

ARTIKEL DISERTASI

**BIOAKTIVITAS EKSTRAK BUAH *Piper aduncum* L.
(PIPERACEAE) TERHADAP *Crocidolomia pavonana* (F.)
(LEPIDOPTERA : CRAMBIDAE) DAN FORMULASINYA
SEBAGAI INSEKTISIDA BOTANI**

Oleh

Arneti

BP : 06 301 044



**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG, 2012**

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Penelitian

Crocidolomia pavonana (F.) (Lepidoptera : Crambidae) dan *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera:Yponomeutidae) merupakan hama penting tanaman famili Brassicaceae seperti kubis, kubis bunga, petsai dan lobak. Kerusakan yang ditimbulkan dapat mencapai 100% bila upaya pengendalian tidak dilakukan (Sastrosiswojo dan Setiawati 1993).

Pertumbuhan dan perkembangan hama *C. pavonana* sangat cepat dengan daya rusak yang cukup tinggi. Keterbatasan dan belum efektifnya pengendalian non kimiawi, menjadi alasan yang kuat bagi petani untuk menggunakan insektisida sintetik. Namun demikian penggunaan insektisida secara terus-menerus dan berlebihan mengakibatkan berbagai dampak negatif seperti resistensi dan resurgensi hama, ledakan populasi hama sekunder, serta keracunan pada hewan peliharaan dan manusia.

Dalam konsep pengendalian hama terpadu penggunaan insektisida masih diperbolehkan dengan batas yang tegas, yaitu selama insektisida tersebut tidak menimbulkan dampak negatif terhadap organisme bukan sasaran, kesehatan dan lingkungan (Sastrosiswojo 1996 ; Gray *et al.* 2009). Oleh karena itu perlu dicari alternatif pengendalian yang efektif terhadap organisme sasaran tetapi aman bagi organisme bukan sasaran dan lingkungan. Insektisida botani merupakan salah satu komponen teknologi pengendalian organisme pengganggu tumbuhan (OPT) yang dapat diterapkan secara serasi dengan komponen PHT lainnya.

Penggunaan insektisida botani mempunyai kelebihan dibandingkan insektisida sintetik antara lain : mudah terurai di alam sehingga kemungkinan bahaya residu pada hasil panen sangat rendah, umumnya aman terhadap organisme bukan sasaran (bersifat selektif), tidak cepat menimbulkan resistensi hama bila digunakan dalam bentuk ekstrak kasar, dapat dipadukan dengan teknik pengendalian hama lainnya, dan beberapa jenis insektisida botani dapat disiapkan secara sederhana (Prakash dan Rao 1997 ; Prijono 2006 ; Guleria dan Tikun 2009).

Penelitian tentang famili tumbuhan yang potensial sebagai insektisida botani dari penjuru dunia telah banyak dilaporkan. Grainge dan Achmed (1988) melaporkan bahwa terdapat lebih dari 1000 spesies tumbuhan yang bersifat insektisida, lebih dari

380 spesies bersifat penghambat makan, lebih dari 270 spesies bersifat penolak, dan lebih dari 30 spesies bersifat menghambat pertumbuhan. Diantara famili tumbuhan yang potensial adalah : Meliaceae, Annonaceae, Verbenaceae, Rutaceae, dan Piperaceae (Arnason *et al.* 1993 ; Isman 2006).

Piperaceae mempunyai lebih kurang 1000 jenis tumbuhan yang terdiri dari : herba, semak, dan pohon. Tumbuhan ini telah digunakan sebagai obat tradisional, anti serangga, anti nematoda dan anti patogen (Scott *et al.* 2003, 2005, 2008). *Piper rotundistipulum* telah digunakan sebagai racun ikan dan insektisida (Bernard *et al.* 1995). *P. arcuatum* bersifat repelen terhadap *Atta cephalotes*, *P. bettle* bersifat insektisida terhadap *Ceratoma trifurcata*, *P. excelsum* bersifat insektisida terhadap *Oncopeltus fasciatus*, *P. guinense* beracun terhadap *Dysdercus superstiosus* dan *Sitophilus oryzae*, *P. longum* bersifat repelen terhadap hama gudang (Prakash dan Rao 1997). *P. nigrum* bersifat repelen dan toksin terhadap *Rhizotrogus majalis* (Scott *et al.* 2005). *P. mullesua* bersifat antifidan dan menghambat pertumbuhan larva *Spilarctia obligua* (Srivastava *et al.* 2001). *P. retrofractum* bersifat racun perut dan racun kontak terhadap *C. pavonana* (Priyono *et al.* 2006). *P. cubeba* bersifat toksin dan repelen terhadap hama *Sitophilus oryzae* (Su 1990).

Informasi aktivitas tumbuhan *P. aduncum* (sirih-sirih) juga sudah dilaporkan, antara lain : terhadap *Ostrinia nubilalis*, *Aedes aegypti*, *Ceratomyxa tingomarianus* dan *S. zeamais*. (Bernard *et al.* 1995 ; Fazolin *et al.* 2005 ; Estrela *et al.* 2006 ; Rafael *et al.* 2008 ; Misni *et al.* 2008). Hasil skrining tumbuhan yang berasal dari Sumatera Barat termasuk tumbuhan *P. aduncum* bersifat insektisida terhadap larva *C. pavonana* (Arneti *et al.* 2009). Selain aktivitasnya sebagai insektisida tumbuhan *P. aduncum* juga banyak terdapat di sekitar lahan petani dan tumbuh secara liar serta belum dimanfaatkan sehingga potensial dikembangkan sebagai insektisida botani.

Penelitian tentang tumbuhan *P. aduncum* masih sebatas aktivitasnya terhadap serangga hama sedangkan penelitian secara menyeluruh terhadap aspek formulasi, persistensi, dan keamanan hayati belum pernah dilaporkan. Untuk itu perlu dilakukan penelitian sehingga potensi tumbuhan ini dapat dikembangkan.

Jika bahan baku banyak tersedia maka petani dapat menggunakan langsung dengan membuat ekstrak sederhana, akan tetapi penggunaan ekstrak sederhana tidak dapat disimpan lama dan harus digunakan setelah dibuat sediaan. Untuk mengatasi

masalah tersebut perlu dibuat formulasi yang disiapkan dengan pelarut organik. Pembuatan formulasi dapat membantu dalam penyimpanan, penanganan, meningkatkan efektivitas dan keamanan dalam penggunaannya (Djojsumarto 2000).

Formulasi pestisida pada dasarnya terdiri dari : (1) bentuk cair, dan (2) bentuk padat. Formulasi cair di antaranya EC (*Emulsifiable Concentrate*) yang terdiri dari bahan aktif, pelarut, pengemulsi dan bahan perekat/pembasah. Formulasi padat di antaranya bentuk WP (*Wettable Powder*) yang terdiri dari bahan aktif, pelarut, pembawa/karier dan bahan tambahan lainnya (Asman *et al.* 1999).

Setelah dibuat formulasi, berbagai pertimbangan keamanan harus diuji di antaranya sifat fitotoksisitas, keamanan terhadap organisme bukan sasaran dan lingkungan. Insektisida dari ekstrak tumbuhan setelah diaplikasikan sering menimbulkan gejala fitotoksik pada tanaman. Fitotoksik dapat disebabkan oleh sifat komponen aktif, konsentrasi, dan kelarutan bahan setelah dicampur dengan air (Priyono 2006).

Salah satu komponen penting dalam pengelolaan hama terpadu pada tanaman kubis-kubisan adalah peran parasitoid *Diadegma semiclausum* (Hellen) (Hymenoptera : Ichneumonidae), yang merupakan musuh alami utama hama *P. xylostella*. Sementara itu *C. pavonana* tidak memiliki musuh alami yang efektif sehingga petani masih mengandalkan penggunaan insektisida sintetik untuk mengendalikan hama tersebut. Dilain pihak penggunaan insektisida yang intensif dapat mengganggu kinerja parasitoid *D. semiclausum*. Karena itu insektisida botani yang digunakan untuk pengendalian hama tanaman kubis-kubisan perlu dievaluasi keamanannya terhadap parasitoid tersebut.

1.2 Perumusan Masalah

Tumbuhan *P. aduncum* telah diketahui aktivitas nya terhadap beberapa serangga hama, seperti *Ostrinia nubilalis*, *Aedes aegypti*, *Cerotoma tingomarianus*, dan *S. zeamais*, akan tetapi belum dilaporkan terhadap hama *Crociodolomia pavonana*. Dari hasil skrining tumbuhan yang terdapat di Sumatera Barat diantaranya *P. aduncum* aktif terhadap *C. pavonana*. Bila bahan baku insektisida mudah diperoleh maka petani dapat membuat sediaan secara sederhana dengan menggunakan pelarut air. Akan tetapi penggunaan pelarut air mempunyai kendala di antaranya : harus segera digunakan setelah dibuat sediaan karena tidak tahan

disimpan lama, untuk itu salah satu upaya yang dapat dilakukan adalah membuat formulasi yang disiapkan dengan pelarut organik. Pembuatan formulasi dapat membantu dalam penyimpanan, penanganan, keefektivan dan keamanan dalam penggunaannya.

Setelah dibuat formulasi perlu diketahui bioaktivitasnya terhadap serangga hama sasaran, dan keamanan hayati terhadap tanaman dan organisme bukan sasaran sehingga diperlukan penelitian untuk mengetahui potensi secara menyeluruh dari tumbuhan ini.

Dari permasalahan yang dikemukakan di atas ada beberapa pertanyaan yang akan dijawab dalam penelitian yaitu : (1) apakah tumbuhan *P. aduncum* bersifat toksin (racun kontak, racun perut), antifidan, dan mempengaruhi pertumbuhan larva *C. pavonana* (2) apakah bentuk formulasi *P. aduncum* efektif dalam pengendalian hama *C. pavonana*, (3) apakah formulasi *P. aduncum* persisten di alam, dan (4) apakah formulasi *P. aduncum* aman terhadap tanaman dan parasitoid *D. semiclausum*, sehingga tumbuhan ini dapat digunakan sebagai agens pengendalian serangga hama yang ramah lingkungan. Temuan dari penelitian nantinya akan menjawab masalah yang dirumuskan.

1.3 Tujuan dan Manfaat Penelitian

Secara umum tujuan penelitian untuk mempelajari bioaktivitas dan mendapatkan sediaan insektisida botani yang efektif, dan ramah lingkungan dari tumbuhan *P. aduncum* untuk mengendalikan hama *C. pavonana*. Tujuan khusus penelitian adalah : (1) untuk mempelajari bioaktivitas ekstrak buah *P. aduncum* sebagai insektisida botani terhadap hama *C. pavonana*, (2) membuat formulasi yang efektif, (3) menguji bioaktivitas formulasi, (4) mempelajari persistensi formulasi, dan (5) mempelajari fitotoksisitas dan keamanan formulasi terhadap parasitoid *Diadegma semiclausum*.

Manfaat dari penelitian adalah : dalam jangka pendek sediaan sederhana dapat disiapkan dan digunakan langsung oleh petani sedangkan untuk jangka panjang sediaan dapat disiapkan melalui industri kecil di pedesaan.

II. BAHAN DAN METODE PENELITIAN

2.1. Tempat dan Waktu

Uji Hayati dilakukan di Laboratorium Fisiologi dan Toksikologi Serangga Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, dan uji persistensi dilakukan di Rumah Kawat Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Andalas Padang. Uji fitokimia dilakukan di Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam FMIPA Unand Padang, dan analisis GCMS dilakukan di Laboratorium Kesehatan Daerah Provinsi DKI Jakarta. Penelitian dilaksanakan dari bulan Januari sampai Desember 2010.

2.2. Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah tumbuhan *Piper aduncum* yang didapatkan dari daerah Kuranji Kota Padang. Bahan kimia yang digunakan adalah : heksana, etil asetat, metanol, aseton, Agristic, kaolin, paraamino benzoat, aquades, dan lain-lain.

Alat-alat yang digunakan adalah : blender, *rotary evaporator*, timbangan analitik, labu ukur, pipet mikro, cawan petri, *mycro syringe*, dan lain-lain.

2.3. Metode Penelitian

2.3.1. Uji tapis ekstrak daun dan buah tumbuhan *Piper aduncum*

Uji tapis dilakukan untuk mengetahui bagian tumbuhan yang paling aktif. Pengujian menggunakan daun dan buah tumbuhan *P. aduncum*. Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan pelarut metanol.

Uji hayati menggunakan larva *C. pavonana* instar II dengan metode residu pada daun. Konsentrasi ekstrak yang digunakan adalah : 0, 0,1% dan 0,5%. Daun brokoli ukuran 4x4 cm dicelupkan pada larutan ekstrak, kemudian dikeringanginkan setelah itu diinfeskan 15 ekor larva *C. pavonana*, setiap perlakuan diulang 3 kali. Serangga dibiarkan makan daun perlakuan selama 48 jam setelah itu diganti dengan daun tanpa perlakuan. Pengamatan mortalitas larva dilakukan setiap 24 jam dan kematian larva dihitung secara kumulatif sampai larva mencapai instar IV.

2.3.2. Uji bioaktivitas ekstrak buah *P. aduncum*

Uji bioaktivitas dilakukan terhadap ekstrak buah *P. aduncum*. Ekstraksi dilakukan secara bertingkat dengan menggunakan pelarut heksana, etil asetat, dan

metanol. Ekstrak yang didapatkan dilakukan uji hayati menggunakan larva instar II *C. pavonana* dengan metode residu pada daun dan metode kontak. Parameter pengamatan adalah : mortalitas larva, aktifitas antifidan, dan lama stadia larva.

Ekstrak yang paling aktif dari hasil uji hayati dilanjutkan dengan fraksinasi menggunakan pelarut yang sesuai, selanjutnya dilakukan uji hayati. Dari hasil uji hayati ekstrak dan fraksi ekstrak yang paling aktif dilanjutkan dengan pembuatan formulasi.

Untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder pada buah *P. aduncum* dilakukan uji profil fitokimia dan analisis GCMS. Uji profil fitokimia menggunakan buah segar *P. aduncum*, sedangkan analisis GCMS menggunakan fraksi heksana buah *P. aduncum*.

2.3.3. Formulasi ekstrak buah *P. aduncum*

Formulasi yang dibuat adalah 20EC dan 20WP. Formulasi 20EC dibuat dengan mencampurkan ekstrak dengan perekat Agristic dan pelarut metanol dengan proporsi berturut-turut 20, 10, dan 70% (berdasarkan volume), sedangkan untuk membuat formulasi 20WP ekstrak dicampur dengan perekat Agristic dan bahan pembawa kaolin dengan proporsi masing-masing 20, 10, dan 70% berdasarkan bobot.

Dilakukan pengamatan terhadap stabilitas emulsi pada formulasi 20EC dan waktu pembasahan serta pH terhadap formulasi 20WP. Uji bioaktivitas formulasi dilakukan terhadap larva *C. pavonana* instar II dengan metode residu pada daun. Parameter pengamatan adalah: mortalitas larva, efek antifidan dan lama stadia larva.

2.3.4. Uji persistensi formulasi

Uji persistensi formulasi dilakukan pada tanaman brokoli. Pengujian dilakukan di Rumah Kawat Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan. Formulasi 20EC dan 20WP diencerkan dengan menggunakan pelarut aquades yang mengandung Agristic dan metanol, dengan konsentrasi $2 \times LC_{95}$ percobaan laboratorium. Percobaan disusun dalam Rancangan Acak Kelompok dengan 6 perlakuan dan 5 ulangan. Perlakuan tersebut adalah: (1) Kontrol (tanpa perlakuan), (2) formulasi 20EC, (3) formulasi 20WP, (4) deltametrin (Decis 25EC), (5) formulasi 20EC ditambah PABA 1%, dan (6) formulasi 20WP ditambah PABA 1%.

Tanaman brokoli yang digunakan berumur 3 bulan dengan jumlah daun 6-7 lembar. Tanaman disemprot menggunakan *hand sprayer* kemudian tanaman diletakkan di ruangan terbuka dari jam 8.00-15.00 WIB. Penilaian persistensi dilakukan dengan cara memetik daun brokoli pada 0, 1, 2, 3, dan 4 hari setelah penyemprotan. Daun brokoli dipotong dengan ukuran 4x4 cm dan dimasukkan ke dalam cawan petri selanjutnya diinfeskan 15 ekor larva *C. pavonana* instar II. Mortalitas larva diamati setelah 48 jam perlakuan.

2.3.5. Uji keamanan hayati formulasi ekstrak buah *P. aduncum*

Uji keamanan hayati meliputi uji fitotoksisitas terhadap tanaman brokoli dan uji mortalitas terhadap imago parasitoid *Diadegma semiclausum*. Uji fitotoksisitas dilakukan dengan cara penyemprotan tanaman brokoli yang berumur 6 minggu. Konsentrasi yang digunakan adalah $2xLC_{95}$ percobaan toksisitas di laboratorium. Sediaan disiapkan dengan menggunakan pelarut aquades yang mengandung Agristic dan metanol.

Pengamatan gejala fitotoksik dilakukan 6 hari setelah penyemprotan dengan mengamati bagian helaian daun yang mengalami nekrotik dengan menggunakan kertas milimeter. Luas relatif bercak nekrotik dihitung dengan membandingkan luas bercak dan luas daun dikali 100%.

Uji keamanan hayati menggunakan imago parasitoid *D. semiclausum*. Parasitoid diperbanyak menggunakan larva instar III *Plutella xylostella*. Metode pengujian adalah kontak permukaan gelas. Bahan sediaan dilarutkan dengan menggunakan pelarut aceton-metanol 3:1. Sediaan dipipet ke dalam tabung gelas ukuran tinggi 6 cm dan diameter 3 cm. Kemudian larutan dikeringanginkan dalam ruang asam. Setelah tabung gelas kering diinfeskan 10 ekor imago parasitoid *D. semiclausum* dan dibiarkan kontak selama 2 jam. Selanjutnya parasitoid dikeluarkan dan dimasukkan ke dalam kurungan kassa dan diberi makan dengan madu yang diserapkan pada kapas. Pengamatan mortalitas parasitoid dilakukan setiap hari sampai hari ketiga setelah perlakuan. Setiap perlakuan diulang lima kali.

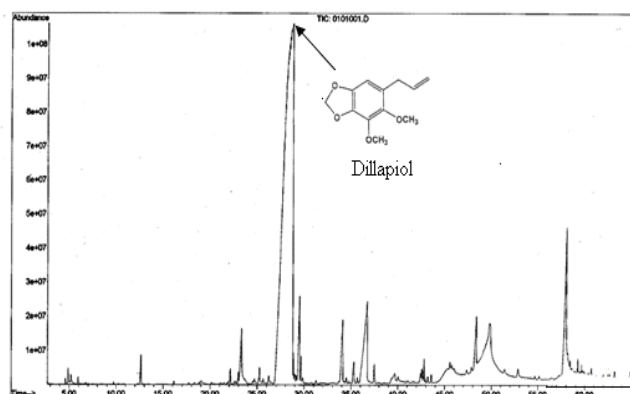
III. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Uji tapis ekstrak daun dan buah *P. aduncum*

Dari hasil uji tapis, didapatkan bahwa ekstrak buah *P. aduncum* lebih aktif dibandingkan dengan ekstrak daun. Ekstrak buah pada konsentrasi 0,5% dapat menyebabkan mortalitas larva *C. pavonana* 100% sedangkan ekstrak daun pada konsentrasi yang sama menyebabkan mortalitas larva 17,7%.

3.2. Bioaktivitas ekstrak buah *P. aduncum*

Dari hasil ekstraksi bertingkat menunjukkan bahwa ekstrak heksana buah *P. aduncum* menyebabkan tingkat mortalitas larva yang paling tinggi dibandingkan dengan ekstrak etil asetat, dan metanol. Dengan kata lain bahwa buah *P. aduncum* mengandung senyawa metabolit sekunder yang tergolong senyawa non polar. Senyawa non polar lebih banyak tertarik pada pelarut heksana dibandingkan dengan dua jenis pelarut lainnya. Kematian serangga uji disebabkan karena kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada buah *P. aduncum*. Buah *P. aduncum* mengandung senyawa metabolit sekunder : alkaloid, flavonoid, fenolik, triterpenoid, steroid, saponin, dan kumarin. Dari hasil analisis GCMS buah *P. aduncum* mengandung senyawa dillapiol (Gambar 1).



Gambar 1. Kromatogram GCMS fraksi heksana buah *P. aduncum*

Secara umum perlakuan dengan ekstrak heksana buah *P. aduncum* mengakibatkan mortalitas larva *C. pavonana* yang makin besar seiring dengan meningkatnya konsentrasi. (Tabel 1).

Tabel 1. Mortalitas larva instar II *C. pavonana* akibat perlakuan ekstrak heksana buah *P. aduncum* pada beberapa konsentrasi

Konsentrasi (%)	Mortalitas (%)
Kontrol	0,00 a
0,07	0,00 a
0,09	9,34 a
0,11	16,00 a
0,13	68,00 b
0,15	76,00 b
0,17	84,00 b

Nilai rata-rata pada kolom yang sama yang diikuti huruf yang sama berbeda tidak nyata berdasarkan uji selang berganda Duncan ($\alpha=0,05$)

Pengujian secara kontak menunjukkan bahwa ekstrak heksana juga dapat mengakibatkan kematian larva instar II *C. pavonana*. Mortalitas larva pada perlakuan permukaan gelas 97,7% dan perlakuan penetesan larva 100% (Tabel 2). Secara statistik perlakuan kontak permukaan gelas dan penetesan pada larva menyebabkan mortalitas larva yang berbeda tidak nyata.

Senyawa aktif dari ekstrak buah *P. aduncum* bersifat non polar sehingga akan mudah menembus kutikula serangga, karena kutikula serangga juga bersifat nonpolar. Akan tetapi apabila insektisida telah masuk ke dalam tubuh serangga maka sifat polar diperlukan untuk mengedarkan insektisida melalui hemolim dalam tubuh serangga agar insektisida tersebut dapat mencapai target sasaran seperti sistem syaraf (Tarumingkeng 1992)

Tabel 2. Mortalitas larva *C. pavonana* akibat perlakuan ekstrak heksana buah *P. aduncum* dengan metode kontak pada konsentrasi 0,5%

Perlakuan	Mortalitas larva (%)
Kontrol (permukaan gelas)	0,00 a
Kontrol (penetesan larva)	0,00 a
Permukaan gelas	97,77 b
Penetesan larva	100,00 b

Nilai rata-rata pada kolom yang sama yang diikuti huruf yang sama berbeda tidak nyata berdasarkan uji selang berganda Duncan ($\alpha=0,05$)

3.2.1. Bioaktivitas fraksi ekstrak buah *P. aduncum*

Ekstrak heksana buah *P. aduncum* lebih aktif dibandingkan fraksi heksana buah *P. aduncum*. LC₅₀ ekstrak 0,12% sedangkan LC₅₀ fraksi ekstrak 0,21%. Fraksi ekstrak menghasilkan tingkat mortalitas yang lebih rendah dibandingkan dengan ekstrak, hal ini mengindikasikan bahwa fraksinasi akan menurunkan tingkat aktivitas. Ekstrak heksana buah *P. aduncum* bersifat sinergisme (Tabel 3).

Tabel 3 Analisis probit hubungan konsentrasi ekstrak dan fraksi ekstrak buah *P. aduncum* dengan mortalitas larva *C. pavonana*

Perlakuan	b ± GB	LC ₅₀ (SK95%)	LC ₉₅ (SK95%)
Ekstrak Heksana	9,46 ± 1,74	0,12 (0,11-0,14)	0,18 (0,15-0,27)
Fraksi Heksana	1,13 ± 0,14	0,21 (0,16-0,27)	2,01 (1,30-3,63)

b=). kemiringan garis regresi. GB=galat baku. SK=selang kepercayaan

Ekstrak heksana buah *P. aduncum* juga bersifat penghambat makan larva *C. pavonana*. Efek penghambatan makan pada konsentrasi 0,15% mencapai 91,17% dan tergolong kuat (Tabel 4).

Tabel 4. Aktivitas penghambat makan ekstrak heksana buah *P. aduncum* terhadap larva instar II *C. pavonana*

Konsentrasi ekstrak (%)	Luas daun dimakan (cm ²)		Efek penghambatan makan (%)	
0,00 (kontrol)	1,86 ± 0,28	a	-	
0,07	1,12 ± 0,22	b	39,84 ± 12,22	c
0,09	0,99 ± 0,30	b	46,61 ± 16,66	bc
0,11	0,83 ± 0,36	b	55,86 ± 19,64	bc
0,13	0,52 ± 0,34	bc	72,57 ± 18,38	ab
0,15	0,16 ± 0,20	c	91,17 ± 20,90	a
0,17	0,15 ± 0,31	c	91,43 ± 16,90	a

Nilai rata-rata pada kolom yang sama yang diikuti huruf yang sama berbeda tidak nyata berdasarkan uji selang berganda Duncan ($\alpha=0,05$)

Dampak dari penghambatan makan menyebabkan stadia larva menjadi lebih lama dibandingkan dengan stadia larva tanpa perlakuan. Stadia larva perlakuan lebih lama 1,14 sampai 2,08 hari dari instar 2 ke 3, dan 1,12-2,12 hari dari instar 2 ke 4

dibandingkan dengan lama stadia larva tanpa perlakuan (Tabel 5). Hambatan perkembangan larva *C. pavonana* yang memakan daun brokoli berperlakuan dapat disebabkan karena adanya alokasi energi untuk detoksifikasi senyawa toksik. Dalam kondisi makanan tanpa adanya senyawa toksik, energi dari makanan akan digunakan untuk pertumbuhan dan perkembangan. Akan tetapi dengan adanya senyawa toksik pada makanannya maka sebagian dari energi makanan yang seharusnya digunakan untuk pertumbuhan dan perkembangan dialokasikan untuk detoksifikasi senyawa racun (Parkinson dan Ogilvie 2008).

Tabel 5. Lama perkembangan larva *C. pavonana* akibat perlakuan ekstrak heksana buah *P. aduncum* pada beberapa konsentrasi

Konsentrasi (%)	Lama Perkembangan Larva (hari)	
	2-3 (x±sd)	2-4 (x±sd)
Kontrol	2 ± 0	4,0 ± 0,0
0,07%	2 ± 0	4,0 ± 0,0
0,09%	3,14 ± 0,35	5,12 ± 0,21
0,11%	3,35 ± 0,54	5,43 ± 0,43
0,13%	3,58 ± 0,58	5,68 ± 0,58
0,15%	3,64 ± 0,49	5,98 ± 0,48
0,17%	4,08 ± 0,66	6,12 ± 0,66

3.3. Formulasi ekstrak buah *P. aduncum*

Bentuk formulasi ekstrak buah *P. aduncum* 20WP adalah berwarna putih kekuningan dan formulasi ekstrak buah *P. aduncum* 20EC berwarna kuning kecoklatan. Setelah dilakukan pengenceran menggunakan aquades formulasi 20WP membentuk suspensi dan formulasi 20EC membentuk emulsi (Gambar 2).



Gambar 2. Insektisida *P. aduncum* 20WP dan 20EC

Hasil pengujian kestabilan formulasi menunjukkan bahwa jenis pelarut air suling dan air sadah menunjukkan hasil yang relatif sama yaitu larut dengan baik, berwarna kuning dan membentuk busa dibagian atas gelas (2 ml) dan tidak terbentuknya krem dibagian bawah. Busa yang terbentuk perlahan akan berkurang setelah 2 jam pengamatan. Busa ini diduga berasal dari senyawa saponin yang terdapat pada buah *P. aduncum* (Tabel 6). Saponin akan membentuk busa bila dilakukan pengadukan (Manjang 2002).

Tabel 6. Uji kestabilan formulasi ekstrak buah *P. aduncum* 20EC

Jenis Pelarut	Pengamatan (jam)	
	0,5	2
Air suling	Kelarutan baik, warna kuning, terbentuk busa dibagian atas gelas ukur (2 ml)	Kelarutan baik, warna kuning, terbentuk busa dibagian atas gelas ukur (1 ml)
Air sadah	Kelarutan baik, warna kuning, terdapat busa dibagian atas gelas ukur (2 ml)	Kelarutan baik, warna kuning, terdapat busa dibagian atas gelas sukur (1 ml)

Hasil pengujian sifat fisikokimia formulasi ekstrak buah *P. aduncum* 20WP dan insektisida sintetik pembanding dapat dilihat pada Tabel 7. Waktu pembasahan formulasi 20WP berkisar 72,6 detik sedangkan insektisida sintetik 70,3 detik. pH formulasi 20WP berkisar 6,0 dan pH insektisida sintetik 6,5 .

Dari Tabel 7 terlihat bahwa waktu pembasahan formulasi *P. aduncum* 20WP relatif hampir sama dengan insektisida pembanding, begitu juga dengan pH. pH pestisida sintetik berkisar antara 6,5-7,5. Nilai pH suatu formulasi juga akan dipengaruhi oleh air yang digunakan.

Tabel 7. Sifat fisikokimia formulasi ekstrak buah *P. aduncum* 20WP dan imidakloprid (Winder 25WP)

Sifat	Formulasi 20WP	Imidakloprid (Winder 25WP)
Waktu Pembasahan (detik)	72,6 ± 0,57	70,3 ± 0,57
pH	6,0	6,5
Warna	Kuning	Putih krem

Formulasi ekstrak buah *P. aduncum* 20EC dan 20WP dapat menyebabkan mortalitas larva *C. pavonana*. Mortalitas larva berkisar antara 32,00-100%. Semakin tinggi konsentrasi semakin tinggi tingkat mortalitas larva (Tabel 8).

Tabel 8. Mortalitas larva *C. pavonana* akibat perlakuan formulasi ekstrak buah *P. aduncum* 20WP dan 20EC

Konsentrasi ekstrak dalam formulasi (%)	Mortalitas (%)	
	Formulasi 20WP	Formulasi 20EC
0,0 (Kontrol)	0,00 a	0,00 a
0,09	32,00 b	38,66 b
0,11	36,00 b	42,66 b
0,13	46,66 b	53,34 bc
0,15	57,34 b	71,98 cd
0,17	100,00 c	100,00 d

Nilai rata-rata pada kolom yang sama yang diikuti huruf yang sama berbeda tidak nyata berdasarkan uji selang berganda Duncan ($\alpha=0,05$)

Jika dilihat dari analisis probit maka tingkat mortalitas larva *C. pavonana* pada formulasi 20EC lebih tinggi dibandingkan dengan tingkat mortalitas larva pada formulasi 20WP (Tabel 9).

Tabel 9. Parameter regresi probit hubungan konsentrasi formulasi buah *P. aduncum* dengan mortalitas larva *C. pavonana*

Perlakuan	$b \pm GB$	$LC_{50}(SK95\%)$	$LC_{95}(SK95\%)$
<i>P. aduncum</i> 20EC	$14,28 \pm 3,34$	0,11(0,10-0,12)	0,23(0,19-0,32)
<i>P. aduncum</i> 20WP	$6,09 \pm 0,74$	0,13(0,12-0,17)	0,48(0,28-3,61)

b=kemiringan garis regresi, GB=galat baku, SK=selang kepercayaan

Gejala kematian larva dan pupa *C. pavonana* akibat perlakuan formulasi ekstrak buah *P. aduncum* 20EC dan 20WP dapat dilihat pada Gambar 3. Larva yang mati dengan gejala tubuh berwarna hitam dan ukurannya lebih pendek dibandingkan larva normal.



Gambar 3. Gejala kematian larva dan pupa. (A) kontrol, dan (B) perlakuan

Aktivitas penghambat makan formulasi ekstrak buah *P. aduncum* 20EC dan 20WP juga tergolong kuat. Akibat adanya senyawa penghambat makan maka jumlah daun yang dimakan berkurang. Semakin tinggi konsentrasi semakin sedikit jumlah daun yang dimakan dan semakin tinggi efek penghambatan makan (Tabel 10).

Tabel 10. Aktivitas penghambatan makan formulasi 20EC dan 20WP buah *P. aduncum* terhadap larva instar II *C. pavonana*

Kon- sentralasi (%)	Formulasi 20EC			Formulasi 20WP		
	Luas daun dimakan (cm ²)		Efek penghambatan makan (%)	Luas daun dimakan (cm ²)		Efek penghambatan makan (%)
0,00	1,56 ± 0,24	a	-	2,50 ± 0,1	a	-
0,09	0,52 ± 0,41	b	49,93 ± 7,90	1,53 ± 0,3	b	38,77 ± 5,70
0,11	0,14 ± 0,01	bc	80,65 ± 18,46	1,44 ± 0,1	b	42,37 ± 1,42
0,13	0,00 ± 0,00	c	86,27 ± 14,23	0,86 ± 0,3	c	65,62 ± 6,04
0,15	0,00 ± 0,00	c	97,19 ± 2,25	0,37 ± 0,2	d	85,14 ± 3,05
0,17	0,00 ± 0,00	c	100,0 ± 0,00	0,07 ± 0,0	e	97,08 ± 0,70

Nilai rata-rata pada kolom yang sama yang diikuti huruf yang sama berbeda tidak nyata berdasarkan uji selang berganda Duncan ($\alpha=0,05$)

Akibat adanya senyawa penghambat makan, maka akan mempengaruhi lama perkembangan serangga (Tabel 11).

Tabel 11. Lama perkembangan larva *C. pavonana* akibat perlakuan formulasi *P. aduncum* 20EC dan 20WP

Konsentrasi (%)	Formulasi 20EC		Formulasi 20WP	
	Lama perkembangan (hari) (X ± SD)		Lama perkembangan (hari) (X ± SD)	
	2 ke 3	2 ke 4	2 ke 3	2 ke 4
0,0(Kontrol)	2,01 ± 0,11	4,02 ± 0,16	2,02 ± 0,16	4,05 ± 0,22
0,09	3,29 ± 0,97	6,10 ± 0,31	3,32 ± 0,94	5,11 ± 0,34
0,11	3,58 ± 0,51	6,28 ± 0,48	4,14 ± 0,85	6,02 ± 0,15
0,13	4,06 ± 0,25	6,44 ± 0,52	4,24 ± 0,65	6,34 ± 0,48
0,15	4,08 ± 0,32	6,48 ± 0,31	4,97 ± 0,80	6,44 ± 0,50
0,17	-	-	-	-

Serangga yang mengkonsumsi makanan dalam jumlah yang cukup dan sesuai akan berkembang dengan baik. Pertumbuhan dan perkembangan serangga akan dipengaruhi oleh kualitas dan kuantitas makanan yang dikonsumsi dan juga keberadaan senyawa metabolit sekunder. Tanaman nimba menghasilkan senyawa metabolit sekunder *azadirachtin* yang dapat mempengaruhi fungsi hormon perkembangan serangga (Rembold *et al.* 1987). Selain menghambat makan *azadirachtin* memiliki aktivitas *insect growth regulator* (IGR) (Schmutterer 1987). Ekstrak aseton berbagai tumbuhan famili Meliaceae juga telah dilaporkan memiliki aktivitas menghambat perkembangan larva *C. pavonana* (Priyono 2003).

3.4. Uji persistensi formulasi ekstrak buah *P. aduncum*

Perlakuan formulasi ekstrak buah *P. aduncum* 20EC dan 20WP dapat menyebabkan kematian larva yang dimulai pada hari 0 sampai hari ke 3 setelah perlakuan. Setelah hari ke 4 tidak ada lagi larva yang mati. Penambahan paraaminobenzoat tidak dapat memperpanjang lama bertahan residu di lapangan akan tetapi dapat meningkatkan mortalitas larva dibandingkan tanpa paraaminobenzoat. (Tabel 12). Jika dilihat dari klasifikasi persistensi menurut Hassan *et al.* (1994) maka formulasi ekstrak buah *P. aduncum* termasuk kategori persistensi sangat singkat karena hanya bertahan di lapang selama 3 hari.

Tabel 12. Mortalitas larva *C. pavonana* pada perlakuan residu formulasi buah *P. aduncum* (48 Jam Setelah Perlakuan) tanpa dan penambahan paraaminobenzoat 1%.

Perlakuan	Mortalitas (%) larva pada perlakuan residu 48 Jam Setelah Perlakuan				
	Mortalitas pada hari ke				
	0	1	2	3	4
Formulasi 20EC+PABA1%	29,33 a	14,66 ab	13,33 a	6,66 b	0,00 b
Formulasi 20WP+PABA1%	21,33 b	14,66 ab	6,66 b	1,33 c	0,00 b
deltametrin	22,66 ab	15,99 a	15,99 a	13,33 a	7,99 a
Formulasi 20EC	19,99 b	9,32 b	3,99 bc	2,66 bc	0,00 b
Formulasi 20WP	11,99 c	9,32 b	2,66 bc	1,33 c	0,00 b
Kontrol	0,00 d	0,00 c	0,00 c	0,00 c	0,00 b

Nilai rata-rata pada kolom yang sama yang diikuti huruf yang sama berbeda tidak nyata berdasarkan uji selang berganda Duncan ($\alpha=0,05$)

Penurunan mortalitas larva uji disebabkan rendahnya residu senyawa aktif yang tertinggal pada daun perlakuan setelah penyemprotan. Rendahnya deposit senyawa aktif ini disebabkan telah terdegradasinya bahan aktif oleh faktor lingkungan terutama suhu. Pestisida dari bahan alami mudah terurai oleh faktor lingkungan, penguraian ini dapat berlangsung secara kimiawi seperti fotolisis dan hidrolisis atau secara biologis oleh tanaman atau mikroorganisme. Hasil penelitian Oke *et al.* (2007) mendapatkan bahwa ekstrak heksana buah *P. guineense* setelah 24 jam aktivitasnya menurun dan tidak aktif sama sekali setelah 96 jam. Hasil penelitian Zarkani (2008) mendapatkan bahwa perlakuan ekstrak buah *P. retrofractum* pada tanaman kubis residunya hanya bertahan 3 hari, dan pada hari keempat residu bahan uji menunjukkan penurunan aktivitasnya. Hal ini disebabkan karena terjadi penguraian oleh cahaya matahari, dan pencucian oleh air hujan. Scott *et al* (2003, 2004) melaporkan penurunan residu senyawa murni piperin lebih dari 50% akibat penyinaran matahari selama 1 jam. Cabizza *et al.* (2004) melaporkan bahwa senyawa tefrosin dan deguelin dapat didegradasi oleh cahaya matahari setelah dilakukan penyinaran dengan sinar Ultra Violet selama 6 jam, sehingga tidak persisten di alam. Ekstrak buah Piper bersifat non persisten, bahan aktifnya cepat terurai oleh pengaruh sinar matahari. Menurut Edwards (1975) faktor lingkungan yang mempengaruhi

pestisida adalah: temperatur, presipitasi, radiasi dan angin. Rotenon residunya menurun tajam setelah 4 hari dan penurunan terjadi karena terjadi degradasi oleh faktor cahaya (Cabras *et al.* 2002). Jika dilihat dari kategori yang dikemukakan oleh Hassan *et al.* (1994) maka tumbuhan *P. aduncum* termasuk kelompok insektisida dengan persistensi rendah/singkat. Rendahnya persistensi formulasi buah *P. aduncum* kurang menguntungkan secara ekonomi sehingga diperlukan aplikasi yang berulang-ulang, namun persistensi yang singkat memberi peluang untuk melakukan penyemprotan saat menjelang panen. Persistensi yang singkat karena pengaruh cahaya matahari maka dianjurkan untuk aplikasi sore hari atau penggunaan ekstrak dapat dianjurkan untuk pengendalian hama gudang. Priyono (1999) mengemukakan bahwa beberapa kekurangan insektisida botani antara lain persistensinya yang rendah, sehingga pada tingkat populasi hama yang tinggi untuk mencapai keefektivan pengendalian yang maksimum diperlukan aplikasi yang berulang-ulang. Untuk mendapatkan hasil yang lebih baik maka dianjurkan untuk aplikasi formulasi ekstrak buah *P. aduncum* setiap tiga hari atau penyemprotan sebanyak dua kali dalam satu minggu.

3.5. Uji fitotoksisitas formulasi ekstrak buah *P. aduncum*

Hasil pengujian pengaruh fitotoksik formulasi terhadap tanaman brokoli pada pengamatan 6 hari setelah perlakuan (HSP) menunjukkan bahwa tingkat fitotoksik formulasi ekstrak buah *P. aduncum* 20EC sangat rendah (1,44%) sedangkan pada formulasi ekstrak buah *P. aduncum* 20WP tidak menunjukkan gejala fitotoksik (0%) (Tabel 13 dan Gambar 4). Dari Gambar 4 terlihat bahwa perlakuan dengan ekstrak buah *P. aduncum* 20WP terlihat warna putih pada daun tanaman yang disebabkan oleh kaolin yang digunakan sebagai pembawa, ini menunjukkan kelemahan dari formulasi WP, sedangkan pada perlakuan formulasi ekstrak buah *P. aduncum* 20EC terlihat gejala fitotoksik yang ringan ditandai dengan bintik-bintik kecil yang dimulai dari pinggiran daun. Sedangkan kontrol (tanpa perlakuan) dan insektisida sintesis deltametrin tidak memperlihatkan warna putih dan gejala fitotoksik. Kelemahan dari formulasi EC adalah adanya gejala fitotoksik pada tanaman sedangkan pada formulasi WP tidak ada gejala fitotoksik.

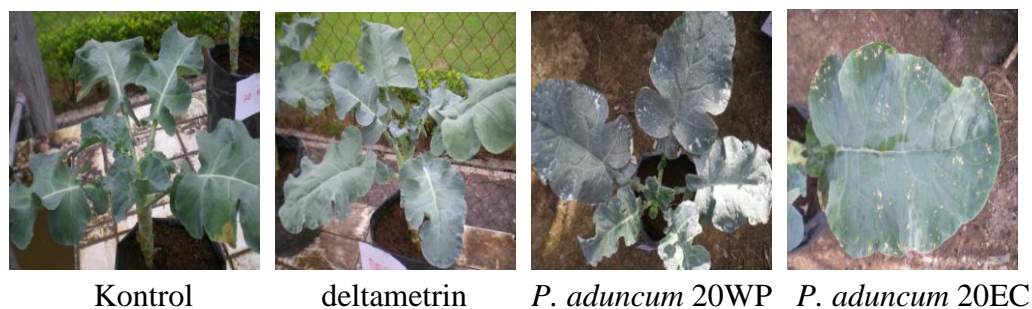
Rendahnya gejala fitotoksik pada perlakuan kemungkinan disebabkan rendahnya kandungan senyawa penyebab fitotoksik dan kuatnya jaringan daun

tanaman brokoli. Bila suatu formulasi yang diaplikasikan pada tanaman tidak menimbulkan gejala fitotoksik sediaan tersebut dapat digunakan langsung setelah disiapkan. Akan tetapi bila terjadi gejala fitotoksik maka perlu dilakukan pemisahan komponen senyawa penyusun ekstrak tersebut. Gejala fitotoksik sering terjadi pada tanaman yang diperlakukan dengan ekstrak/fraksi dan bukan terjadi pada senyawa murninya. Jacobson (1989) melaporkan bahwa *azadirachtin* yang diisolasi dari tumbuhan famili Meliaceae pada konsentrasi yang aktif pada hama sasaran tidak menimbulkan gejala fitotoksik pada tanaman yang diperlakukan, sedangkan ekstrak etanol biji nimba pada konsentrasi 0,1%, 0,2% dan 0,4% menimbulkan gejala fitotoksik pada tanaman *Chrysanthemum*.

Ekstrak/fraksi memiliki banyak gabungan senyawa. Selain adanya senyawa aktif juga mengandung komponen-komponen senyawa lainnya yang mungkin bersifat non polar yang dapat menimbulkan gejala fitotoksik. Ekstrak yang mengandung komponen senyawa non polar yang berwujud minyak dapat merusak lapisan lilin kutikula daun atau membran sel daun tanaman (Priyono 2003). Formulasi ekstrak buah *P. aduncum* 20EC mempunyai potensi yang cukup baik dalam pengendalian hama *C. pavonana* akan tetapi menimbulkan gejala fitotoksik ringan pada tanaman brokoli. Untuk itu diperlukan penelitian untuk mendapatkan suatu teknologi yang dapat meminimalisasi gejala fitotoksik pada tanaman yang diperlakukan.

Tabel 13. Hasil uji fitotoksis formulasi ekstrak buah *P. aduncum* 20EC dan 20WP (pengamatan 6 hari setelah perlakuan)

Perlakuan	Bercak Nekrosis (%)
Kontrol EC	0
Kontrol WP	0
Formulasi 20EC (0,46%)	1,44 ± 1,03
Formulasi 20WP (0,96%)	0
deltametrin (0,04%)	0



Gambar 4. Gejala tanaman kubis yang diperlakukan dengan formulasi ekstrak buah *P. aduncum* 20 EC dan 20 WP, deltametrin dan kontrol

3.6. Uji ekstrak, fraksi dan formulasi buah *P. aduncum* terhadap parasitoid *D. semiclausum*

Perlakuan ekstrak, fraksi dan formulasi ekstrak buah *P. aduncum* 20EC dan 20 WP dapat menyebabkan kematian pada parasitoid, namun tingkat kematiannya masih rendah jika dibandingkan dengan tingkat kematian pada perlakuan insektisida sintesis deltametrin (Tabel 14). Berdasarkan kategori yang dikemukakan oleh Hassan *et al.* (1994) termasuk tidak berbahaya karena tingkat kematian kurang dari 30%.

Tabel 14. Pengaruh ekstrak, fraksi dan formulasi ekstrak buah *P. aduncum* 20EC dan 20WP terhadap mortalitas parasitoid *D. semiclausum*

Perlakuan	Mortalitas \pm SD (%) pada n hari setelah perlakuan		
	1	2	3
Kontrol	4 \pm 5,47 b	4 \pm 5,47 c	4 \pm 5,47 c
Fraksi (4,02%)	10 \pm 7,07 b	16 \pm 11,40 bc	14 \pm 5,47 bc
Ekstrak (0,36%)	20 \pm 10,00 b	24 \pm 5,47 b	26 \pm 8,99 b
Formulasi 20EC (0,46%)	10 \pm 12,24 b	16 \pm 8,94 bc	24 \pm 5,47 b
Formulasi 20WP (0,96%)	8 \pm 8,36 b	12 \pm 4,47 bc	16 \pm 5,47 bc
deltametrin (0,04%)	42 \pm 8,36 a	48 \pm 8,36 a	54 \pm 5,47 a

Pada pengujian dengan menggunakan larva *C. pavonana* ekstrak, fraksi dan formulasi cukup toksik terhadap hama, sedangkan pengujian terhadap parasitoid baik ekstrak, fraksi ekstrak dan formulasi ekstrak buah *P. aduncum* tidak berbahaya terhadap parasitoid. Jika dibandingkan dengan penggunaan insektisida sintetik tingkat mortalitas parasitoid jauh lebih rendah.

Respon serangga uji terhadap senyawa insektisida dipengaruhi oleh jenis serangga, umur dan fase perkembangan serangga, jenis senyawa kimia serta intensitas paparan insektisida tersebut di lapangan. Hasil pengujian Zarkani (2008) fraksi buah *P. retrofractum* pada konsentrasi 0,2% mengakibatkan kematian *D. semiclausum* sebesar 26,7%, sedangkan perlakuan dengan insektisida profenofos menyebabkan kematian parasitoid 100%.

Formulasi ekstrak buah *P. aduncum* memiliki sifat insektisida yang kuat terhadap larva *C. pavonana*, tetapi relatif tidak toksik terhadap imago parasitoid *D. semiclausum*. Rendahnya toksisitas terhadap imago parasitoid kemungkinan disebabkan karena laju penetrasi senyawa tersebut melalui kutikula imago parasitoid lebih rendah dibandingkan laju penetrasi melalui kutikula larva *C. pavonana*, sebagai akibat perbedaan karakteristik kutikula larva inang dengan kutikula imago parasitoid. Secara morfologi kutikula imago lebih keras dibandingkan kutikula larva (Matsumara 1985). Dengan demikian penetrasi senyawa metabolit sekunder buah *P. aduncum* melalui kutikula imago parasitoid *D. semiclausum* lebih rendah dibandingkan dengan penetrasi melalui kutikula larva *C. pavonana*.

IV. KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Ekstrak buah *P. aduncum* bersifat toksin (racun kontak dan racun perut), antifidan, dan berdampak terhadap lamanya stadia larva *C. pavonana*. LC_{50} ekstrak 0,12% dan LC_{50} fraksi 0,21%. Ekstrak lebih aktif dibandingkan dengan fraksi ekstrak. Bahan aktif yang dikandung buah *P. aduncum* adalah dillapiol. Sifat insektisida dari formulasi ekstrak buah *P. aduncum* 20EC dan 20WP tergolong kuat dengan LC_{50} 0,11% dan 0,13%. Formulasi ekstrak setelah diaplikasikan pada tanaman persistensinya singkat dan hanya bertahan 3 hari di lapang. Formulasi ekstrak buah *P. aduncum* 20EC menyebabkan fitotoksisitas sangat ringan, sedangkan formulasi ekstrak 20WP tidak menimbulkan gejala fitotoksik. Formulasi ekstrak buah *P. aduncum* tidak berbahaya terhadap musuh alami. Keunggulan-keunggulan dari ekstrak buah *P. aduncum* akan memberikan sumbangan dalam menurunkan populasi hama bila dipadukan dengan teknik pengendalian lainnya dalam sistem Pengendalian Hama Terpadu.

Saran

Disarankan untuk melakukan penelitian tentang *mode of action*, pencampuran dengan senyawa aktif lainnya untuk melihat efek sinergisme, teknologi untuk meminimalisir gejala fitotoksik pada tanaman, dan penelitian kompatibilitas dengan teknik pengendalian lainnya seperti dengan menggunakan predator, dan menggunakan biopestisida yang dapat mendukung sistem Pengendalian Hama Terpadu.

Daftar Pustaka

- Arnason JT, Mackinnon S, Durst A, Philogene BJR, Hasbun C, Sanchez P, Poveda L, San Roman L, Isman MB, Satasook C, Towers GHN, Wiriyachitra P, Laughlin JLMC. 1993. Insecticides in tropical plants with non-neurotoxic modes of action.. Di dalam : Downum KR, Romeo JT, Stafford HAP, editor. *Phytochemical Potential of Tropical Plants*. New York. Plenum Press. hlm 107-151
- Arneti, Santoni A, Lina EC. 2009. Produksi insektisida botani ramah lingkungan berbahan baku tumbuhan lokal untuk pengendalian hama pada pertanian organik di Sumatera Barat. Laporan Penelitian Hibah Strategis Nasional. Padang. Fakultas Pertanian Univ. Andalas Padang.
- Asman A, Rusli S, Ma'mun. 1999. Formulasi pestisida nabati produk cengkeh. Di dalam : Prosiding Forum Komunikasi Ilmiah Pemanfaatan Pestisida Nabati. Bogor, 9-10 Nopember 1999. Bogor. Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat. hlm 530-537
- Bernard CB, Krishnamurty HG, Chaurent D, Durst T, Philogene BJR, Vindas PS, Hasbun C, Poveda L, Roman LS, Arnason JT. 1995. Insecticidal defenses of piperaceae from the neotropics. *J of Cem Ecol* 21(6) : 801-808
- Cabizza M, Angioni A, Melis M, Cabras M, Tuberoso CV, Cabras P. 2004. Rotenone and rotenoids in cube-resins, formulations, and residues on olives. *J Agric Food Chem* 52 : 288-293
- Cabras P, Caboni P, Cabras M, Angioni A, Russo M. 2002. Rotenon residues on olive and in olive oil. *J Agric Food Chem* 50 (9) : 2576-2580
- Djojosumarto P. 2000. *Teknik Aplikasi Pestisida Pertanian*. Yogyakarta : Kanisius.
- Edwards CA. 1975. Factors that affect the persistence of pesticides in plants and soils. <http://www:iupac.org/publications/pac/1975/pdf/4201x0039>. (24 Februari 2011)
- Estrela JLV, Fazolin M, Catani V, Alecio MR, Lima MS. 2006. Toxicity of essential oils of *Piper aduncum* and *Piper hispidinervum* against *Sitophilus zeamais*. *Pesq agropec bras* 41(2) : 217-222

- Fazolin M, Estrela JLV, Catani V, Lima MS, Alecio MR. 2005. Toxicity of *Piper aduncum* oil to adults of *Ceratoma tingomarianus* Bechyne (Coleoptera : Chrysomelidae). *Neotrop Entomol* 34 (3) : 485-489
- Grainge M, Achmed S. 1987. *Handbook of Plants with Pest Control Properties*. John Wiley and Sons. New York.
- Gray ME, Ratcliffe ST, Rice ME. 2009. The IPM paradigm : concepts, strategies and tactics. Di dalam : Edward BR, William DH, Rafael EC, editor. *Integrated Pest Management*. Cambridge University Press. hlm 1-13
- Guleria S, Tiku AK. 2009. Botanicals in pest management : Current status and future perspectives. Di dalam Peshin R, Dhawan AK, editor. *Integrated Pest Management : Innovation-Development Proses*. Springer Science. London hlm 317-329
- Hassan SA, Bigler F, Bogenschutz H, Boller E, Brun J, Calis JNM, Pelseneer JC, Duso C, Grove A, Vogt H. 1994. Results of the sixth joint pesticide testing programme of the IOBC/WPRS-Working Group."Pesticides and Beneficial Organism". *Entomophaga* 39(1) : 107-119
- Isman MB. 2006. Botanical insecticides, deterrent, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annu Rev Entomol* 51 : 45-66
- Jacobson M. 1989. Botanical pesticides : past, present, and future. Di dalam Arnason JT, Phillogene BJR, Morand P, editor. *Insecticides of Plant Origin*. Washington DC. ACS. hlm 1-10
- Klocke JA, Balandrin MF, Barnby MA, Yamasaki RB. 1989. Limonoids, Phenolics, and Furanocoumarins as Insect Antifeedants, Repellents, and Growth Inhibitory Compounds. Di dalam : Arnason JT, Phillogene BJR, Morand P, editor. *Insecticides of Plant Origin*. Washington DC : ACS hlm 136-149.
- Manjang Y. 2002. Penelitian Kimia Organik Bahan Alam. Pelestarian, Pengembangan Melalui Taman Agrowisata. Di dalam : Workshop Peningkatan Sumberdaya Manusia Kajian Kimia Organik Bahan Alam Hayati dan Pelestarian Hutan. Padang. 21-27 Juli 2002.
- Matsumara F. 1985. *Toxicology of Insecticides*. Edisi ke-2. New York : Plenum Press.
- Oke OA, Anyaele OO, Amusan AAS, Okorie TG. 2007. Toxicity of hexanolic extract of *Piper guineense* Schum and Thonn (Piperaceae) seed oil to larvae of *Aedes aegypti* (L). *Eur J of Sci Res* 18 (1) : 6-11
- Parkinson A, Ogilvie BW, 2008. Biotransformation of xenobiotics. Di dalam : Klaassen CD, editor. Casarett and Doulls" Toxicology. The Basic science of Poisons. New York. Mc Graw Hill. hlm 161-304
- Prakash A, Rao J. 1997. *Botanical Pesticides in Agriculture*. New York. Lewis Publisher
- Prijono D. 1999. Prospek dan strategi pemanfaatan insektisida alami dalam PHT. Di dalam : Bahan Pelatihan Pengembangan dan Pemanfaatan Insektisida Alami. PKPHT. IPB. Bogor. 9-13 Agustus 1999. hlm 20-30

- Prijono D. 2003. Teknik ekstraksi, uji hayati, dan aplikasi senyawa bioaktif tumbuhan. Panduan bagi Pelaksana PHT Perkebunan Rakyat. Departemen Hama dan Penyakit Tumbuhan IPB Bogor.
- Prijono D. 2006. Peranan pestisida botani dalam pengendalian hama terpadu. Di dalam : Pertemuan Koordinasi Pengembangan Pertanian Ramah Lingkungan & Organik . Bogor 17-18 Maret 2006. Bogor. Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor. hlm 1-18.
- Rafael MS, Rojas H, Roper JJ, Nunomura SM, Tadei WP. 2008. Potential control of *Aedes aegypti* (Diptera : Culicidae) with *Piper aduncum* L.(Piperaceae) extracts demonstrated by chromosomal biomarkers and toxic effects on interphase nuclei. *Gen and Molec Res* 7(3) : 721-781
- Rembold H, Foster H, Czoppelt. 1987. Structure and biological activity of azadirachtins A and B. Di dalam : Schmutterer H, Ascher KRS, editor. Natural pesticides from the neem tree (*Azadirachta indica* A. Juss) and other tropical plants. Proceeding of The Third international Neem Conference. Nairobi, Kenya 10-15 July 1986. Eschborn GTZ. hlm 149-160
- Sastrosiswojo S, Setiawati W. 1993. Hama-hama kubis dan pengendaliannya. Di dalam : Permadi AH, Sastrosiswojo S, editor. Bandung : Balithor Lembang. hlm 39-50.
- Sastrosiswojo S. 1996. Sistem pengendalian hama terpadu dalam menunjang agribisnis sayuran. Di dalam : Prosiding Ilmiah Nasional Komoditas Sayuran. Lembang. 24 Oktober 1995. Bandung. Balai Penelitian Tanaman Sayuran. hlm 69-81
- Schmutterer H. 1987. Fecundity-reducing and sterilizing effects of neem seed kernel extracts in the Colorado Potato Beetle, *Leptinotarsa decemlineata*. Di dalam. Schmutterer H, Ascher KRS, editor. Natural pesticides from the neem tree (*Azadirachta indica* A. Juss) and other tropical plants. Proceeding of The Third international Neem Conference. Nairobi, Kenya 10-15 July 1986. Eschborn GTZ. hlm 351-360
- Scott IM, Jensen H, Scott JG, Isman MB, Arnason JT, Philogene BJR. 2003. Botanical insecticides for controlling agricultural pests : Piperamides and the Colorado Potato Beetle *Leptinotarsa decemlineata* Say (Coleoptera : Chrysomelidae). *Arch of Insec Biochem and Physiol* 54 : 212-225
- Scott IM, Gagnon N, Lesage L, Philogene BJR, Arnason JT. 2005. Efficacy of botanical insecticides from Piper species (Piperaceae) extracts for control of European Chafer (Coleoptera:Scarabaeidae). *J EconEntomol* 98(3) : 845-855
- Scott IM, Jensen H, Philogene BJR, Arnason JT. 2008. A review of *Piper* spp. (Piperaceae) phytochemistry, insecticidal activity and mode of action. *Phytochem Rev* 7 : 65-75.
- Scott IM, Jensen H, Nicol R, Lesage L, Bradbury R, Sanchez-Vindas P, Poveda L, Arnason JT, Philogene BJR. 2004. Efficacy of *Piper* (Piperaceae) extracts for control of common home and garden insect pests. *J Econ Entomol* 97 : 1390-1403

- Srivastava S, Gupta MM, Prajapati V, Tripathi AK, Kumar S. 2001 Sesamin a potent antifeedant principle from *Piper mullesua*. *Phytoter Res* 15 : 70-72
- Su HFC. 1990. Biological activities of hexane extract of *Piper cubeba* against rice weevils and cowpea weevils (Coleoptera : Curculionidae). *J Entomol Sci* 25 : 16-20
- Tarumingkeng RC. 1992. *Insektisida. Sifat, Mekanisme Kerja dan Dampak Penggunaannya*. Penerbit UKRIDA. Jakarta.
- Zarkani A. 2008. Aktivitas insektisida ekstrak *Piper retrofractum* VAHL. dan *Tephrosia vogelii* (L). serta keamanan ekstrak tersebut terhadap *Diadegma semiclausum* (HELLEN). [tesis] Bogor. Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.