan terjadi lebih dari 375.000 kasus dugaan Demam Berdarah Dengue (DBD) pada tahun 2016.<sup>1</sup> Di Indonesia sendiri tercatat terdapat 201.885 kasus DBD pada tahun 2016 dengan jumlah kasus yang meninggal sebanyak 1.585 orang. Bali memiliki *incident rate* per 100.000 penduduk tertinggi yaitu 484,02, dengan jumlah 20.329 kasus DBD dan jumlah mortalitas sebanyak 61 orang.<sup>2</sup>

Pengendalian vektor *Aedes aegypti* menjadi salah satu solusi efektif untuk mencegah penularan DBD. Kesuksesan dalam pengendalian populasi vektor nyamuk adalah kunci untuk mencegah penularan dan wabah penyakit menular. Saat ini strategi ini sangat bergantung pada penggunaan insektisida, akan tetapi penggunaan insektisida dapat menimbulkan masalah resistensi.<sup>3</sup> Selain itu insektisida bersifat *non-biodegradable* serta mempunyai efek berbahaya pada kesehatan manusia dan populasi non-target lainnya.<sup>4</sup>

Mulai diidentifikasi bahan kimia tanaman untuk mengontrol nyamuk.<sup>5</sup> Insektisida yang berasal dari tanaman mempunyai kemungkinan untuk mengalami resistensi lebih rendah karena terdiri dari campuran senyawa kimia botani yang bekerja bersamaan pada proses fisiologis dan perilaku hama.<sup>4</sup> Pada sebuah studi dijelaskan bahwa sampai saat ini belum ada resistensi dari *Aedes aegypti* terhadap molekul turunan dari tanaman.<sup>6</sup> Sebuah penelitian menyatakan bahwa Legundi (*Vitex trifolia L.*) adalah satu jenis tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai larvisida.<sup>8</sup>

Pada beberapa studi dijelaskan bahwa daun Legundi mempunyai aktivitas larvisida. Senyawa yang diketahui bertanggungjawab pada mortalitas larva adalah senyawa turunan fenolat (metil-p-hidroksibenzoat), asam lemak metil ester dan minyak atsiri.<sup>5,6,8,9,10</sup> Oleh karena itu akan diteliti tentang efektivitas ekstrak etanol daun *Vitex trifolia L.* sebagai larvisida pada larva nyamuk *Aedes aegypti*.

## BAHAN DAN METODE

Daun dari tumbuhan Legundi (*Vitex trifolia L.*) diambil dari daerah kecamatan Tabanan, Kabupaten Tabanan, Provinsi Bali, Indonesia. Daun dikumpulkan, diambil yang berkondisi baik kemudian dicuci bersih dan dikeringkan tanpa terpapar sinar matahari. Daun dihaluskan dengan menggunakan *blender* hingga membentuk serbuk. Daun dalam bentuk serbuk kemudian dimaserasi dan direndam dengan alkohol 96%. Lalu daun akan melalui proses evaporasi sehingga menjadi ekstrak kental.

Larva instar III dan IV *Aedes aegypti* digunakan untuk uji larvisida. Larva disiapkan oleh pihak Laboratorium Parasitologi, Fakultas Kedokteran Universitas Udayana. Uji larvisida didahului dengan melakukan uji pendahuluan ekstrak etanol daun *Vitex trifolia L.* dari konsentrasi 0,05%, 0,1%, 0,25%, 0,5%, 1% dan 2%. Dicari hasil mortalitas larva pada 24 jam. Kemudian dari hasil uji pendahuluan dicari estimasi 20-80% mortalitas dan dibagi menjadi 7 konsentrasi baru yaitu, konsentrasi 0,25%, 0,5%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5% untuk dilakukan uji larvisida. Pengujian dilakukan dengan 3 kali pengulangan. Setiap perlakuan dimasukkan 25 ekor larva instar III atau IV *Aedes aegypti* ke dalam gelas hingga berisi 100 ml larutan (air sumur, CMC 0,25% dan konsentrasi ekstrak etanol daun *Vitex trifolia*) sesuai konsentrasi. Dihitung hasil mortalitas larva hingga 24 jam. Analisis data dilakukan dengan uji normalitas *Shapiro-Wilk* selanjutnya uji One Way ANOVA untuk distribusi data normal dan uji *Kruskal-Wallis* untuk distribusi data tidak normal. Setelah itu, dilakukan analisis data dengan uji *Post Hoc, Bonferoni* atau *Mann-Whitney*. Dilakukan uji probit untuk menentukan LC<sub>50</sub> dan LC<sub>90</sub>.

Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan oleh Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Udayana/Rumah Sakit Umum Pusat Sanglah Denpasar dengan nomor izin 353/UN.14.2/KEP/2018.

## HASIL

Hasil uji pendahuluan ditunjukkan oleh Tabel 1. Pada konsentrasi ekstrak 2% didapatkan hasil mortalitas larva sebesar 52%, sedangkan pada kontrol dengan pelarut CMC 0,5% didapatkan mortalitas larva sebesar 6%. Pelarut memberikan hasil positif membunuh larva sehingga perlu dilakukan uji pelarut yang tidak membunuh larva.

Hasil uji pelarut ditunjukkan oleh Tabel 2. Didapatkan pelarut yang seluruhnya tidak membunuh larva adalah pelarut CMC 0,25%.

Hasil uji larvisida ditunjukkan oleh Tabel 3. Didapatkan persentase dari rerata mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* tertinggi yaitu 97,2% pada konsentrasi 5%. Pada kontrol tidak didapatkan mortalitas larva.

Berdasarkan uji normalitas, terdapat distribusi data tidak normal. Uji *Kruskal-Wallis* mendapatkan nilai  $p=0,010$ . Adapun untuk uji *Mann-Whitney* ditampilkan oleh Tabel 4.

Pada uji probit didapatkan nilai masing-masing dari LC<sub>50</sub> dan LC<sub>90</sub> ekstrak etanol daun *Vitex trifolia L.* adalah 0,169% (0,0- 1,32) dan 1,78% (0,017-7,535).

**Tabel 1.** Hasil Uji Pendahuluan Ekstrak Etanol Daun *Vitex trifolia L.* pada Larva *Aedes aegypti*

No	Konsentrasi Ekstrak Daun Legundi (%)	Jumlah Mortalitas Larva (dari 25 Ekor)	Persentase Mortalitas Larva dalam 24 Jam (%)
1	CMC 0,5 (Kontrol)	6	24
2	0,05	8	32
3	0,1	9	36
4	0,2	9	36
5	0,5	10	40
6	1	12	48
7	2	13	52

**Tabel 2.** Hasil Uji Pelarut pada Larva *Aedes aegypti*

No	Jenis Pelarut	Jumlah Mortalitas Larva (dari 25 Ekor)	Persentase Mortalitas Larva dalam 24 Jam (%)
1	PBS Tween 20	25	100
2	CMC 0,5 %	2	8
3	CMC 0,25%	0	0

**Tabel 3.** Persentase dari Rerata Mortalitas Larva *Aedes aegypti* pada Setiap Uji pada Seluruh Perulangan

Uji (%)	Persentase dari Rerata Mortalitas Larva pada Menit ke- (%)					
	5	30	60	120	240	1440
CMC 0,25 (Kontrol)	0	0	0	0	0	0
0,25	0	0	0	0	0	45,2
0,5	0	0	0	1,2	1,2	65,2
1	0	0	0	1,2	4	77,2
2	0	0	0	4	4	94,8
3	0	0	0	0	0	93,2
4	0	0	0	0	0	92
5	0	0	0	0	0	97,2

## PEMBAHASAN

Rerata tingkat mortalitas larva tertinggi didapat dari kelompok perlakuan 5% yaitu sebesar 97,2%. Pada penelitian didapatkan hasil perbedaan rerata tingkat mortalitas larva yang signifikan antara kelompok dengan pemberian ekstrak etanol daun *Vitex trifolia L.* konsentrasi 0,05%, 0,1%, 0,25%, 0,5%, 1%, 2% bila dibandingkan dengan kelompok kontrol. Hal ini menyatakan bahwa ekstrak etanol daun *Vitex trifolia L.* mempunyai sifat larvisida pada larva *Aedes aegypti* instar III dan IV. Selain itu peningkatan konsentrasi ekstrak meningkatkan rerata mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti*. Pada penelitian ini didapatkan terjadi peningkatan mortalitas larva yang signifikan hanya sampai konsentrasi 2% (20.000 ppm). Peningkatan konsentrasi ekstrak lebih dari 2% tidak terdapat perbedaan yang bermakna.

Hasil tersebut sejalan dengan penelitian oleh Kannathasan tahun 2011, *Vitex trifolia L.* dinyatakan mempunyai aktivitas larvisida.<sup>6</sup> Selain itu juga didapatkan pengaruh antara konsentrasi ekstrak yang diberikan dengan rerata tingkat mortalitas larva nyamuk. Pada penelitiannya dilakukan uji senyawa metil- $\rho$ -hidroksibenzoat dari daun *Vitex trifolia L.* pada larva *Aedes aegypti* dan didapatkan hasil rerata tingkat mortalitas sebesar 12 % pada konsentrasi 1,25 ppm dan 100% pada konsentrasi 20 ppm.<sup>6</sup> Hal yang sama juga didapatkan pada penelitian oleh Balasubramani.<sup>11</sup> Diteliti aktivitas minyak atsiri *Vitex negundo* pada larva *Aedes aegypti*. Didapatkan rerata tingkat mortalitas tertinggi pada larva yang diberikan konsentrasi ekstrak 400 ppm yaitu sebesar 80,66 $\pm$ 0,66% pada pengamatan selama 24 jam.<sup>11</sup> Pada penelitian oleh Nyamoita, dinyatakan ekstrak aseton dan ekstrak metanol dari daun *Vitex trifolia* mempunyai aktivitas larvisida pada larva nyamuk *Anopheles gambiae s.s.*<sup>12</sup> Didapatkan tingkat mortalitas larva pada konsentrasi 500 ppm dengan pelarut aseton sebesar 45% dan pada konsentrasi 250 ppm dengan pelarut metanol sebesar 100%.<sup>12</sup>

Pada penelitian lainnya oleh Govindarajan dilakukan uji larvisida dengan menggunakan ekstrak benzene dan etil asetat dari daun *Ervatamia coronaria* pada larva *Aedes aegypti*. Pada penelitiannya ditemukan rerata mortalitas larva sebesar 95,3  $\pm$  2,2% pada ekstrak benzene dan 96,6  $\pm$  2,2% pada ekstrak etil asetat dengan konsentrasi ekstrak 180 ppm.<sup>13</sup> Penelitian oleh Kovendan dilakukan uji larvisida pada daun *Acalypha alnifolia* dengan menggunakan beberapa pelarut untuk ekstraksi dan ditemukan pelarut metanol membunuh larva *Aedes aegypti* terbanyak. Konsentrasi 450 ppm ekstrak metanol daun *Acalypha alnifolia* membunuh 99,2  $\pm$  0,83% sedangkan pada konsentrasi 50 ppm hanya membunuh 37  $\pm$  1,58% larva nyamuk.<sup>14</sup>

**Tabel 4.** Hasil Uji *Post Hoc Mann-Whitney* pada Setiap Uji

Uji (%)	Kontrol	0,25	0,5	1	2	3	4	5
<b>Kontrol</b>								
0,25	0,037							
0,5	0,034	0,046						
1	0,037	0,050	0,121					
2	0,034	0,046	0,796	0,072				
3	0,034	0,046	0,814	0,105	0,456			
4	0,037	0,050	0,817	0,184	0,346	0,637		
5	0,034	0,046	0,197	0,046	0,197	0,099	0,105	

Berdasarkan hasil uji probit diketahui ekstrak etanol daun *Vitex trifolia L.* menghasilkan nilai LC<sub>50</sub> dan LC<sub>90</sub> masing-masing terhadap larva *Aedes aegypti* yaitu 0,169% (1,690 ppm) dan 1,784% (17,840 ppm). Berdasarkan perbandingan dengan studi-studi lainnya, angka ini terbilang cukup besar. Adapun penelitian tentang aktivitas larvisida mempunyai hasil yang bervariasi. Pada penelitian dari Kannathasan tahun 2007, diketahui ekstrak metanol *Vitex trifolia L.* pada larva *Culex quinquefasciatus* mempunyai nilai LC<sub>50</sub> sebesar 41,41 (9,25-63,50) ppm.<sup>5</sup> Pada penelitian lainya oleh Kannathasan tahun 2011, senyawa metil- $\rho$ -hidroksibenzoat yang didapat dari ekstrak dengan pelarut metanol daun *Vitex trifolia L.* mempunyai nilai LC<sub>50</sub> = 4,72 ppm dan LC<sub>90</sub> = 10,41 ppm pada larva nyamuk *Aedes aegypti*.<sup>6</sup> Kannathasan tahun 2008, melakukan uji aktivitas larvisida senyawa asam lemak metil ester pada *Vitex trifolia L.* pada larva *Aedes aegypti*. Didapatkan nilai LC<sub>50</sub> = 9,26 ppm dan nilai LC<sub>90</sub> = 21,28 ppm.<sup>3</sup>

Pada penelitian Swastika didapatkan nilai LC<sub>50</sub> dan LC<sub>90</sub> dari minyak atsiri daun *Vitex trifolia L.* pada larva *Aedes aegypti* adalah masing-masing 139,83 ppm dan 247,03 ppm.<sup>8</sup> Pada penelitian Balasubramani ditemukan aktivitas larvisida menggunakan minyak atsiri pada *Vitex negundo*. Adapun dalam penelitiannya diketahui nilai LC<sub>50</sub> dan LC<sub>90</sub> masing-masing adalah 56,13 ppm dan 807,35 ppm.<sup>11</sup> Penelitian oleh Cheng, menemukan aktivitas larvisida minyak atsiri dari daun *Cryptomeria japonica* terhadap larva *Aedes aegypti*. Didapatkan nilai LC<sub>50</sub> dan nilai LC<sub>90</sub> masing-masing adalah 25,3 ppm dan 69,4 ppm.<sup>15</sup>

Rahuman melakukan uji larvisida pada beberapa ekstrak daun tumbuhan pada larva *Aedes aegypti*. Pada penelitiannya ditemukan ekstrak *Citrullus colocynthis* dengan pelarut petroleum eter mempunyai nilai LC<sub>50</sub> dan LC<sub>90</sub> yaitu masing-masing 74,57 $\pm$ 6,07 ppm dan 538,30 $\pm$ 75,72 ppm. Sedangkan pada ekstrak *Trichosanthes anguina* dengan pelarut aseton didapatkan nilai LC<sub>50</sub> dan LC<sub>90</sub> paling besar yaitu masing-masing

554,20 $\pm$ 36,72 ppm dan 2235,34 $\pm$ 251,59 ppm.<sup>16</sup> Penelitian oleh Govindarajan, dilakukan uji larvisida daun *Ervatamia coronaria* dengan menggunakan pelarut benzena dan etil asetat pada beberapa larva nyamuk. Didapatkan hasil LC<sub>50</sub> dan LC<sub>90</sub> sebesar 89,59 ppm dan 166,04 ppm pada pelarut benzena dan 97,53 ppm dan 179,37 ppm pada pelarut etil asetat yang diujikan pada larva *Aedes aegypti*.<sup>13</sup> Pada penelitian oleh Kovendan, dilakukan uji larvisida *Aedes aegypti* dengan menggunakan ekstrak *Acalypha alnifolia* pada berbagai pelarut. Didapatkan hasil LC<sub>50</sub> dan LC<sub>90</sub> terbaik yaitu pada pelarut etanol dengan nilai masing-masing sebesar 125,73 ppm dan 395,50 ppm.<sup>14</sup> Nyamoita dalam penelitiannya melakukan uji larvisida pada larva *Anopheles gambiae* dengan menggunakan ekstrak ranting atau daun dari *Vitex trifolia L.* dengan pelarut aseton dan metanol. Didapatkan nilai LC<sub>50</sub> terbaik dari daun dengan pelarut metanol yaitu sebesar 76,6 ppm.<sup>12</sup>

Mortalitas pada larva *Aedes aegypti* merupakan hasil dari aktivitas berbagai macam senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol daun *Vitex trifolia L.* Berbagai macam senyawa ini mempunyai cara kerja masing-masing dalam membunuh larva nyamuk. Salah satu senyawa yang mempunyai aktivitas larvisida adalah metil- $\rho$ -hidroksibenzoat.<sup>6</sup> Senyawa turunan fenolat ini berfungsi menghambat nafsu makan larva. Selain itu senyawa fenolat ini juga dapat menghambat perkembangan larva dengan cara mengganggu sistem neuroendokrin. Sebuah penelitian juga menyatakan bahwa senyawa fenolat ini dapat menurunkan fertilitas dan fekunditas larva secara signifikan.<sup>17</sup>

Senyawa lain yang diduga juga bertanggung jawab terhadap mortalitas larva adalah asam lemak metil ester.<sup>3</sup> Senyawa ini berfungsi menurunkan jumlah protein total pada larva. Penurunan ini disebabkan oleh gangguan pada proses sintesis protein dan adaptasi stres fisiologis larva. Selain itu, senyawa tersebut juga dapat meningkatkan enzim Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase. Peningkatan enzim ini menimbulkan modifikasi komposisi lipid pada membran plasma yang menimbulkan

gangguan regulasi osmolaritas hemolimp, peningkatan penggunaan ATP serta gangguan pada proses metabolik lainnya.<sup>9</sup>

Minyak atsiri juga berperan dalam membunuh larva.<sup>8,11</sup> Minyak atsiri bersifat neurotoksin, bekerja sebagai penghambat kompetitif reversibel pada enzim asetilkolinesterase. Selain itu, minyak atsiri juga bekerja memblokir reseptor oktopaminergik pada larva. Sistem ini berfungsi sebagai neuromodulator, neurotransmitter, dan neurohormon pada sistem invertebra.<sup>10</sup>

## SIMPULAN

Ekstrak etanol daun *Vitex trifolia L.* pada konsentrasi 0,25%, 0,5%, 1%, 2%, 3%, 4%, dan 5% lebih efektif dalam membunuh larva *Aedes aegypti* bila dibandingkan dengan kontrol, dengan efektivitas semakin meningkat sampai konsentrasi 2% dan peningkatan konsentrasi selebihnya tidak memberikan perbedaan yang bermakna. Nilai LC<sub>50</sub> dan LC<sub>90</sub> ekstrak etanol daun *Vitex trifolia L.* sebagai larvisida untuk larva *Aedes aegypti* masing-masing yakni 0,169% (0,0- 1,32) dan 1,78% (0,017-7,535).

## DAFTAR PUSTAKA

- World Health Organization. *Dengue and Severe Dengue*. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs117/en/> [diakses: 8 Januari 2018]. 2017
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Data dan Informasi Profil Kesehatan Indonesia 2016. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI. 2017.
- Kannathasan K., Senthilkumar, A., Venkatesalu V. & Chandrasekaran M. Larvicidal activity of fatty acid methyl esters of Vitex species against *Culex quinquefasciatus*. *Parasitol Res*; 2008; 103:999-1001.
- Ghosh A., Chowdury N. & Chandra G. Plant Extracts as Potential Mosquito Larvicides. *Indian J Med Res*; 2012; 135:581-598.
- Kannathasan K., Senthilkumar A., Chandrasekaran M. & Venkatesalu V. Differential Larvicidal Efficacy of Four Species of Vitex Against *Culex quinquefasciatus* Larvae. *Parasitol Res*; 2007; 101:1721-1723.
- Kannathasan K., Senthilkumar A. & Venkatesalu, V. Mosquito Larvicidal Activity of Methyl-p-Hydroxybenzoate Isolated from the Leaves of *Vitex trifolia Linn*. *Acta Tropica*; 2011;120:115-118.
- Meena A.K., Niranjan U.S., Rao M.M., Padhi M.M. & Babu R. A review of the important chemical constituents and medicinal uses of Vitex genus. *Asian Journal of Traditional Medicines*; 2011; 6(2):54-60.
- Swastika I M., Mulyaningsih B. & Umniyah S.R.. Efikasi Minyak Atsiri Daun Legundi. *Medicina*; 2008; 39(2):118-122.
- Silva L.N.D., Ribeiro-Neto J. A., & Valadres J. M.M. The Influence of Fatty Acid Methyl Esters (FAMES) in the Biochemistry and the Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase Activity of *Culex quinquefasciatus* Larvae. *J Membrane Biol*; 2016; 249(4):459-67.
- Rattan R. S. Mechanism of Action of Insecticidal Secondary Metabolites of Plant Origin. *Crop Protection*; 2010; 29:913-920.
- Balasubramani S., Rajendhiran T., Moola A. K. & Diana R. K. B. Development of Nanoemulsion from *Vitex negundo L.* Essential Oil and Their Efficacy of Antioxidant, Antimicrobial and Larvicidal Activities (*Aedes aegypti L.*). *Environ Sci Pollut Res Int*; 2017; 24(17):15125-15133.
- Nyamoita M. G., Ester I., Zakaria M. H., Wilber L. dkk.. Comparison of the effects of extracts from three Vitex plant species on *Anopheles gambiae s.s.* (Diptera: Culicidae) larvae. *Acta Tropica*; 2013; 127: 199– 203
- Govindarajan M., Mathivanam T., Elumalai K., Krishnappa K., Anandan A. Mosquito larvicidal, ovicidal, and repellent properties of botanical extracts against *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti*, and *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *Parasitol Res*; 2011; 109:353–367
- Kovendan K., Murugan K., Vincent S. Evaluation of larvicidal activity of *Acalypha alnifolia* Klein ex Willd. (Euphorbiaceae) leaf extract against the malarial vector, *Anopheles stephensi*, dengue vector, *Aedes aegypti* and Bancroftian filariasis vector, *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *Parasitol Res*; 2011; 110:571–581
- Cheng S. S., Chua M. T., Chang E. H. dkk. Variations in Insecticidal Activity and Chemical Compositions of Leaf Essential Oils from *Cryptomeria japonica* at Different Ages. *Bioresource Technology*; 2009; 100:465–470.
- Rahuman A. A., Venkatesan P. Larvicidal efficacy of five cucurbitaceous plant leaf extracts against mosquito species. *Parasitol Res*; 2008; 103:133–139
- Devi U. & Bora D. Growth Inhibitory Effect of Phenolic Extracts of *Ziziphus jujuba Mill.* in dengue vector *Aedes aegypti* (L) in parent and F1 generation. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*; 2017; 10(8):787-791.