

## POTENSI DAN PROSPEK DAUN ENCOK (*Plumbago zeylanica* L.) SEBAGAI BAHAN AKTIF PESTISIDA NABATI

### *Potency and Prospect of Ceylon Leadwort (Plumbago zeylanica L.) as Active Ingredients of Botanical Pesticide*

Rohimatun<sup>1</sup> dan Wiratno<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat

Jalan Tentara Pelajar No. 3, Bogor 16111, Indonesia Telp. (0251) 8321879, Faks. (0251) 8327010

E-mail: ima.faizfatin@gmail.com, balitro@litbang.pertanian.go.id

<sup>2</sup>Balai Penelitian Tanah

Jalan Tentara Pelajar No. 12, Bogor 16114, Indonesia Telp. (0251) 8336757, Faks. (0251) 8321608

E-mail: wiratno02@yahoo.com, balittanah@litbang.pertanian.go.id

Diterima: 16 September 2014; Direvisi: 24 Juni 2015; Disetujui: 10 Juli 2015

#### ABSTRAK

Daun encok (*Plumbago zeylanica* L.) merupakan tanaman obat yang juga dapat digunakan sebagai bahan aktif pestisida nabati. Plumbagin merupakan salah satu senyawa sekunder penting yang terkandung dalam tanaman ini dan dapat digunakan sebagai bahan aktif insektisida (*Brontispa longgissima*), akarisisida (*Amblyomma variegatum*), leismanisida (*Tripanosoma protozoa* dan *Leishmania donovani*), nematisida (*Aphelenchoides besseyi* dan *Meloidogyne incognita*), fungisida (*Aspergillus* sp. dan *Fusarium* sp.), dan bakterisida (*Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Pneumococcus* spp., *Salmonella* dan lainnya). Keefektifan senyawa sekunder daun encok sebagai bahan aktif pestisida nabati belum dipahami secara lengkap sehingga perlu diteliti agar dapat menjadi acuan bagi peneliti dan petani pengguna. Pemanfaatan daun encok sebagai bahan baku pestisida nabati diharapkan dapat menekan penggunaan pestisida kimia sintetis yang cenderung berlebihan sekaligus menciptakan keseimbangan ekologi secara berkelanjutan. Tanaman daun encok dapat diperbanyak dengan menggunakan setek dan kultur jaringan. Pemanfaatan bahan nabati, khususnya daun encok, sebagai pestisida nabati akan mengurangi ketergantungan petani pada bahan kimia sintetis sehingga dapat menghasilkan produk yang lebih berdaya saing, ramah lingkungan, dan aman bagi kesehatan.

**Kata kunci:** *Plumbago zeylanica*, pestisida nabati, plumbagin, potensi, prospek

#### ABSTRACT

*Ceylon leadwort or doctorbush (Plumbago zeylanica L.) is a medicinal plant which can also be used as an active ingredient of botanical pesticides. Plumbagin is one of important secondary compounds contained in plant tissues and has a pesticide effect, i.e. insecticide (Brontispa longgissima), acaricide (Amblyomma variegatum), leismanicide (Tripanosoma protozoa and Leishmania donovani), nematocide (Aphelenchoides besseyi and Meloidogyne incognita), fungicide (Aspergillus sp. and Fusarium sp.), and bactericide (Staphylococcus, Streptococcus, Pneumoniae spp., Salmonella, and others). Effectiveness of ceylon leadwort as an*

*active ingredient of botanical pesticides is still not yet understood, so it needs to be studied in order to become a reference for researchers and farmers. Utilization of ceylon leadwort as raw material of botanical pesticides is expected to suppress synthetic chemical pesticide use and create sustainable ecological balance conditions. Ceylon leadwort can be propagated using cuttings and tissue culture. Application of ceylon leadwort as botanical pesticide will reduce the dependence on synthetic chemical pesticide in an effort to produce competitive, environmentally friendly, and healthy agricultural products.*

**Keywords:** *Plumbago zeylanica*, botanical pesticide, plumbagin, potency, prospect

#### PENDAHULUAN

Populasi organisme pengganggu tanaman (OPT) dalam sistem budi daya tanaman perlu dikendalikan secara berkelanjutan agar dampak serangannya dapat ditekan pada tingkat yang tidak merugikan secara ekonomi. Tindakan pengendalian OPT sering kali membutuhkan biaya besar. Sebagai contoh, biaya pembelian pestisida untuk mengendalikan serangan OPT pada tanaman hortikultura dapat mencapai 30–40% dari total biaya produksi (Kardinan 2010). Hal ini karena petani menggunakan pestisida dengan dosis yang berlebihan. Penggunaan pestisida sintetis juga meninggalkan residu di dalam tanah maupun tanaman serta dapat menyebabkan keracunan bagi petani dan konsumen.

Untuk menekan biaya pengendalian OPT dan mengurangi dampak negatif penggunaan pestisida sintetis, petani diharapkan mampu memproduksi sendiri formula pestisida nabati yang bahan aktifnya banyak tersedia di sekitar kebunnya. Jenis-jenis tanaman yang telah diketahui efektif mengendalikan hama pertanian antara lain adalah pyrethrum untuk mengendalikan hama gudang (Biebel *et al.* 2003; Athanassiou dan Kavallieratos

2005; Vayias *et al.* 2006), jeringo untuk mengendalikan *Lasioderma serricorne*, *Sitophilus oryzae*, dan *Callosobruchus chinensis* (Kim *et al.* 2003a; 2003b), tembakau untuk mengendalikan hama polong kacang tunggak dan *Callosobruchus maculatus* (Opolot *et al.* 2006), cengkih untuk mengendalikan *Dermanyssus gallinae*, *Ixodes ricinus*, dan *Meloidogyne incognita* (Thorsell *et al.* 2006; Wiratno *et al.* 2009); lada sebagai antimikroba (Pradhan *et al.* 1999), mimba untuk mengendalikan *Cnaphalocrocis medinalis* (Nathan *et al.* 2006), serai wangi sebagai penolak nyamuk (Oyedele *et al.* 2002) dan pengendali *Dasynus piperis* (Rohimatun dan Laba 2013) dan *Conophomorpha cramerella* (Willis *et al.* 2013), sirih untuk mengendalikan *Chrysomya bezziana* (Wardhana *et al.* 2007), akar tuba untuk menghambat enzim pernapasan (Hien *et al.* 2003), jambu mete untuk mengendalikan hama gudang (Oparaeke dan Bunmi 2006), akar wangi sebagai pengendali rayap (Zhu *et al.* 2001), serta tanaman daun encok.

Daun encok merupakan salah satu jenis tanaman perdu yang banyak tumbuh di daerah savana (padang rumput), pinggiran hutan, ladang, tepi saluran air, atau pekarangan sebagai pagar hidup. Tanaman ini sangat beracun dan dapat menyebabkan kerusakan kulit (kulit melepuh), seperti luka bakar (Sirait 1990 dalam Anonim 2005). Dengan kemampuannya tersebut, daun encok dapat dikembangkan sebagai salah satu bahan pestisida nabati. Namun, penggunaannya harus memerhatikan ketersediaan bahan, ekstraksi, dan aplikasinya.

Daun encok mengandung plumbagin (Patil *et al.* 2011). Bahan aktif ini telah dimanfaatkan sebagai insektisida bagi *Helicoverpa armigera* (Josephraj Kumar dan Subrahmanyam 2002), larvasida (Hassanali dan Lwande 1989), akarisisida (Annan *et al.* 2009), nematisida (Jong *et al.* 1997), fungisida (Mahoney *et al.* 2000; Mungwini 2006), maupun bakterisida nabati (Mungwini 2006).

Artikel ini mengulas potensi dan prospek daun encok sebagai bahan aktif pestisida nabati. Artikel ini diharapkan dapat menjadi acuan bagi peneliti dan petani pengguna dalam mempelajari, mengembangkan, dan memanfaatkan daun encok sebagai bahan baku pestisida nabati.

## KANDUNGAN KIMIA DAUN ENCOK

Daun encok (Gambar 1) mengandung minyak atsiri 2–3% v/b, tanin 1,5%, steroid/triterpenoid, plumbagin, 3-3 biplumbagin, 3-chloroplumbagin, chitratone (3-6-biplumbagin), droserone (2-hydroxy plumbagin), dan noftohin (Departemen Kesehatan 1995; Haryanto 2009). Suhirman *et al.* (2006) yang menganalisis ekstrak daun, akar, dan batang tanaman daun encok mendapatkan senyawa golongan alkaloid, saponin, tanin, dan glikosida (Tabel 1). Hasil analisis kualitatif ekstrak kasar daun encok didominasi oleh senyawa plumbagin (Patil *et al.* 2011).

Golongan senyawa alkaloid, saponin, tanin, flavonoid, dan glikosida pada beberapa tanaman dapat

dimanfaatkan sebagai pestisida. Alkaloid merupakan garam yang dapat mendegradasi dinding sel (Cania dan Setyaningrum 2013). Hasil penelitian Widawati dan Prasetyowati (2013) menunjukkan buah bit (*Beta vulgaris*) mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, dan saponin, serta senyawa lain. Senyawa-senyawa tersebut bersinergi dan menyebabkan kematian larva nyamuk *Aedes aegypti*. Saponin memiliki rasa pahit dan tajam sehingga dapat menyebabkan iritasi lambung apabila dimakan. Diduga cara kerja saponin ialah menurunkan tegangan permukaan selaput mukosa *tractus digestivus* larva sehingga dindingnya menjadi korosif dan akhirnya rusak. Selain itu, saponin yang terkandung pada berbagai jenis tumbuhan dapat menurunkan aktivitas enzim pencernaan dan penyerapan makanan pada serangga (Dinata 2008). Karimah (2006) menyebutkan senyawa saponin dan flavonoid mampu menghambat pertumbuhan larva dengan mengganggu hormon otak, edikson, dan pertumbuhan. Apabila hormon-hormon tersebut



Gambar 1. Tanaman daun encok (*Plumbago zeylanica*).

Tabel 1. Hasil analisis fitokimia daun, batang, dan akar daun encok.

Golongan senyawa	Daun	Batang	Akar
Alkaloid	++	+++	++
Saponin	++	+	++++
Tanin	++++	++++	++++
Flavonoid	-	-	-
Glikosida	++	++	+++

+ = positif lemah; ++ = positif; +++ = positif kuat;

++++ = positif kuat sekali; - = tidak terdeteksi.

Sumber: Suhirman *et al.* (2006).

terganggu maka pertumbuhan larva akan terganggu pula. Di samping mengganggu proses metabolisme pada serangga, saponin juga memiliki fungsi sebagai antijamur, antibakteri, antivirus, dan antiprotozoa (Turk 2006).

Mekanisme kerja tanin terhadap serangga ialah mengganggu proses pencernaan. Hal tersebut karena tanin dapat mengikat protein dalam sistem pencernaan sehingga proses pencernaan terganggu (Hagerman 2002). Sementara itu, mekanisme kerja flavonoid ialah mengganggu sistem pernapasan karena senyawa ini dapat masuk melalui sistem pernapasan (Cania dan Setyaningrum 2013).

## POTENSI DAUN ENCOK SEBAGAI PESTISIDA NABATI

Beberapa hasil penelitian menunjukkan plumbagin dapat dimanfaatkan sebagai bahan aktif pestisida nabati, baik sebagai insektisida, larvasida, akarisisida, nematisida, fungisida, maupun bakterisida nabati. Mengingat besarnya manfaat khususnya untuk mengendalikan berbagai OPT tanaman pertanian, potensi manfaat daun encok sebagai bahan aktif pestisida nabati perlu diteliti lebih detail agar dapat dimanfaatkan secara luas dalam pengendalian OPT. Beberapa hasil penelitian menunjukkan efektivitas plumbagin pada tanaman daun encok sebagai pestisida nabati.

### Daun Encok sebagai Insektisida

Ekstrak tanaman daun encok dapat mengendalikan *Brontispa longissima* (kumbang janur kelapa). Ekstrak akar tanaman tersebut pada konsentrasi 10% dan 20% masing-masing dapat menyebabkan mortalitas 47,3% dan 81%, sedangkan ekstrak batangnya dapat menyebabkan mortalitas 7,4% dan 27,9%, serta ekstrak daunnya dapat menyebabkan mortalitas 20,1% dan 30,5% pada imago *B. longissima* (Baringbing dan Baringbing 2002). Pada dosis rendah, tumbuhan ini dapat menstimulasi sistem syaraf pusat, sedangkan pada dosis tinggi dapat menyebabkan kematian karena gagal pernapasan dan kelumpuhan (Anonim 2013).

Selain dapat menyebabkan mortalitas *B. longissima*, ekstrak etanol, heksan, dan diklorometana daun encok dapat menyebabkan mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* berturut-turut 100, 86, dan 71%. Nilai  $LC_{50}$  larva instar II, III, dan IV berturut-turut 0,0154, 0,0164, dan 0,0274  $\mu\text{g/ml}$ . Untuk spesies nyamuk lain, yaitu *A. gambiae*, nilai  $LC_{50}$  dan  $LC_{90}$  ekstrak heksan daun encok berturut-turut ialah 6,4 dan 26,2  $\mu\text{g/ml}$  (Maniafu *et al.* 2009). Perbedaan nilai  $LC_{50}$  ekstrak heksan daun encok terhadap larva *A. aegypti* dan *A. gambiae* cukup besar karena aktivitas larvasidal yang berasal dari ekstrak tanaman sangat bervariasi, bergantung pada faktor dalam dan luar tanaman. Faktor dari dalam yaitu spesies, bagian

tanaman yang digunakan, dan umur tanaman. Faktor dari luar meliputi metode aplikasi, asal tanaman, dan teknik budi daya (Dadang dan Prijono 2008; Maniafu *et al.* 2009).

Plumbagin juga mampu menghambat 50% aktivitas enzim *succinate dehydrogenase* yang diisolasi dari *Plasmodium falciparum*, salah satu protozoa parasit penyebab penyakit malaria (Suraveratum *et al.* 2000). Plumbagin juga berperan sebagai zat pengatur tumbuh serangga (*insect growth regulator/IGR*). Pada proses metamorfosis *Helicoverpa armigera*, senyawa ini mengatur isi dan mengubah profil *ecdisteroid*, hormon yang memengaruhi pergantian kulit dan perilaku seksual serangga sehingga serangga gagal bermetamorfosis. Aktivitas dua enzim lisosomal pada lemak tubuh *H. armigera*, yaitu asam fosfatase dan  $\alpha$ -galaktosidase, juga dipengaruhi oleh IGR ini (Josephraj Kumar *et al.* 1999).

### Daun Encok sebagai Akarisisida

Efek akarisisidal plumbagin telah diuji oleh Annan *et al.* (2009) terhadap *Amblyomma variegatum*, sejenis kutu yang hidup pada hewan peliharaan dan manusia. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada konsentrasi 2%, ekstrak tersebut dapat mematikan seluruh larva uji, sedang pada konsentrasi 4% berhasil membunuh seluruh nimfa dan imago *A. variegatum*. Akarisisida nabati dari daun encok sangat sesuai untuk mengendalikan serangga yang hidup pada hewan peliharaan sehingga dapat mengembalikan kesehatan ternak dan memperbaiki harga jual produk peternakan.

### Daun Encok sebagai Leismanisida

Sebagai leismanisida nabati, plumbagin dapat menghambat perkembangan *Tripanosoma protozoa*, *Leishmania donovani*, dan *L. amazonensis* dengan nilai  $IC_{50}$  (*inhibition concentration*) masing-masing 0,42 dan 1,1  $\mu\text{g/ml}$ . Plumbagin dan 8,8'-biplumbagin menghambat perkembangan fase promastigote *L. braziliensis*, *L. amazonensis*, dan *L. donovani* dengan nilai  $IC_{90}$  0,005  $\mu\text{g/ml}$ , sedangkan fraksi 3,3'-biplumbagin memiliki nilai  $IC_{90}$  50  $\mu\text{g/ml}$  terhadap *Leishmania sp.* (Chan-Bacab dan Pena-Rodriguez 2001).

### Daun Encok sebagai Nematisida

Sebagai nematisida nabati, plumbagin mampu mematikan nematoda parasit tanaman. Keefektivan senyawa plumbagin terhadap nematoda *Aphelenchoides besseyi* dan *Meloidogyne incognita* telah diteliti oleh Jong *et al.* (1997) dengan nilai  $LD_{50}$  berturut-turut 0,5 dan 0,1  $\mu\text{g/ml}$ . Pemanfaatan nematisida nabati berbasis ekstrak daun encok untuk menekan serangan *M. incognita* pada

berbagai tanaman pertanian memberi dampak yang luas. Hal ini karena nematoda tersebut memiliki sebaran dan kisaran inang yang luas, seperti padi, kentang (Kalshoven 1981; Dropkin 1992; Bridge *et al.* 1995), nilam (Ichinohe 1972; Djiwanti dan Momota 1991; Mustika *et al.* 1991), kurma (Griffith dan Koshy 1995), lada (Mustika 1990), serta kopi, kakao, dan teh (Campos *et al.* 1995).

### Daun Encok sebagai Fungisida

Sebagai fungisida nabati, plumbagin mampu menghambat pertumbuhan beberapa jamur patogen (Guneherath *et al.* 1983 dalam Adikaram *et al.* 2002), antara lain *Cladosporium cladosporioides*, *Alternaria tunis*, *Botrydipodia theobromae*, *Aspergillus sp.*, *Fusarium sp.*, *Colletotrichum gloeosporioides*, dan *Cercospora nicotinae*. Plumbagin juga dapat menghambat perkembangan jamur parasit, seperti *Candida sp.*, *Trichophyton sp.*, *Epidermophyton sp.*, dan *Microsporium spp.* (Sumastuti dan Pramono 2002; Mungwini 2006). Sementara itu, Mahoney *et al.* (2000) menyatakan bahwa plumbagin efektif menekan perkecambahan, pertum-

buhan, dan aflatoksinogenesis *Aspergillus flavus* pada buah kenari.

### Daun Encok sebagai Bakterisida

Sebagai bakterisida nabati, senyawa plumbagin efektif mengendalikan bakteri gram positif seperti *Staphylococcus*, *Streptococcus*, dan *Pneumococcus spp.*, maupun bakteri gram negatif *Salmonella* dan *Neisseria*. Senyawa ini juga mampu mencegah *Escheria coli* dan *Staphylococcus aureus* berkembang menjadi resisten terhadap antibiotik (Sumastuti dan Pramono 2002; Mungwini 2006). Ekstrak akar daun encok juga dapat menghambat perkembangan beberapa strain bakteri (Tabel 2 dan 3).

### PROSPEK DAUN ENCOK SEBAGAI PESTISIDA NABATI

Pemanfaatan daun encok sebagai bahan baku pestisida nabati mempunyai prospek cerah untuk dikembangkan, khususnya untuk mendukung ekspor komoditas

**Tabel 2. Sensitivitas antimikrobia ekstrak plumbagin dalam akar daun encok (*Plumbago zeylanica*) terhadap beberapa strain bakteri patogen.**

Strain bakteri	Aktivitas antibakteri (rata-rata ± standard error)				
	Kloroform	Metanol	Air	Plumbagin	Standar
<i>Escherichia coli</i> /MTCC 1195	16,7 ± 0,14	11,0 ± 0,98	4,3 ± 0,90	25,6 ± 0,56	12,5 ± 0,76
<i>Salmonella typhi</i> /MTCC 733	14,3 ± 0,04	10,0 ± 0,87	3,7 ± 0,87	24,3 ± 0,23	5,5 ± 0,27
<i>Klebsiella pneumoniae</i> /MTCC 2405	9,2 ± 0,73	8,5 ± 0,56	–	19,8 ± 0,76	10,5 ± 0,87
<i>Serratia marcescens</i> /MTCC 2645	8,6 ± 0,07	7,3 ± 0,67	–	17,6 ± 0,65	13,0 ± 0,53
<i>Proteus vulgaris</i> /MTCC 1771	5,9 ± 0,55	4,3 ± 0,90	–	10,1 ± 0,14	12,0 ± 0,98
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> /MTCC 2642	4,8 ± 0,87	3,2 ± 0,78	–	9,6 ± 0,67	19,0 ± 0,68
<i>Staphylococcus aureus</i> /MTCC 1430	12,0 ± 0,54	9,8 ± 0,67	2,7 ± 0,94	21,6 ± 0,55	4,5 ± 0,87
<i>Bacillus subtilis</i> /MTCC 1272	8,0 ± 0,61	6,5 ± 0,80	–	14,5 ± 0,76	12,0 ± 0,53

Keterangan: \*=berbeda nyata dan \*\* = sangat berbeda nyata dibanding antibiotik standar (p<0.05).  
Sumber: Jeyachandran *et al.* (2009).

**Tabel 3. Konsentrasi penghambatan minimal ekstrak kasar dan plumbagin pada akar *Plumbago zeylanica* terhadap beberapa strain bakteri.**

Strain bakteri	Konsentrasi penghambatan minimal (µg)			
	Kloroform	Metanol	Air	Plumbagin
<i>Escherichia coli</i> /MTCC 1195	< 6	< 13	> 16	< 1
<i>Salmonella typhi</i> /MTCC 733	< 6	< 13	> 16	< 1
<i>Klebsiella pneumoniae</i> /MTCC 2405	> 13	> 14	–	< 1
<i>Serratia marcescens</i> /MTCC 2645	> 13	> 15	–	> 1
<i>Proteus vulgaris</i> /MTCC 1771	> 16	> 18	–	< 2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> /MTCC 2642	> 15	> 18	–	> 3
<i>Staphylococcus aureus</i> /MTCC 1430	< 8	< 11	> 20	< 1
<i>Bacillus subtilis</i> /MTCC 1272	> 13	> 16	–	> 2

Sumber: Jeyachandran *et al.* (2009).

pertanian Indonesia. Hal ini karena tanaman daun encok mudah ditemukan di berbagai tempat, di tepi saluran air hingga di pekarangan sebagai pagar hidup. Selain itu, proses pembuatan pestisida nabati cukup sederhana dan mudah diterapkan oleh pengguna.

Karena berasal dari alam, bahan aktif pestisida nabati mudah terurai. Seperti contoh bahan aktif piretrin mudah terdegradasi dalam waktu 24 jam (Wiratno *et al.* 2009). Kondisi ini mempunyai sisi positif, yaitu tidak meninggalkan residu yang berbahaya bagi konsumen. Di sisi lain, penggunaan pestisida nabati membutuhkan beberapa kali aplikasi. Namun, dilihat dari kecilnya risiko penggunaan pestisida nabati dibanding pestisida kimia sintesis, pestisida nabati sangat potensial untuk digunakan dan dikembangkan. Seperti halnya pestisida berbahan baku dari tanaman, pestisida nabati dari daun encok juga potensial untuk dikembangkan, mengingat sangat sedikit penelitian yang telah dilakukan di dalam negeri dengan menggunakan bahan baku daun encok.

Pestisida nabati berbahan aktif ekstrak daun encok memiliki spektrum pengendalian yang luas sehingga dapat digunakan untuk mengendalikan OPT dari golongan serangga (Josephraj Kumar dan Subrahmanyam 2002), tungau (Annan *et al.* 2009), nematoda (Jong *et al.* 1997), jamur patogen (Mahoney *et al.* 2000; Mungwini 2006), dan bakteri (Mungwini 2006). Prospek pemanfaatan pestisida nabati berbahan aktif ekstrak daun encok makin besar mengingat sejak tahun 2002 hingga 2009 jumlah pestisida kimia sintesis yang terdaftar terus meningkat. Pada tahun 2002, 2004, 2006, dan 2009 jumlah nama dagang pestisida yang terdaftar berturut-turut adalah 813, 1.082, 1.500, dan 7.000 nama dagang (Direktorat Pupuk dan Pestisida 2002; 2010). Lebih lanjut, penggunaan pestisida sintesis diketahui mengakibatkan berbagai dampak, antara lain timbulnya kasus-kasus keracunan bahkan kematian.

Penggunaan pestisida nabati menjadi semakin cerah karena pestisida tersebut dapat menekan kerusakan ekosistem lahan pertanian akibat terganggunya eksistensi populasi flora dan fauna (Regnault-Roger 2005), termasuk mikroorganisme tanah di lahan pertanian. Selain itu, penggunaan pestisida nabati dapat mengurangi terjadinya resistensi hama karena bahan penyusunnya terdiri atas berbagai senyawa kimia. Karena tingkat toksisitasnya yang rendah terhadap mamalia, penggunaan pestisida nabati relatif aman bagi manusia dan makhluk hidup berguna lainnya.

Agar pemanfaatan daun encok sebagai pestisida nabati dapat berkembang, perlu upaya pengembangan tanaman secara massal. Hal ini merupakan poin penting karena salah satu kendala dalam penggunaan bahan nabati sebagai pestisida ialah ketersediaan bahan baku. Pengembangan tanaman daun encok secara massal dapat dilakukan secara konvensional dengan menggunakan setek batang maupun dengan teknik bioteknologi dengan kultur jaringan, yaitu dengan multiplikasi tunas dan kultur akar rambut.

Dalam rangka mendukung konservasi plasma nutfah tanaman obat ini, Laboratorium Kultur Jaringan Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (Balitro) telah mengonservasi tunas daun encok sejak tahun 1997 dalam media Murashige dan Skoog (MS) + benzyl adenin (BA) 0,1 mg/l (Kristina *et al.* 2004). Untuk memaksimalkan pertumbuhan kultur daun encok, Syahid dan Kristina (2008) melakukan konservasi daun encok secara *in vitro* melalui multiplikasi tunas dan aklimatisasi. Hasil dari kegiatan tersebut menunjukkan bahwa kombinasi perlakuan BA 0,1 mg/l + thidiazuron 0,05 mg/l menghasilkan jumlah tunas dan daun terbanyak serta tunas terpanjang dalam waktu dua bulan. Morfologi tanaman daun encok hasil kultur *in vitro* sama dengan induk di rumah kaca dalam hal batang, daun, dan visual tanaman. Dari hasil penelitian tersebut, pengembangan tanaman daun encok dapat dilakukan secara massal. Perbanyak massal dengan teknologi kultur jaringan tanaman *in vitro* merupakan salah satu cara terbaik dan paling berhasil untuk dikembangkan secara komersial (Anand *et al.* 2011).

Beberapa hasil penelitian melaporkan tentang penggunaan akar daun encok sebagai bahan baku pestisida nabati. Hal ini karena kandungan metabolit sekunder daun encok sebagai pestisida nabati paling banyak ditemukan di dalam jaringan akar. Namun, penggunaan akar daun encok saja dapat menurunkan populasi tanaman daun encok di lapangan. Kendala ini dapat diatasi dengan kultur akar rambut dengan menginokulasikan *Agrobacterium rhizogenes* (Zargar *et al.* 2010), seperti yang dilakukan pada purwoceng dengan menggunakan media  $\frac{1}{2}$  MS dan sumber karbon sukrosa (Rohimatun dan Darwati 2011) serta pada *P. rosea* dengan media MS + 0,5-2 mg/l BAP (Satheeshkumar *et al.* 2009). Ernawati (1992) menyatakan kultur akar rambut memiliki beberapa kelebihan, antara lain pertumbuhannya relatif cepat, lebih produktif, dan lebih stabil dalam menghasilkan senyawa yang diinginkan. Kultur akar rambut daun encok telah dilakukan oleh Anand *et al.* (2011) dengan menggunakan media MS + NAA 2 mg/l dan menghasilkan akar rambut 5-7 tiap tunas.

Perbanyak massal tanaman daun encok secara konvensional maupun bioteknologi memiliki beberapa kendala. Perbanyak secara konvensional membutuhkan bahan setek, tenaga kerja, dan biaya yang banyak, serta tempat yang luas. Sementara itu, perbanyak dengan kultur jaringan memerlukan botol kecil/*petridish* dan tenaga yang banyak juga. Menurut Nirmala dan Yulianti (2010), sistem ini memerlukan beberapa kali subkultur, energi, dan tenaga yang lebih banyak, dan ruang kultur yang luas sehingga efisiensi perbanyak menjadi rendah dan biaya produksi besar. Salah satu usaha untuk mengembangkan protokol perbanyak massal tanaman adalah dengan menggunakan teknologi bioreaktor (Takayama 1991 dalam Nirmala dan Yulianti 2010), yaitu memperbanyak dan memelihara eksplan dalam kultur cair. Dalam sistem kultur cair, kondisi lingkungan akan

lebih seragam dan mudah dalam subkultur sehingga menghemat waktu (Ziv 2005; Takayama dan Akita 2006).

Banyak hal yang terkait dengan penggunaan bahan nabati sebagai pestisida, seperti ketersediaan bahan baku, pembuatan, kestabilan formulasi, dan aplikasi. Satu hal tidak kalah pentingnya adalah membantu penyuluh untuk mendampingi petani dalam memproduksi dan memanfaatkan pestisida nabati karena penyuluh merupakan ujung tombak dalam memperkenalkan dan menyebarluaskan pemanfaatan pestisida nabati (Wiratno *et al.* 2013).

## PELUANG PENGEMBANGAN

Pengembangan daun encok sebagai bahan baku pestisida nabati cukup prospektif. Hal ini terbukti dari hasil penelitian tentang pemanfaatan daun encok sebagai bahan pestisida (Hassanali dan Lwande 1989; Jong *et al.* 1997; Mahoney *et al.* 2000; Josephraj Kumar dan Subrahmanyam 2002; Mungwini 2006; Annan *et al.* 2009; Patil *et al.* 2011). Daun encok mengandung alkaloid, saponin, tanin, glikosida, dan plumbagin yang bersifat sebagai pestisida. Senyawa-senyawa ini dapat diperoleh melalui ekstraksi daun, batang, dan akar.

Pengembangan dan industrialisasi bahan aktif daun encok sebagai bahan baku pestisida nabati dapat mencontoh pola minyak atsiri. Saat ini, beberapa minyak atsiri telah diproduksi secara komersial di luar negeri dan digunakan untuk mengendalikan OPT pertanian, peternakan, dan rumah tangga. Semua produk pestisida berbahan aktif minyak atsiri tersebut telah lolos registrasi dari *Environmental Protection Agency* (EPA) dan dinyatakan aman (*Generally Recognized as Safe/GRAS*). Oleh karena itu, minyak atsiri banyak digunakan untuk pengembangan pertanian organik (Koul *et al.* 2008). Saat ini, penggunaan bahan baku yang berasal dari alam berkembang pesat sehingga sangat menguntungkan untuk pengembangan pestisida nabati.

Pengembangan daun encok sebagai bahan baku pestisida nabati harus memerhatikan kesiapan teknologinya. Ketersediaan bahan baku, efektivitas dan stabilitas pestisida nabati juga masih menjadi masalah dalam pengembangan pestisida nabati (Isman 2000). Dari sisi budi daya, pengembangan tanaman dapat dilakukan menggunakan perbanyakan secara konvensional maupun kultur jaringan. Untuk meningkatkan kandungan bahan aktif daun encok dapat dilakukan dengan sentuhan teknologi nano. Teknologi nano memiliki beberapa kelebihan, antara lain dapat meningkatkan efektivitas dan stabilitas suatu bahan aktif pada tanaman (Gogos *et al.* 2012; Scott dan Chen 2012; Perlatti *et al.* 2013). Oleh karena itu, peluang investasi maupun pengembangan pestisida nabati, terutama dari ekstrak daun encok, sangat prospektif.

## KESIMPULAN

Daun encok merupakan salah satu tanaman yang berpotensi sebagai bahan baku pestisida nabati. Ekstrak tanaman ini mengandung berbagai jenis senyawa kimia, salah satunya adalah plumbagin yang mampu berperan sebagai insektisida, akarisida, leismanisida, nematisida, fungisida, dan bakterisida. Pengembangan daun encok dapat dilakukan dengan perbanyakan secara massal menggunakan setek dan kultur jaringan.

Pemanfaatan daun encok sebagai bahan baku pestisida nabati diharapkan dapat menekan penggunaan pestisida kimia sintesis yang cenderung berlebihan. Aplikasinya diharapkan dapat menyeimbangkan ekosistem secara berkelanjutan dan menghasilkan produk pertanian yang sehat dan berdaya saing.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adikaram, N.K.B., V. Karunaratne, B.M.R. Bandara, C.M. Hewage, C. Abayasekara, and B.S.S. Mendis. 2002. Antifungal properties of plumbagin. Short communication. *J. Natn. Sci. Foundation Sri Lanka* 30(3 and 4): 89–95.
- Anand, S.P., V. Nandagopalan, and A. Doss. 2011. *In vitro* direct plant regeneration from shoot tip explants of *Clitoria ternatea* An important medical plant. *Intl. J. Biol. Technol.* 2(2): 61–63.
- Annan, K., R. Dickson, A. Mensah, and T.C. Fleischer. 2009. Acaricidal effect of *Plumbago zeylanica* L. against *Amblyoma variegatum*. *Pharmacognosy J.* 1(3): 190–194.
- Anonim. 2005. Daun encok (*Plumbago zeylanica* L.). [http://www.iptek.net.id/ind/pd\\_tanobat/view.php?id=111](http://www.iptek.net.id/ind/pd_tanobat/view.php?id=111). [26 September 2014].
- Anonim. 2013. Daun Encok. [http://id.wikipedia.org/wiki/Daun\\_encok](http://id.wikipedia.org/wiki/Daun_encok). [26 September 2014].
- Athanassiou, C.G. and N.G. Kavallieratos. 2005. Insecticidal effect and adherence of PyriSec(R) in different grain commodities. *Crop Prot.* 24(8): 703–710.
- Baringbing, B. dan W.A. Baringbing. 2002. Pengaruh ekstrak tanaman daun encok (*Plumbago zeylanica*) terhadap mortalitas imago *Brontispa longissima* (Coleoptera: Hispididae). *Prosiding Seminar Nasional XIX Tumbuhan Obat Indonesia*. Bogor, 4–5 April 2001. hlm. 193–196.
- Biebel, R., E. Rametzhofner, H. Klappal, D. Polheim, and H. Viernstein. 2003. Action of pyrethrum-based formulations against grain weevils. *Int'l. J. Pharmaceutics* 256(1–2): 175–181.
- Bridge, J., M. Luc, dan R.A. Plowright. 1995. Nematoda parasit pada padi. hlm. 83–137. *Dalam* M. Luc, R.A. Sikora, dan J. Bridge (Ed.). *Nematoda Parasitik Tumbuhan di Pertanian Subtropik dan Tropik*. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Campos, V.P., P. Sivapalan, dan N.C. Gnanapragasam. 1995. Nematoda parasit pada tanaman kopi, kakao, dan teh. hlm. 387–460. *Dalam* M. Luc, R.A. Sikora, dan J. Bridge (Ed.). *Nematoda Parasitik Tumbuhan di Pertanian Subtropik dan Tropik*. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Cania dan Setyaningrum. 2013. Uji efektivitas larvasida ekstrak daun legundi (*Vitex trifolia*) terhadap larva *Aedes aegypti*. *Medical J.* 2: 52–53.
- Chan-Bacab, M.J. and L.M. Pena-Rodriguez. 2001. Plant natural products with leishmanicidal activity. *Nat. Products Rep.* 18: 674–688.

- Dadang dan D. Prijono. 2008. Insektisida Nabati Prinsip, Pemanfaatan, dan Pengembangan. Departemen Proteksi Tanaman. Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor. 162 hlm.
- Departemen Kesehatan. 1995. *Materia Medika*. Jilid VI. Departemen Kesehatan RI, Jakarta. hlm. 2000.
- Dinata, A. 2008. Pemberantasan penyakit bersumber binatang. <http://www.litbang.depkes.go.id/lokaciamis/artikel/nyamuk-arda.htm>. [6 April 2015].
- Direktorat Pupuk dan Pestisida. 2002. *Pestisida untuk Pertanian dan Kehutanan*. Departemen Pertanian, Jakarta. 375 hlm.
- Direktorat Pupuk dan Pestisida. 2010. *Pestisida untuk Pertanian dan Kehutanan*. Departemen Pertanian, Jakarta.
- Djiwanti, R.S. and Momota. 1991. Parasitic nematodes associated with patchouli disease in West Java. *Indust. Crops Res. J.* 3(2): 31–34.
- Dropkin, V.H. 1992. *Pengantar Nematologi Tumbuhan*. Edisi ke-3. Diterjemahkan oleh Suprpto dan disunting oleh Mulyadi. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta. 366 hlm.
- Ernawati, A. 1992. Produksi senyawa-senyawa metabolit sekunder dengan kultur jaringan tanaman. *Dalam* G.A. Wattimena, N.A. Mattjik, E. Syamsudin, N.M.A Wiendi, dan A. Ernawati (Eds.). *Bioteknologi*. Pusat Antar-Universitas, Institut Pertanian Bogor. hlm. 169–208.
- Gogos, A., K. Knauer, and T.D. Bucheli. 2012. Nanomaterials in plant protection and fertilization: Current state, foreseen applications, and research priorities. *J. Agric. Food Chem.* 60(39): 9781–9792. DOI: 10.1021/jf302154y.
- Griffith, R. dan P.K. Koshy. 1995. Nematoda parasitik pada tanaman kelapa dan palem yang lain. hlm. 485–518. *Dalam* M. Luc, R.A. Sikora, dan J. Bridge (Eds.). *Nematoda Parasitik Tumbuhan di Pertanian Subtropik dan Tropik*. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Hagerman, A.E. 2002. *The Tannin Handbook*. Miami University, Miami, USA.
- Haryanto, S. 2009. *Ensiklopedi Tanaman Obat Indonesia*. Penerbit Palmall, Yogyakarta. 562 hlm.
- Hassanali, A. and W. Lwande. 1989. Antipest secondary metabolites from African plants. pp. 78–94. *In* J.T. Arnason, B.J.R. Philogene, and P. Morand (Eds.). *Insecticides of Plant Origin* Vol. 387. American Chemical Society.
- Hien, P.P., H. Gortnizka, and R. Kraemer. 2003. Rotenone - Potential and prospect for sustainable agriculture. *Omonrice* 11: 83–92.
- Ichinohe, M. 1972. Nematode disease of rice. pp. 127–143. *In* J.M. Webster (Ed.). *Economic Nematology*. Academic Press, London.
- Isman, M.B. 2000. Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Prot.* 19: 603–608.
- Jeyachandran, R., A. Mahesh, L. Cindrella, S. Sudhakar, and K. Pazhanichamy. 2009. Antibacterial activity of plumbagin and root extract of *Plumbago zeylanica* L. *Acta Biologica Cracoviensis Series Botanica* 51(1): 17–22.
- Jong, T.T., G.C. Young, T.T. Tsay, and J.H. Yen. 1997. Nematicidal compounds from *Plumbago zeylanica*. <http://grbsearch.stpi.narl.org.tw>. [26 May 2012].
- Josephraj Kumar, A. and B. Subrahmanyam. 2002. DNA synthesis in the imaginal wing discs of the American bollworm *Helicoverpa armigera* (Hubner). *J. Biosci.* 27(2): 113–120.
- Josephraj Kumar, A., B. Subrahmanyam, and Srinivasan. 1999. Plumbagin and azadirachtin deplete hemolymph ecdysteroid levels and alter the activity profiles of two lysosomal enzymes in the fat body of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). *Eur. J. Entomol.* 96(4): 347–353.
- Kalshoven, L.G.E. 1981. *The Pest of Crops in Indonesia*. P.A. van der Laan (Ed.) PT Ichiar Baru van Hoeve, Jakarta. 701 pp.
- Kardinan, A. 2010. Prospek dan kendala dalam pengembangan dan penerapan penggunaan biopestisida di Indonesia. hlm. 1–13. *Dalam* A. Kardinan, I W. Laba, A. Kartohardjono, Pudjianto, I W. Winasa, Dadang, M. Rizal, R. Ubaidillah, I M. Samudra, E.S. Ratna, U. Kusumawati, D. Gunandini, P. Sukartana, Wiratno, dan Siswanto (Ed.). *Prosiding Seminar Nasional VI Perhimpunan Entomologi Indonesia*. Bogor, 24 Juni 2010.
- Karimah, L.N. 2006. Uji aktivitas larvasida ekstrak etanol 96% biji mahoni (*Swietenia mahagoni* Jacq.) terhadap nyamuk *Anopheles acoritus* instar III serta profil kromatografi lapis tipisnya. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta (UMS). <http://etd.library.ums.ac.id/gdl.php?mod=browse&op=read&id=jtptumsgdl-sl-2007-ninyomansa-6683>. [7 April 2015].
- Kim, S.I., C. Park, M.H. Ohh, H.C. Cho, and Y.J. Ahn. 2003a. Contact and fumigant activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Lasioderma serricorne* (Coleoptera: Anobiidae). *J. Stored Products Res.* 39(1): 11–19.
- Kim S.I., J.Y. Roh, D.H. Kim, H.S. Lee, and Y.J. Ahn. 2003b. Insecticidal activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Sitophilus oryzae* and *Callosobruchus chinensis*. *J. Stored Products Res.* 39(3): 293–303.
- Koul, O., S. Walia, and G.S. Dhaliwal. 2008. Essential oils as green pesticides: Potential and constraints. *Biopesticides Intl.* 4(1): 63–84.
- Kristina, N.N., N. Bermawie, Amalia, dan Nursalam. 2004. *Konservasi in vitro* tanaman rempah dan obat. Laporan Teknis. Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat. Bogor. hlm. 20–85.
- Mahoney, N., R.J. Molyneus, and B.C. Campbell. 2000. Regulation of aflatoxin production by naphthoquinones of walnut (*Juglans regia*). *J. Agric. Food Chem.* 48(9): 4418–4421.
- Maniafu, B.M., L. Wilber, I.O. Ndiege, C.C. Wanjala, and T.A. Akengan. 2009. Larvacidal activity of extracts from three *Plumbago* spp. against *Anopheles gambiae*. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro* 104(6): 813–817.
- Mungwini, Y. 2006. *Plumbago zeylanica* L. pp. 475–477. *In* G.H. Schmelzer and A. Gurib-Fakim (Eds). *Prota* 11(1): *Medicinal Plants/Plantes médicinales* 1. [CD-Room]. PROTA, Wageningen, the Netherlands. [http://database.prota.org/PROTAhtml/Plumbago%20zeylanica\\_En.htm](http://database.prota.org/PROTAhtml/Plumbago%20zeylanica_En.htm). [7 May 2012].
- Mustika, I. 1990. *Studies on the Interaction of Meloydogyne incognita, Radopholus similis, and Fusarium solani on Black Pepper (Piper nigrum L.)*. Thesis. Wageningen Agriculture University, the Netherland.
- Mustika, I., Y. Nuryani, dan O. Rostiana. 1991. Nematoda parasit pada beberapa kultivar nilam di Jawa Barat. *Buletin Penelitian Tanaman Rempah dan Obat* 4(1): 9–14.
- Nathan, S.S., K. Kalaivani, K. Sehoon, and K. Murugan. 2006. The toxicity and behavioural effects of neem limonoids on *Cnaphalocrocis medinalis* (Guenee), the rice leafhopper. *Chemosphere* 62(8): 1381–1387.
- Nirmala, F.D. dan F. Yulianti. 2010. *Teknologi somatik embriogenesis: Terobosan perbanyakan massal batang bawah jeruk*. *Iptek Hortikultura* 6: 11–14.
- Oparaeke, A. and O. Bunmi. 2006. Insecticidal potential of cashew (*Anacardium occidentale* L.) for control of the beetle, *Callosobruchus subinnotatus* (Pic.) (Bruchidae) on Bambarra-groundnut (*Voandzeia subterranea* L.) Verde. *Arch. Phytopathol. Plant Prot.* 39(4): 247–251.
- Opolot, H.N., A. Agona, S. Kyamanywa, G.N. Mbata, and E. Adipala. 2006. Integrated field management of cowpea pests using selected synthetic and botanical pesticides. *Crop Prot.* 25(11): 1145–1152.
- Oyedele, A.O., A.A. Gbolade, M.B. Sosan, F.B. Adewoyin, O.L. Soyelu, and O.O. Orafidiya. 2002. Formulation of an effective mosquito-repellent tropical product from lemongrass oil. *Phytomedicine* 9(3): 259–262.
- Patil, C.D., S.V. Patil, B.K. Salunke, and R.B. Salunke. 2011. Bioefficacy of *Plumbago zeylanica* (Plumbaginaceae) and



- Cestrum nocturnum* (Solanaceae) plant extracts against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) and nontarget fish *Poecilia reticulata*. *Parasitol. Res.* 108(5): 1253–1263.
- Perlatti, B., P.L. de B. Souza, M.F. da S. Fernandes, J. das G. Batista, and M. Rossi. 2013. Polymeric nanoparticle-based Insecticides: A controlled release purpose for agrochemicals. *In*: S. Trdan (Ed). *Insectic-Dev Safer More Eff Technol.* InTech. <http://www.intechopen.com/books/insecticides-development-of-safer-and-more-effective-technologies/polymeric-nanoparticle-based-insecticides-a-controlled-release-purpose-for-agrochemicals>. [July 13, 2015].
- Pradhan, K.J., P.S. Variyar, and J.R. Bandekar. 1999. Antimicrobial activity of novel phenolic compounds from green pepper (*Piper nigrum* L.). *Lebensm. Wiss. U-Technol* 32: 121–123.
- Regnault-Roger, C. 2005. New insecticides of plant origin for the third millenium? *In* B.J.R. Regnault-Roger, C. Philogene, and C. Vincent. (Eds.). *Biopesticides of Plant Origin*. Lavoisier Publishing Inc. pp. 17–35.
- Rohimatun dan I. Darwati. 2011. Pertumbuhan akar rambut purwoceng pada beberapa komposisi media dan sumber karbon. *Bul. Littro.* 22(2): 166–176.
- Rohimatun dan I.W. Laba. 2013. Efektivitas insektisida minyak serai wangi dan cengkih terhadap hama pengisap buah lada (*Dasyneus piperis* China). *Bul. Littro.* 24(1): 26–34.
- Satheeshkumar, K., B. Jose, E.V. Soniya, and S. Seeni. 2009. Isolation of morphovariants through plant regeneration in *Agrobacterium rhizogenes* induced hairy root cultures of *Plumbago rosea* L. *Indian J. Biotechnol.* 8: 435–441.
- Scott, N. and H. Chen. 2012. Nanoscale science and engineering for agriculture and food systems. *Ind. Biotechnol.* 8(6): 340–343.
- Suhirman, S., T. Fatimah, dan M. Sukmasari. 2006. Analisis kimia daun, batang, dan akar daun encok (*Plumbago zeylanica* L.) secara kualitatif. hlm 350–357. *Dalam* Supriadi, M. Januwati, R. Balfas, N. Bermawie, dan M. Rahardjo (Ed.). *Prosiding Seminar Nasional XXVIII dan Pameran Tumbuhan Obat Indonesia* Bogor, 15–16 September 2005.
- Sumastuti, R. dan S. Pramono. 2002. Pengaruh ekstrak tanaman daun encok (*Plumbago zeylanica* L.) pada gambaran histopatologik lambung, hati, dan ginjal mencit *in vivo*. *Prosiding Seminar Nasional XIX Tumbuhan Obat Indonesia*. Bogor, 4–5 April 2001. hlm 205–210.
- Suraveratum, N., S.R. Krungkai, P. Leangaramgul, P. Prapunwattana, and J. Krungkai. 2000. Purification and characterization of *Plasmodium falciparum* succinate dehydrogenase. *Mol. Biochem. Parasitol.* 105(2): 215–222.
- Takayama, S. and M. Akita. 2006. Bioengineering aspects of bioreactor application in plant propagation. *In* S.D. Gupta and Y. Ibaraki (Eds.). *Plant Tissue Culture Engineering*. Springer, Dordrecht. pp. 83–100.
- Thorsell, W., A. Mikiver, and H. Tunon. 2006. Repelling properties of some plant materials on the tick *Ixodes ricinus* L. *Phytomedicine* 13(1–2): 132–134.
- Turk, F.M. 2006. Saponin versus plant fungal pathogens. *J. Cell Mol. Biol.* 5: 13–17.
- Vayias, B.J., C.G. Athanassiou, and C.T. Buchelos. 2006. Evaluation of three diatomaceous earth and one natural pyrethrum formulations against pupae of *Tribolium confusum* DuVal (Coleoptera: Tenebrionidae) on wheat and flour. *Crop Prot.* 25(8): 766–772.
- Wardhana, A.H., S.P.W. Kumarasinghe, L. Arawwawala, and L.S. Arambewela. 2007. Larvicidal efficacy of essential oil of betle leaf (*Piper betle*) on the larvae of the old world screwworm fly, *Chrysomya bezziana* *in vitro*. *Indian J. Dermatol.* 52: 43–47.
- Widawati, M. dan H. Prasetyowati. 2013. Efektivitas ekstrak buah *Beta vulgaris* L. (buah bit) dengan berbagai fraksi pelarut terhadap mortalitas larva *Aedes aegypti*. *Aspirator* 5(1): 23–29.
- Willis, M., I W. Laba, dan Rohimatun. 2013. Efektivitas insektisida sitronellal, eugenol, dan azadirachtin terhadap hama penggerek buah kakao *Conophomorpha cramerella* (Snell). *Bul. Littro* 24(1): 19–25.
- Wiratno, D. Taniwiryono, H.V. Berg, J.A.G. Riksen, I.M.C.M. Rietjens, R. Djiwanti, J.E. Kammenga, and A.J. Murk. 2009. Nematicidal activity of plant extracts against the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*. *Open Nat. Prod. J.* 2: 63–71.
- Wiratno, Siswanto, dan I.M. Trisawa. 2013. Perkembangan penelitian, formulasi, dan pemanfaatan pestisida nabati. *J. Litbang Pert.* 32(4): 150–155.
- Zargar, M., F. Farahani, and T. Nabavi. 2010. Hairy roots production of transgenic *Catharanthus roseus* L. plants with *Agrobacterium rhizogenes* under *in vitro* conditions. *J. Med. Pl. Res.* (421): 2199–2203.
- Zhu, B.C.R., G. Henderson, F.H.F. Chen, and R.A. Laine. 2001. Evaluation of vetiver oil and seven insect-active essential oils against the Formosan subterranean termite. *J. Chem. Ecol.* 27: 1617–1625.
- Ziv, M. 2005. Simple bioreactors for mass propagation of plants. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 81: 277–285. doi: 10.1007/s11240-004-6649-y.