

Pengujian Ekstrak *Piper retrofractum* sebagai Insektisida Nabati terhadap *Crocidolomia pavonana* dan *Plutella xylostella* Serta Keamanannya terhadap *Diadegma semiclausum*

Testing the Insecticidal Activity of Piper retrofractum Extract on Crocidolomia pavonana and Plutella xylostella and Its Safety to Diadegma semiclausum

Agustin Zarkani¹, Djoko Prijono² dan Pudjianto²

¹Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian UNIB

²Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian IPB

Jln. Raya Kandang Limun Bengkulu 38371 A

abuiffah@yahoo.co.id

ABSTRACT

The active fractions of ethyl acetate extract of *Piper retrofractum* (*Pr*) fruits and the mixtures were evaluated for their insecticidal activities on second-instar larvae of *Crocidolomia pavonana* and *Plutella xylostella* as well as for their safety to the adults of *Diadegma semiclausum*. Fraction 2 and 3 of *Pr* from vacuum liquid chromatography (VLC) had a strong insecticidal activity on *C. pavonana* and *P. xylostella*. In the test with *C. pavonana*, the fractions were more active by feeding than by contact. Based on LC₅₀ at 72 hours since treatment (HST), fraction 2 was 3.8 times more toxic than fraction 3 to *C. pavonana*. Also, fraction 2 was 2.4 times more toxic to *C. pavonana* than to *P. xylostella*. The mixtures of fraction 2 and fraction 3 at concentration ratio of 2:5 was antagonistic on LC₅₀ at 72 HST, but additive to weak synergistic joint action on LC₉₅ at 72 HST against to *C. pavonana* and *P. xylostella*. Fraction 2 had a weak antifeedant effect against *C. pavonana* larvae. With the equal test concentrations, the treatment with fraction 2 caused lower mortality in *D. semiclausum* adults than in its host larvae, *P. xylostella*. In contrast, an organophosphate profenofos, as a positive control, was more detrimental to *D. semiclausum* than to *P. xylostella*. In the semifield experiment, Fraction 2 can reduce the population of *C. pavonana* larvae on broccoli plants although its lower than profenofos and bioinsecticide *Bacillus thuringiensis*.

Key words : Botanical insecticides, insecticidal activities, safety, brassica pests.

ABSTRAK

Fraksi-fraksi aktif dari ekstrak etil asetat buah *Piper retrofractum* (*Pr*) dan campurannya telah dievaluasi aktivitas insektisidanya terhadap larva instar dua *Crocidolomia pavonana* dan *Plutella xylostella* serta keamanannya terhadap serangga dewasa *Diadegma semiclausum*. Fraksi 2 dan 3 dari kromatografi vakum cair (KVC) diketahui memiliki aktivitas insektisida yang kuat terhadap *C. pavonana* dan *P. xylostella*. Melalui pengujian terhadap *C. pavonana*, fraksi-fraksi tersebut lebih aktif melalui uji makan dibandingkan dengan uji kontak. Berdasarkan LC₅₀ pada 70 hari setelah perlakukan (HSP), fraksi 2 lebih toksik 3,8 kali dibandingkan dengan fraksi 3. Fraksi 2 juga lebih toksik 2,4 kali terhadap larva *C. pavonana* dibandingkan larva *P. xylostella*. Campuran faksi 2 dan faksi 3 pada perbandingan 2:5 bersifat antagonis terhadap *C. pavonana* dan *P. xylostella* pada LC₅₀ 72 HSP, tapi sedikit sinergistik lemah pada LC₉₅ 72 HSP. Fraksi 2 memiliki antifeedant lemah terhadap larva *C. pavonana*. Dengan uji konsentrasi yang sama, perlakuan fraksi 2 menyebabkan kematian yang rendah terhadap imago *D. semicalusum* dibandingkan dengan larva *P. xylostella* sebagai inangnya. Senyawa organofosfat profenofos, sebagai kontrol positif, lebih detrimen terhadap *D. semiclausum* dibandingkan *P. xylostella*. Melalui uji semi lapang, fraksi 2 dapat mengurangi populasi larva *C. pavonana* meskipun lebih rendah dibandingkan profenofos dan bioinsektisida *Bacillus thuringiensis*.

Kata kunci : aktivits insektisa, serangga

PENDAHULUAN

Crocidolomia pavonana (F.) (Lepidoptera: Crambidae) dan *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Yponomeutidae) merupakan hama penting tanaman famili Brassicaceae seperti kubis, kubis bunga, petsai, dan lobak baik di daerah dataran tinggi maupun dataran rendah (Kalshoven, 1981). Serangan kedua jenis hama tersebut dapat menyebabkan gagal panen jika tidak dilakukan pengendalian (Sastrosiswoyo dan Setiawati, 1993).

Petani sayuran *Brassica* masih mengandalkan insektisida sintetik untuk mengendalikan kedua jenis hama tersebut (Rauf *et al.* 2005). Namun, penggunaan insektisida sintetik secara terus-menerus dan berlebihan dapat menimbulkan dampak negatif seperti resistensi dan resurjensi hama, ledakan populasi hama sekunder serta munculnya berbagai kasus keracunan terhadap hewan ternak dan manusia (Perry *et al.*, 1998) sehingga perlu dikembangkan sarana pengendalian yang ramah lingkungan. Salah satu sarana pengendalian hama alternatif yang layak dikembangkan ialah insektisida nabati karena mudah terurai di lingkungan (Kaufman *et al.*, 2006) dan relatif aman terhadap organisme bukan sasaran (Schmutterer, 1997). Selain itu, insektisida nabati tidak cepat menimbulkan resistensi hama bila digunakan dalam bentuk ekstrak kasar, komponen ekstrak dapat bersifat sinergis, dan dapat dipadukan dengan teknik pengendalian hama lainnya (Prijono, 1999).

Salah satu tumbuhan yang memiliki potensi sebagai sumber insektisida nabati ialah *Piper retrofractum* (*Pr*). Miyakado *et al.* (1989) melaporkan bahwa senyawa piperamida seperti piperin dan guininsin yang terdapat pada buah *P. retrofractum* bersifat racun kontak terhadap kumbang jantan *Callosobruchus chinensis*. Senyawa piperamida yang mengandung gugus metilendioksifenil memiliki efek sinergis yang berfungsi akan menggantikan posisi insektisida sebagai substrat pada enzim *polysubstrate monooxygenase* (PSMO), sehingga dapat juga berpotensi sebagai bahan campuran insektisida lainnya (Scott *et al.*, 2008).

Untuk itu, evaluasi potensi *P. retrofractum* sebagai insektisida nabati perlu dilakukan sebagai pertimbangan dalam pengendalian hama *C. pavonana* dan *P. xylostella*.

pavonana dan *P. xylostella*. Aspek keamanan insektisida nabati tersebut terhadap musuh alami *Diadegma semiclausum* juga perlu dievaluasi sebagai salah satu landasan penerapannya dalam pengendalian hama terpadu.

Penelitian ini bertujuan menguji (1) efek racun perut dan kontak komponen ekstrak buah *P. retrofractum* (*Pr*) terhadap larva *C. pavonana*; (2) efek racun perut fraksi aktif *Pr* terhadap larva *P. xylostella*; (3) keamanan fraksi aktif *Pr* terhadap imago parasitoid *D. semiclausum*; dan (4) kеefektifan fraksi aktif *Pr* terhadap larva *C. pavonana* pada tanaman brokoli dalam *polybag* di lapangan.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Fisiologi dan Toksikologi Serangga, Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian IPB dan Kebun Percobaan Cikabayan IPB. Bahan tumbuhan yang digunakan sebagai sumber ekstrak ialah buah *P. retrofractum*, yang dibeli dari kios obat tradisional di Bogor.

Ekstraksi dan Fraksinasi *P. retrofractum*

Buah *Pr* dihaluskan dengan blender dan diayak dengan pengayak bermata 0,5 mm. Serbuk buah *Pr* 150 g diekstrak dengan perkolasikan menggunakan etil asetat.

Ekstrak *Pr* difraksinasi dengan kromatografi vakum cair (KVC) dengan penjerap Silica Gel 60 F₂₅₄ (40-63 µm) seperti yang dikemukakan oleh Coll & Bowden (1986). Pelarut yang digunakan adalah diklorometan dan etil asetat dengan rasio berturut-turut 1:0, 9:1, dan 0:1. Fraksi aktif KVC *Pr* dipisahkan lebih lanjut dengan kromatografi kolom (KK) menggunakan eluen CH₂Cl₂:EtOAc 9:1, EtOAc, dan MeOH.

Fraksi yang diperoleh diperiksa kehomogenannya dengan kromatografi lapisan tipis (KLT) menggunakan pelat aluminium berpenjerap Silica Gel 60 F₂₅₄, pelarut pengembang kloroform-dietil eter (19:1), dan bercak komponen dideteksi dengan penyinaran ultraviolet λ 254 nm. Fraksi dengan *retention factor* (Rf) sama disatukan kemudian diuji terhadap larva *C. pavonana*. Kromatogram fraksi aktif *Pr* pada pelat KLT dibandingkan dengan standar piperin.

Tabel 1. Hasil fraksinasi ekstrak etil asetat buah *Pr* dengan KVC serta pengaruhnya terhadap mortalitas larva *C. pavonana*

Fraksi	Hasil (%) ^{a)}	Faktor retensi (Rf)	Mortalitas larva <i>C. pavonana</i> (%) ^{b)}
1	0,912	0,93	14,4
2	0,970	0,79	100,0
2 ⁺	0,107	0,79; 0,86	4,4
3	2,189	0,57; 0,64; 0,79	100,0
4	2,549	0,57; 0,64	31,1
5	0,870	0,14; 0,21; 0,29; 0,36	0,0
6	0,825	0	0,0
Ekstrak kasar	10,57	0,14; 0,21; 0,29; 0,36; 0,57; 0,64; 0,79; 0,86; 0,93	84,6

Keterangan : a) Bobot fraksi relatif terhadap bobot serbuk buah; b)Mortalitas pada 72 jam sejak awal perlakuan (JAP), konsentrasi ekstrak/fraksi 0,12% (w/v), metode residu pada daun. Pada kontrol tidak ada kematian larva.

Uji Toksisitas terhadap Larva *C. pavonana* dan *P. xylostella*

Metode residu pada daun. Ekstrak *Pr* dan fraksi aktif *Pr* diuji terhadap larva *C. pavonana* pada lima taraf konsentrasi yang diharapkan dapat menyebabkan kematian serangga uji antara >0% dan <100% (berdasarkan uji pendahuluan). Ekstrak atau fraksi dilarutkan dalam campuran metanol, aseton, dan Tween 80(5:5:2) kemudian diencerkan dengan akuades hingga volume yang diinginkan (konsentrasi akhir metanol + aseton + Tween 80 1,2%) [larutan kontrol: air yang mengandung pelarut dan pengemulsi tersebut]. Larva instar II *C. pavonana* diberi makan daun brokoli perlakuan dan tanpa perlakuan (kontrol) selama 48 jam, kemudian diberi makan daun tanpa perlakuan selama 24 jam berikutnya. Fraksi aktif *Pr* dan campuran antar fraksi aktifnya juga diuji terhadap larva *P. xylostella* dengan metode yang sama. Untuk setiap perlakuan dan kontrol digunakan 75 larva *C. pavonana* atau 40 larva *P. xylostella*. Jumlah larva yang mati dicatat setiap hari hingga hari ke-3. Data kematian serangga uji diolah dengan analisis probit (Finney, 1971) menggunakan program POLO-PC (LeOra Software, 1987).

Evaluasi sifat aktivitas campuran fraksi dianalisis berdasarkan model kerja bersama serupa dengan menghitung nisbah ko-toksisitas (NK) pada taraf LC₅₀ dan LC₉₅ seperti yang dikemukakan oleh Wadley (1945) In Kosman and Cohen (1996). Kategori sifat interaksi campuran berdasarkan kategori yang dikemukakan oleh Kosman and Cohen (1996) dan Gisi (1996), yaitu (1) bila NK < 0,7, antagonistik; (2) bila NK 0,7–1,3, aditif; (3)

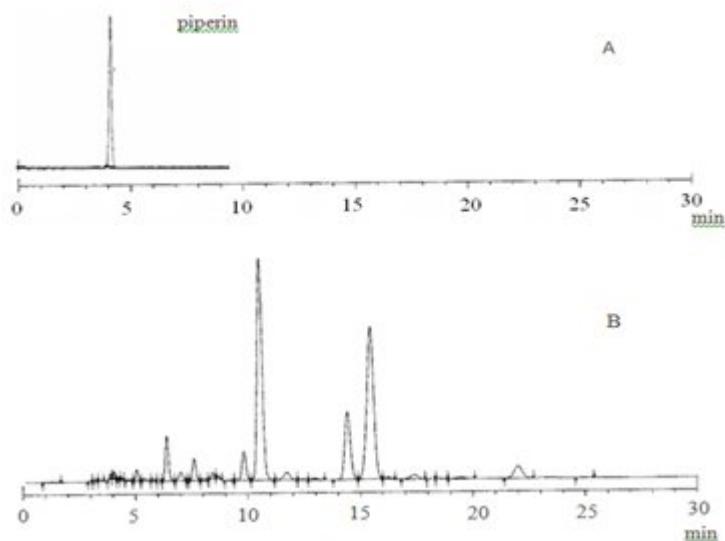
bila NK > 1,3–2, sinergistik lemah; dan (4) bila NK > 2, sinergistik kuat.

Metode kontak. Ekstrak kasar *Pr* dan fraksi aktif *Pr* diuji toksisitas kontaknya terhadap larva *C. pavonana* dengan metode residu pada permukaan gelas dengan konsentrasi 1–4 kali LC₉₅ berdasarkan hasil pengujian dengan metode residu pada daun. Insektisida sintetik profenofos digunakan sebagai pembanding positif.

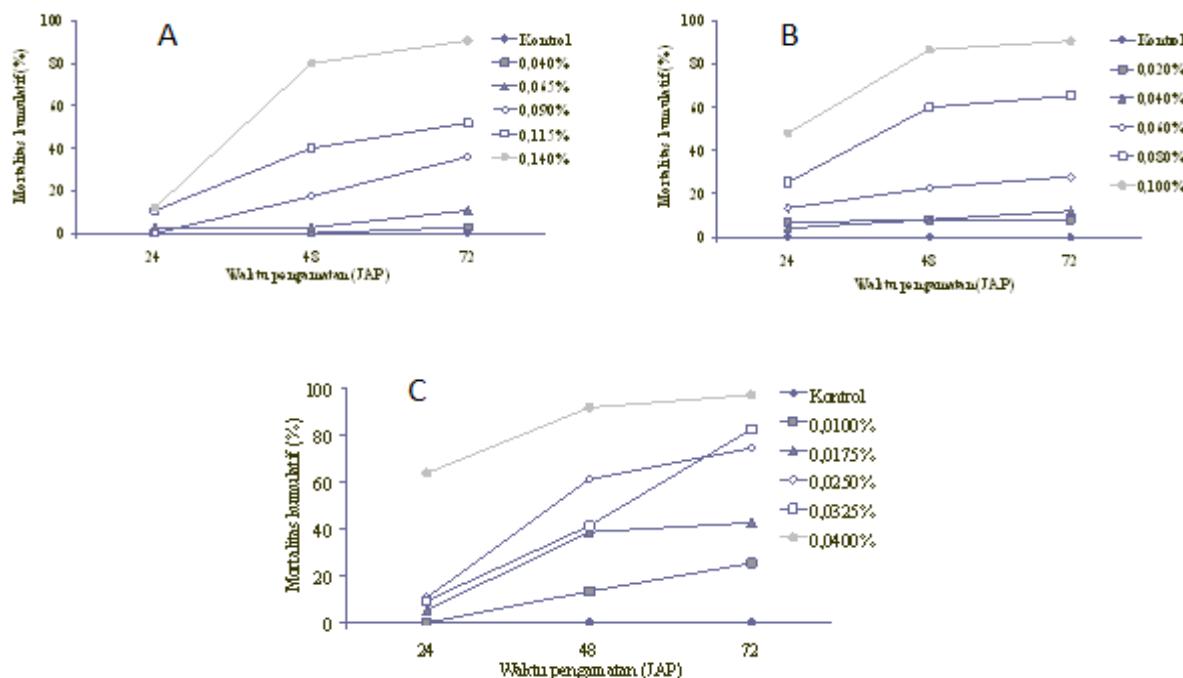
Setiap bahan uji dilarutkan dalam aseton sedangkan kontrol hanya mengandung aseton. Setiap larutan uji dipipet sebanyak 0,5 mL ke dalam tabung gelas berdiameter 2,2 cm dan tinggi 5,8 cm. Setelah kering, ke dalam setiap tabung dimasukkan 15 larva instar II *C. pavonana* yang berumur sekitar 3–4 jam setelah ganti kulit. Setelah 2 jam kontak, larva uji dipindahkan ke dalam cawan petri yang dialasi tisu dan berisi potongan daun brokoli tanpa perlakuan 4 cm x 4 cm. Setiap perlakuan diulang lima kali. Jumlah larva yang mati dihitung pada 24 jam setelah pemindahan ke cawan petri.

Uji Toksisitas Fraksi Aktif *Pr* terhadap Imago Parasitoid *D. semiclausum*

Fraksi aktif *Pr* diuji terhadap imago parasitoid *D. semiclausum* dengan metode kontak pada permukaan daun. Konsentrasi yang diuji ialah ialah 1 x LC₉₅ dan 2 x LC₉₅ tertinggi berdasarkan hasil pengujian terhadap larva *C. pavonana* dan *P. xylostella*. Penyiapan bahan uji dilakukan seperti pada pengujian toksisitas dengan metode residu pada daun dan sebagai pembanding digunakan insektisida sintetik profenofos (Curacron 500 EC).



Gambar 1. Kromatogram standar piperin (A) dan fraksi 2 KVC *P. retrofractum* (B) yang dideteksi dengan UV λ 275 nm



Gambar 2. Perkembangan mortalitas larva *C. pavonana* yang diberi perlakuan ekstrak etil asetat (A), fraksi 2 KVC (B), dan fraksi 3 KVC (C) buah *P. retrofractum*

Satu lembar daun brokoli bertangkai dipotong pada helaian daunnya sehingga menyisakan helaian daun berukuran 5 cm x 5 cm. Daun selanjutnya dicelupkan dalam suspensi bahan uji hingga membasahi permukaan secara merata, kemudian tangkai setiap helaian daun uji dimasukkan dalam botol film berisi air dan

diletakkan di dalam kurungan plastik (tinggi 4,5 cm dan diameter 3,5 cm). Sebanyak 10 ekor imago betina dan jantan parasitoid *D. semiclausum* yang berumur 3-4 hari dimasukkan ke dalam setiap kurungan plastik pengujian dan diberi pakan madu 10% yang diserapkan pada kapas. Imago parasitoid dibiarkan kontak dengan residu bahan

uji pada daun brokoli selama 72 jam. Jumlah serangga uji yang mati dicatat setiap hari sampai hari ke-3.

Uji Semilapangan Fraksi Aktif *P. retrofractum* terhadap Larva *C. pavonana*

Tanaman brokoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica* Plenck) cv. Winter Harvest yang diperoleh dari petani organik Desa Babakan, Kecamatan Darmaga, Kabupaten Bogor pada umur 1 bulan dipindahkan ke dalam *polybag* 5 L dan dipelihara hingga memiliki 5-6 helai daun. Selanjutnya tanaman brokoli tersebut diletakkan di lahan percobaan Cikabayan, IPB.

Percobaan disusun dalam rancangan acak kelompok dengan perlakuan (1) fraksi 2 KVC *Pr* 0,138%, (2) formulasi *Bacillus thuringiensis* (Turex WP) 0,0552%, (3) formulasi profenofos (Curacron 500 EC) 0,0900%, dan (4) kontrol. Konsentrasi yang diuji setara dengan 3 x LC₉₅ terhadap larva instar II *C. pavonana* pada pengujian dengan metode residu pada daun di laboratorium. Tiap unit perlakuan terdiri atas dua tanaman brokoli dengan empat ulangan.

Sediaan bahan uji disemprotkan pada permukaan atas dan bawah daun hingga merata tanaman brokoli dengan menggunakan *hand sprayer*. Pada salah satu tanaman brokoli diinfestasikan 15 larva instar II *C. pavonana*

Tabel 2. Penduga parameter toksitas ekstrak dan fraksi KVC *Pr* terhadap larva instar II *C. pavonana* dengan metode residu pada daun

Waktu pengamatan (JAP) ^{a)}	<i>a</i> ± GB ^{b)}	<i>b</i> ± GB ^{b)}	LC ₅₀ (SK 0.95) (%)	LC ₉₅ (SK 0.95) (%)
Fraksi 2 KVC				
24	8,00 ± 1,22	5,76 ± 0,81	0,041 (0,036-0,060)	0,078 (0,055-0,253)
48	5,36 ± 0,60	3,24 ± 0,36	0,022 (0,017-0,028)	0,071 (0,048-0,209)
72	6,67 ± 0,63	3,76 ± 0,37	0,017 (0,013-0,020)	0,046 (0,036-0,075)
Fraksi 3 KVC				
24	0,23 ± 0,19	2,41 ± 0,40	0,136 (0,094-0,526)	0,655 (0,260-0,460)
48	4,56 ± 0,49	3,96 ± 0,41	0,071 (0,057-0,093)	0,184 (0,057-0,497)
72	4,86 ± 0,49	4,09 ± 0,40	0,065 (0,054-0,081)	0,164 (0,118-0,350)
Ekstrak etil asetat				
48	7,85 ± 0,90	8,43 ± 0,94	0,117 (0,110-0,127)	0,184 (0,161-0,231)
72	5,84 ± 0,60	5,92 ± 0,59	0,103 (0,092-0,118)	0,195 (0,158-0,302)
Profenofos^{c)}				
48	7,87 ± 0,67	4,20 ± 0,35	0,013 (0,011-0,016)	0,033 (0,025-0,055)
72	7,90 ± 0,67	4,18 ± 0,35	0,013 (0,010-0,015)	0,032 (0,024-0,054)

Keterangan: ^{a)} JAP = jam sejak awal perlakuan; ^{b)} *a* = intersep regresi probit, *b* = kemiringan regresi probit, GB = galat baku, SK = selang kepercayaan; ^{c)} Konsentrasi dalam % formulasi (v/v).

segera setelah cairan semprot mengering dan 7 hari kemudian dilakukan infestasi ulang dengan jumlah larva uji yang sama pada tanaman brokoli kedua. Jumlah larva yang hidup dicatat pada 3, 4, dan 7 hari setelah infestasi pertama dan kedua. Data diolah dengan sidik ragam yang dilanjutkan dengan uji selang berganda Duncan pada taraf nyata 5%.

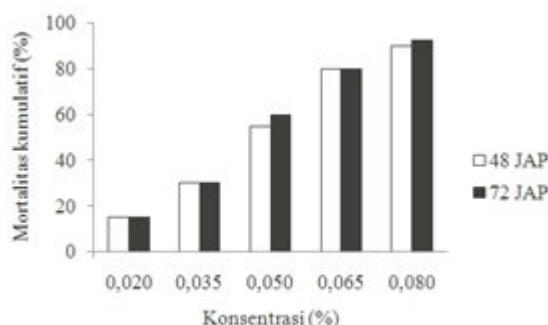
HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi dan Fraksinasi *P. retrofractum*

Ekstraksi 150 g serbuk buah *P. retrofractum* (*Pr*) dengan EtOAc menghasilkan 15,86 g (10,57%) ekstrak. Pemisahan 13 g ekstrak EtOAc *Pr* dengan KVC menghasilkan fraksi CH₂Cl₂ 1,89 g (14,54%), fraksi CH₂Cl₂-EtOAc asetat (9:1) 6,94 g (53,38%), fraksi EtOAc 1,27 g (9,77%), dan fraksi MeOH 1,01 g (7,77%). Pemeriksaan fraksi dengan KLT menghasilkan tujuh fraksi. Berdasarkan kemampuan fraksi mematikan larva uji e" 95% pada konsentrasi d" 0,1%, fraksi (fr) 2 dan 3 KVC *Pr* merupakan fraksi yang paling aktif (Tabel 1). Hasil pemisahan dengan KLT menunjukkan bahwa senyawa fr 2 KVC *Pr* bersifat lebih nonpolar dibandingkan dengan senyawa standar piperin dan fr 3 KVC *Pr* mengandung bercak yang identik dengan piperin.

Tabel 3. Mortalitas larva instar II *C. pavonana* yang diberi perlakuan ekstrak/ fraksi aktif *P. retrofractum* dengan metode kontak

Bahan uji	Konsentrasi (%) ^{a)}	Mortalitas (%)
Ekstrak kasar EtOAc	0,70	28,9
Fraksi 1 KVC	1,00	4,4
Fraksi 2 KVC	0,20	17,8
Fraksi 3 KVC	0,50	68,9
	0,25	44,4
Profenofos	0,03	100,0
Kontrol	-	0,0



Gambar 3. Mortalitas larva *P. xylostella* yang diberi perlakuan fraksi 2 KVC *Pr*

Perlakuan dengan ekstrak kasar *Pr* 0,12% mengakibatkan kematian larva *C. pavonana* sebesar 84,6%. Kematian larva pada 72 jam sejak awal perlakuan (JAP) akibat perlakuan fraksi 2 dan 3 KVC dari ekstrak tersebut mencapai 100%, dan perlakuan dengan fraksi lainnya mengakibatkan kematian antara 0 dan 31,1%. Perlakuan dengan fraksi 2 dan 3 KVC pada konsentrasi 0,025% pada pengujian lebih lanjut mengakibatkan mortalitas larva uji masing-masing 66,7 dan 6,7% pada 72 JAP. Berdasarkan hasil pengujian tersebut, fraksi 2 KVC digunakan pada percobaan toksisitas dan *antifeedant* terhadap larva *C. pavonana*, toksisitas terhadap larva *P. xylostella* dan imago *D. semiclausum*, serta uji semilapangan terhadap larva *C. pavonana*, sedangkan fraksi 3 KVC hanya digunakan untuk uji toksisitas terhadap larva *C. pavonana*.

Pemeriksaan kemurnian fraksi 2 KVC *Pr* dengan KCKT menunjukkan bahwa fraksi tersebut belum dapat dikatakan murni karena masih memiliki tiga puncak utama (Gambar 1). Pada kromatogram, tiga puncak utama fraksi 2 KVC *Pr* muncul lebih akhir dibandingkan dengan standar piperin. Puncak standar piperin muncul

pada menit 3,87 sedangkan tiga puncak utama fraksi 2 KVC *Pr* muncul pada menit ke 10,54; 14,42; dan ke 15,46. Hal tersebut menunjukkan bahwa fraksi 2 KVC *Pr* lebih nonpolar dibandingkan dengan standar piperin dan keseluruhan fraksi 2 KVC *Pr* mengandung senyawa utama yang berbeda dengan piperin.

Metode Residu pada Daun.

Perkembangan mortalitas larva instar II *C. pavonana* akibat perlakuan dengan ekstrak etil asetat, fraksi 2 KVC, dan fraksi 3 KVC *Pr* menunjukkan pola yang serupa. Kematian larva sebagian besar terjadi pada 24 dan 48 JAP, sedangkan pada 72 JAP tingkat kematian larva umumnya hanya sedikit mengalami kenaikan (Gambar 2). Hal ini disebabkan pada 48 JAP daun perlakuan sudah diganti dengan daun tanpa perlakuan dan peningkatan kematian larva uji yang rendah pada 72 JAP menunjukkan bahwa residu ekstrak yang tertinggal dalam tubuh larva uji sudah tidak dapat meningkatkan kematian secara nyata.

Perlakuan dengan ekstrak etil asetat, fraksi 2 KVC, dan fraksi 3 KVC ekstrak buah *Pr* konsentrasi tertinggi (masing-masing 0,14; 0,04 dan 0,1%) mengakibatkan kematian serangga masing-masing lebih dari 90, 95 dan 90% (Gambar 2). Peningkatan persentase kematian larva *C. pavonana* terpaut dengan peningkatan konsentrasi bahan uji. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak dan fraksi aktif buah *Pr* bersifat aktif secara kuantitatif. Persentase kematian larva yang meningkat berdasarkan lamanya pengamatan menunjukkan bahwa kematian larva terjadi secara bertahap dan tidak terjadi segera setelah perlakuan. Dengan demikian ekstrak etil asetat, fraksi 2 KVC, dan fraksi 3 KVC ekstrak buah *Pr* insektisida yang bekerja relatif lambat terhadap larva *C. pavonana*.

Peningkatan mortalitas larva *C. pavonana* secara bertahap juga nampak dari hasil analisis probit terhadap data mortalitas larva instar II *C. Pavonana* (Tabel 2). Analisis probit dilakukan terhadap data kematian pada 24, 48, dan 72 JAP yang mortalitasnya > 50% sehingga kematian larva uji pada 24 JAP untuk perlakuan dengan ekstrak etil asetat tidak diolah dengan analisis probit. LC₅₀ dan LC₉₅ semua ekstrak/ fraksi pada 72 JAP cenderung lebih rendah dibandingkan pada 24 dan 48 JAP. Hal ini

menunjukkan bahwa untuk mematikan larva pada 24 JAP dan 48 JAP diperlukan konsentrasi bahan uji yang lebih tinggi.

Berdasarkan LC_{50} pada 72 JAP, fraksi 2 dan 3 KVC *Pr* masing-masing sekitar 6 dan 1,6 kali lebih toksik terhadap larva *C. pavonana* dibandingkan dengan ekstrak kasarnya,

sedangkan berdasarkan LC_{95} -nya fraksi 2 dan 3 KVC tersebut sekitar 4,2 dan 1,9 kali lebih toksik. Bila dibandingkan dengan profenofos, toksitas fraksi 2 dan 3 KVC serta ekstrak kasar *Pr* pada taraf LC_{50} sekitar 1,3; 5; dan 7,9 kali lebih rendah dan pada LC_{95} sekitar 1,4; 5,1; dan 6,1 kali lebih rendah.

Tabel 4. Aktivitas penghambat makan fraksi 2 KVC *Pr* terhadap larva instar II *C. pavonana*

Konsentrasi ekstrak Pr2 (%) ^{a)}	Luas daun yang dimakan (mm ²)		Nilai <i>P</i> ^{b)}	Efek penghambatan makan (%) ^{c)}
	Kontrol	Perlakuan		
LC ₁₀ (0,0078)	106,57 ± 54,25	61,26 ± 0,02	0,218	26,99a
LC ₂₅ (0,0110)	127,80 ± 50,42	76,73 ± 43,27	0,259	24,98a
LC ₄₀ (0,0140)	105,12 ± 23,35	64,04 ± 22,42	0,051	24,28a
LC ₅₅ (0,0180)	149,03 ± 53,44	84,15 ± 49,53	0,196	27,82a
LC ₇₀ (0,0230)	107,39 ± 47,50	57,23 ± 34,86	0,158	30,47a

Keterangan: ^{a)}Pr2 = fraksi 2 KVC ekstrak buah *Pr*; ^{b)} Hasil uji-*t* berpasangan ($\alpha = 0,05$) menunjukkan penghambatan makan yang nyata bila nilai *P* d" 0,05; ^{c)} Rataan yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji selang berganda Duncan ($\alpha = 0,05$). Data ditransformasi ke arcsin^{70%} sebelum diolah dengan sidak ragam.

Tabel 5. Penduga parameter toksitas fraksi 2 KVC *Pr* terhadap larva instar II *P. xylostella* dengan metode residu pada daun

Waktu pengamatan (JAP) ^{a)}	<i>a</i> ± GB ^{b)}	<i>b</i> ± GB ^{b)}	LC_{50} (SK 0,95) (%)	LC_{95} (SK 0,95) (%)
48	5,41 ± 0,71	3,94 ± 0,52	0,042 (0,037-0,047)	0,111 (0,090-0,155)
72	5,69 ± 0,72	4,11 ± 0,53	0,041 (0,036-0,047)	0,104 (0,084-0,147)
Profenofos				
48	-3,77 ± 0,72	5,61 ± 0,96	4,692 (4,001-5,17)	9,225 (7,84-12,98)
72	-4,73 ± 0,83	7,40 ± 1,14	4,359 (3,89-4,70)	7,271 (6,60-8,55)

Keterangan : ^{a)}JAP = jam sejak awal perlakuan. Pr2 = fraksi 2 KVC ekstrak buah *Pr*; ^{b)} *a* = intersep regresi probit, *b* = kemiringan regresi probit, GB = galat baku, SK = selang kepercayaan.

Tabel 6. Mortalitas imago jantan dan betina parasitoid *D. semiclausum* yang diberi perlakuan fraksi 2 KVC *Pr* dengan metode kontak permukaan daun

Bahan uji ^{a)}	Konsentrasi (%)	Mortalitas (%) imago pada waktu pengamatan (JAP) ^{b)}					
		Jantan		Betina			
		24	48	72	24	48	72
Pr2	0,208	26,7	60,0	93,3	16,7	30,0	70,0
	0,104	6,7	30,0	73,3	3,3	10,0	50,0
Profenofos	2,000	43,3	96,7	100,0	63,3	100,0	100,0
	5,000	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
Kontrol	-	0,0	0,0	3,3	0,0	0,0	0,0

Keterangan : ^{a)}Pr2 = fraksi 2 KVC ekstrak buah *Pr*; ^{b)} JAP = jam sejak awal perlakuan.

Tabel 7. Persentase larva *C. pavonana* yang ditemukan kembali pada tanaman brokoli yang diberi perlakuan

Perlakuan ^{b)}	Konsentrasi (%)	Persentase larva yang bertahan hidup pada n HSP ^{a)}					
		Infestasi I		Infestasi II			
		3	4	7	3	4	7
Pr2	0,138	23,3a	23,3a	0,0a	45,0a	45,0a	1,7a
Profenofos ^{c)}	0,090	0,0b	0,0b	0,0a	28,3a	28,3a	1,7a
<i>Bt</i> ^{c)}	0,055	0,0b	0,0b	0,0a	28,3a	28,3a	1,7a
Kontrol	-	66,7c	66,7c	1,7a	45,0a	45,0a	1,7a

Keterangan : ^{a)}Jumlah larva instar II yang diinfestasikan per tanaman adalah 15 ekor. Nilai rata-rata pada kolom yang sama yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji selang berganda Duncan ($\alpha = 0,05$); ^{b)}

Pr2 = fraksi 2 KVC ekstrak buah *Pr*; ^{c)} Konsentrasi formulasi.

Fraksi 2 KVC *Pr* merupakan fraksi yang paling aktif terhadap larva *C. pavonana* dengan LC₉₅ pada 72 JAP hanya sekitar 0,046% (batas atas SK 95% dari LC₉₅ tidak melebihi 0,1%), yang mencerminkan bahwa fraksi tersebut memiliki aktivitas insektisida yang kuat dan layak dikembangkan. Ekstrak etil asetat dikatakan masih cukup aktif karena LC₉₅ pada 72 JAP tidak melebihi 0,5%.

Fraksi 3 KVC *Pr* dapat dikatakan kurang aktif karena batas atas SK 95% dari LC₉₅ melebihi 0,1% dan LC₉₅ fraksi 3 KVC *Pr* (0,164%) tidak berbeda nyata dengan LC₉₅ ekstrak kasarnya (SK 95% tumpang-tindih, Tabel 2). Prijono (1999) menyatakan bahwa fraksi dari ekstrak kasar bahan tumbuhan pada konsentrasi lebih besar dari 0,1% dan ekstrak kasar tumbuhan yang lebih besar dari 0,5% kurang efisien digunakan sebagai insektisida karena dalam penyiapannya akan dibutuhkan sumber bahan tanaman yang cukup banyak.

Metode Kontak Permukaan Gelas.

Fraksi 1, 2, dan 3 KVC *P. retrofractum* serta ekstrak kasarnya yang diuji dengan metode kontak pada permukaan gelas pada konsentrasi yang setara dengan lima kali konsentrasi yang mengakibatkan mortalitas larva *C. pavonana* sekitar 80% pada uji pendahuluan dengan metode residu pada daun. Tingkat kematian larva tertinggi terjadi pada perlakuan dengan fraksi 3 KVC *Pr* pada konsentrasi 0,5% dengan mortalitas 68,9%, sedangkan fraksi 1, 2, dan 3 KVC *Pr* dengan konsentrasi masing-masing 0,2, 1 dan 0,7% hanya mengakibatkan kematian larva uji berturut-turut 17,8; 4,4, dan 28,9%. Sementara itu, profenofos pada konsentrasi yang setara dengan LC₉₅ metode residu pada daun mengakibatkan kematian larva *C. pavonana* sampai 100% dengan metode kontak (Tabel 3). ^{a)}Konsentrasi yang diuji setara dengan lima kali konsentrasi yang mengakibatkan kematian larva *C. pavonana* sekitar 80% pada uji pendahuluan dengan metode residu pada daun, kecuali konsentrasi profenofos yang setara dengan LC₉₅ metode residu pada daun.

Rendahnya mortalitas *C. pavonana* akibat perlakuan ekstrak/fraksi *Pr* dengan metode kontak dapat disebabkan oleh beberapa hal, di antaranya waktu pemaparan tidak dapat dilakukan lebih dari 2 jam karena serangga uji akan kelaparan. Faktor lain mungkin disebabkan

banyaknya bahan aktif ekstrak yang masuk ke dalam tubuh serangga setelah menembus kutikula jauh lebih sedikit dibandingkan dengan banyaknya komponen aktif ekstrak yang masuk ke dalam tubuh melalui saluran pencernaan makanan. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa ekstrak etil asetat buah *Pr*, serta fraksi 2 KVC dan fraksi 3 KVC *Pr* memiliki efek kontak yang lemah. Apabila bahan tersebut digunakan di lapangan, kematian larva *C. pavonana* sasaran akan lebih banyak disumbangkan oleh sifat racun perutnya. Insektisida yang memiliki efek kontak yang kuat, misalnya profenofos, pada konsentrasi yang sama (0,03%) dapat mengakibatkan kematian yang tinggi pada larva *C. pavonana* baik dengan metode kontak maupun dengan metode residu pada daun (Tabel 2 dan 3).

Pengaruh Antifeedant Fraksi Aktif *Pr* terhadap Larva *C. pavonana*

Fraksi 2 KVC *Pr* memiliki efek antifeedant lemah terhadap larva instar II *C. pavonana* dengan efek penghambatan makan pada perlakuan LC₁₀ sampai LC₇₀ hanya sekitar 27-30,5% dan antar perlakuan tidak berbeda nyata (Tabel 4). Hal ini menunjukkan tidak adanya pengaruh zat aktif dari fraksi 2 KVC *Pr* terhadap respons alat-alat indera pendeksi zat penghambat makan sehingga serangga tidak menghentikan aktivitas makannya.

Toksitas Fraksi Aktif *P. retrofractum* terhadap *P. xylostella*

Mortalitas larva instar II *P. xylostella* yang diberi perlakuan fraksi 2 KVC *Pr* dengan metode residu pada daun selama 72 JAP menunjukkan pola yang serupa. Tingkat kematian larva pada hari pertama tidak dihitung karena kecilnya ukuran larva dan perilaku larva yang diam sehingga sulit ditentukan apakah larva telah mati atau belum. Kematian larva mulai tampak jelas terlihat pada 48 JAP, kemudian konstan atau sedikit mengalami peningkatan pada 72 JAP (Gambar 3).

LC₅₀ dan LC₉₅ fraksi 2 KVC *Pr* insektisida pembanding profenofos terhadap larva *P. xylostella* pada 72 JAP tidak berbeda nyata dengan LC₅₀ dan LC₉₅ masing-masing pada 48 JAP (Tabel 5). Hal ini mencerminkan sudah tidak terjadi peningkatan kematian larva uji yang nyata

antara 48 dan 72 JAP. Dengan demikian bahan nabati tersebut dapat menjadi alternatif pengganti insektisida sintetik seperti profenofos yang sudah tidak efektif lagi terhadap larva *P. xylostella* (LC_{95} 7,3% (Tabel 5), yang setara dengan > 24 kali konsentrasi anjuran formulasi).

Toksisitas Fraksi Aktif *P. retrofractum* terhadap *D. semiclausum*

Fraksi 2 KVC *Pr* pada konsentrasi 0,104% dan 0,208% (1 x LC_{95} dan 2 x LC_{95} terhadap larva inang *P. xylostella*) mengakibatkan kematian imago jantan dan betina parasitoid *D. semiclausum* yang cukup tinggi (Tabel 6). Meskipun demikian, fraksi 2 KVC *P. retrofractum* masih berpotensi untuk digunakan sebagai bahan pengendalian alternatif dibandingkan dengan insektisida sintetik profenofos yang pada konsentrasi 2% (jauh lebih kecil daripada LC_{95} terhadap *P. xylostella*) sudah dapat mengakibatkan kematian imago jantan dan betina *D. semiclausum* sampai 100%.

Uji Semilapangan terhadap *C. pavonana*

Persentase larva *C. pavonana* yang ditemukan kembali pada tanaman brokoli yang diberi perlakuan fraksi 2 KVC *Pr* pada hari ke-3 dan 4 setelah infestasi pertama lebih rendah dibandingkan dengan kontrol (Tabel 7). Pada tanaman yang diberi perlakuan dengan insektisida sintetik profenofos dan bioinsektisida *B. thuringiensis*, larva *C. pavonana* sudah tidak ditemukan lagi sejak hari ke-3 setelah infestasi pertama. Hal ini menunjukkan bahwa profenofos dan *B. thuringiensis* masih efektif terhadap larva *C. pavonana* mengingat konsentrasi profenofos yang diuji hanya sekitar 0,3 x konsentrasi anjurannya dan konsentrasi uji untuk *B. thuringiensis* sama dengan konsentrasi anjurannya. Pada tanaman kontrol, jumlah larva *C. pavonana* yang ditemukan kembali hanya 66,7% dari jumlah awal yang diinfestasikan. Penurunan jumlah larva sebesar 33,3% ini mungkin disebabkan oleh faktor musuh alami dan/atau tercuci hujan.

Pada hari ke-4 setelah infestasi pertama, perlakuan dengan semua bahan uji tidak mengakibatkan penambahan jumlah larva yang mati. Hal ini menunjukkan bahwa residu bahan uji sudah mengalami penurunan keaktifan baik

karena penguraian oleh cahaya matahari, pencucian oleh hujan, atau karena larva uji sudah cukup besar dan lebih toleran. Data cuaca yang diperoleh dari Stasiun Klimatologi Darmaga-Bogor selama berlangsungnya percobaan semilapangan menunjukkan curah hujan yang tinggi pada hari kedua dan keempat setelah infestasi pertama, masing-masing 33 dan 34 mm.

Pada hari ke-7 setelah infestasi pertama terjadi penurunan persentase larva *C. pavonana* yang ditemukan kembali secara drastis pada semua perlakuan termasuk kontrol. Kemungkinan besar larva *C. pavonana* yang masih hidup sudah turun dari tanaman untuk berkepompong di dalam tanah sehingga sudah tidak ditemukan lagi pada tanaman. Di laboratorium, perkembangan larva *C. pavonana* dari instar II sampai fase pupa umumnya kurang dari 7 hari (Prijono dan Hassan, 1992).

Penurunan aktivitas residu bahan uji juga terungkap dari data persentase larva *C. pavonana* yang ditemukan kembali pada tanaman brokoli setelah infestasi kedua. Pada semua perlakuan, jumlah larva *C. pavonana* yang ditemukan kembali tidak berbeda nyata dengan kontrol baik pada hari ke-3, ke-4, maupun hari ke-7 setelah infestasi kedua (Tabel 7).

KESIMPULAN

Pemisahan dengan kromatografi vakum cair (KVC) ekstrak etil asetat buah *Pr* menghasilkan fraksi 2 KVC *Pr* sebagai fraksi yang aktif terhadap larva *C. pavonana* dan *P. xylostella*. Komponen fraksi 2 KVC *P. retrofractum* bersifat lebih nonpolar dibandingkan senyawa standar piperin berdasarkan kromatografi lapisan tipis (KLT) dan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT).

Fraksi 2 KVC *Pr* memiliki aktivitas insektisida yang kuat terhadap larva *C. pavonana* dengan efek racun perut yang kuat dan efek racun kontak lemah. Berdasarkan LC_{50} pada 72 jam sejak awal perlakuan (JAP), fraksi 2 KVC *Pr* 3,8 kali lebih toksik daripada fraksi 3 KVC terhadap larva *C. pavonana*. Selain itu, fraksi 2 KVC *Pr* 2,4 kali lebih toksik terhadap larva *C. pavonana* daripada terhadap larva *P. xylostella*. Fraksi 2 KVC *Pr* memiliki efek antifeedant lemah.

Fraksi 2 KVC *Pr* pada 1 x LC₉₅ terhadap larva *P. xylostella* mengakibatkan kematian lebih dari 50% imago jantan dan betina parasitoid *D. semiclausum*. Pada uji semilapangan, fraksi 2 KVC *Pr* dapat menurunkan populasi larva *C. pavonana* pada tanaman brokoli 1/3 dari kontrolnya meskipun lebih rendah dari kemampuan insektisida sintetik profenofos dan bioinsektida *Bacillus thuringiensis* sehingga fraksi *Pr* tersebut masih cukup layak dikembangkan lebih lanjut.

SANWACANA

Terima kasih diucapkan kepada Ir. Djoko Prijono, MAgSc. selaku ketua Laboratorium Fisiologi dan Toksikologi Serangga, Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian IPB yang telah memberikan segala fasilitas bahan dan alat dalam pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Coll, J.C., B.F. Bowden. 1986. The application of vacuum liquid chromatography to the separation of terpene mixtures. *J Nat Prod* 49: 934-936.
- Finney, D.J. 1971. Probit Analysis. Ed ke-3. The University Press, Cambridge
- Gisi, U. 1996. Synergistic interaction of fungicides in mixtures. *Phytopathology* 86: 1273-1279.
- Kalshoven, V.D.L. 1981. Pests of Crops in Indonesia. Van der Laan P.A., penerjemah. Jakarta: Ichtiar Baru-Van Hoeve. *Terjemahan De Plagen van de Cultuurgewassen in Indonesië*.
- Kaufman, P.B., A. Kirakosyan, McKenzie, P. Dayanandan, and J.E. Hoyt, C. Li. 2006. The uses of plant natural products by human and risks associated with their uses. In Cseke, L.J., A. Kirakosyan, P.B. Kaufman, S.L. Warber, J.A. Duke, H.L. Briemann, editor. *Natural Products from Plants*. CRC Press, Boca Raton
- Kosman, E., Y. Cohen. 1996. Procedures for calculating and differentiating synergism and antagonism in action of fungicide mixtures. *Phytopathology* 86: 1255-1264.
- LeOra Software. 1987. POLO-PC User's Guide. LeOra Software, Petaluma
- Miyakado, M., I. Nakayama, and N. Ohno. 1989. Insecticidal unsaturated isobutyramides. Di Dalam: Arnason, J.T., B.J.R. Philogene, P. Morand, editor. *Insecticides of Plant Origin*. Washinton DC: ACS. P. 173-187.
- Perry, A.S., I. Yamamoto, I. Ishaya, and R.Y. Perry. 1998. *Insecticides in Agriculture and Environment: Retrospects and Prospects*. Springer, Berlin
- Prijono, D. 1999. Prospek dan strategi pemanfaatan insektisida alami dalam PHT. Di dalam: Nugroho, B.W., Dadang, D. Priyono, editor. *Bahan Pelatihan Pengembangan dan Pemanfaatan Insektisida Alami*; Bogor, 9-13 Agustus 1999. Bogor: Pusat Kajian PHT.
- Prijono, D., E. Hasan. 1992. Life cycle and demography of *Crocidolomia binotalis* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) on broccoli in laboratory. *Indon J Trop Agric* 4: 18-24.
- Rauf, A., D. Prijono, Dadang, I.W. Winasa, and D.A. Russell. 2005. Survey of pesticide use by cabbage farmers in West Java, Indonesia [report]. Cooperation between Department of Plant Pests and Diseases IPB (Indonesia) and Centre for Environmental Stress and Adaptation Research, LaTrobe University (Australia).
- Sastrosiswojo, B., dan W. Setiawati. 1993. Hamahama tanaman kubis dan cara pengendaliannya. Di dalam: Permadi, A.H., S. Sastrosiswojo, editor. *Kubis*. Bandung: Balitbang Pertanian dan Balai Penelitian Hortikultura. hlm 39-50.
- Schmutterer, H. 1997. Side-effect of neem (*Azadirachta indica*) products on insect pathogens and natural enemies of spider mites and insects. *J Appl Entomol* 121: 121-128.
- Scott, I.M., H.R. Jensen, B.J.R. Philogene, and J.T. Arnason. 2008. A review of *Piper* spp. (Piperaceae) phytochemistry, insecticidal activity and mode of action. *Phytochem Rev* 7: 65-75.