

AKTIVITAS INSEKTISIDA EKSTRAK DAUN DAN BIJI *TEPHROSIA VOGELII* J. D. HOOKER (LEGUMINOSAE) DAN EKSTRAK BUAH *PIPER CUBEBA* L. (PIPERACEAE) TERHADAP LARVA *CROCIDOLOMIA PAVONANA* (F.) (LEPIDOPTERA: CRAMBIDAE)

Muhamad Abizar¹ & Djoko Prijono²

ABSTRACT

Insecticidal activity of leaf and seed extracts of Tephrosia vogelii J. D. Hooker (Leguminosae) and fruit extract of Piper cubeba L. (Piperaceae) on the cabbage head caterpillar, Crocidolomia pavonana (L.) (Lepidoptera: Crambidae). Ethyl acetate leaf and seed extracts of *Tephrosia vogelii* and a solid fraction of ethyl acetate fruit extract of *Piper cubeba* were evaluated for their insecticidal activity on second-instar larvae *Crocidolomia pavonana* by a leaf-residue feeding method in the laboratory. Leaf extracts of purple and white-flowered *T. vogelii* showed the same pattern of component separation on silica gel TLC plate (Rf between 0.21 and 0.94), and likewise the separation of components of seed extracts of purple and white-flowered *T. vogelii* (Rf between 0.31 and 0.96). All four kinds of *T. vogelii* extracts showed intense UV-absorbing nonpolar spots (Rf > 0.8). Based on LC₅₀ ratio at day 4, leaf extract of purple-flowered *T. vogelii* (LC₅₀ 0.075%) was 4.30, 2.70, 2.21, and 1.64 times more toxic than fruit extract of *P. cubeba*, seed extract of white-flowered *T. vogelii*, seed extract of purple-flowered *T. vogelii*, and leaf extract of white-flowered *T. vogelii*, respectively. All *T. vogelii* extracts were more toxic to *C. pavonana* larvae than *P. cubeba* fruit extract. At LC₉₅ level, a mixture of leaf extract of purple-flowered *T. vogelii* and fruit extract of *P. cubeba* (5:9, w/w) was more toxic to *C. pavonana* larvae than each extract tested separately. This extract mixture had synergistic joint action against *C. pavonana* larvae both at LC₅₀ and LC₉₅ level. Thus, leaf extract of purple-flowered *T. vogelii* and its mixture with *P. cubeba* fruit extract are promising to be used for controlling *C. pavonana*.

Key words: Botanical insecticides, plant extract mixture, leaf-feeding bioassay, lethal dose ratio, synergistic joint action

PENDAHULUAN

Sistem pengendalian hama terpadu (PHT) telah ditetapkan sebagai landasan nasional perlindungan tanaman dengan Peraturan Pemerintah No. 6 Tahun 1995. Tindakan PHT menekankan cara-cara pengendalian nonkimia seperti penanaman varietas tahan, pengendalian secara kultur teknis, pengendalian fisik-mekanis, dan pemanfaatan musuh alami, sedangkan insektisida digunakan sebagai alternatif terakhir jika cara-cara nonkimia tidak memberikan hasil yang optimal (Oka, 1995). Insektisida yang dapat digunakan dalam PHT, selain efektif terhadap hama sasaran, harus memenuhi persyaratan keamanan terhadap organisme bukan sasaran, kesehatan dan lingkungan (Sastrosiswojo, 1996). Salah satu golongan insektisida yang memenuhi persyaratan tersebut ialah insektisida botani, yang bersifat mudah terurai di alam, relatif aman terhadap organisme bukan sasaran termasuk musuh alami, dapat

dipadukan dengan komponen lain PHT, dan dapat memperlambat laju resistensi (Dadang & Prijono, 2008).

Genus *Tephrosia* merupakan sumber insektisida botani yang potensial. Morallo-Rejesus (1986) melaporkan bahwa ekstrak daun kacang babi, *T. vogelii*, dapat membunuh, menghambat makan, dan menolak larva *Plutella xylostella* (L.). Wulan (2008) melaporkan bahwa fraksi heksana daun *T. vogelii* pada pengujian dengan metode residu pada daun dan metode kontak dapat mengakibatkan kematian, memperlambat perkembangan larva dan menghambat makan pada larva *Crocidolomia pavonana* (F.).

Senyawa aktif utama yang bersifat insektisida dalam tanaman *T. vogelii* ialah rotenon dan senyawa rotenoid lain seperti deguelin, tefrosin, dan rotenolon (Delfel *et al.*, 1970; Lambert *et al.*, 1993). Sediaan rotenon dari akar tuba (*Derris elliptica*) dan beberapa tanaman Leguminosae lain merupakan insektisida botani yang umum digunakan hingga tahun 1950-an sebelum

¹ Alumnus Program Mayor S1 Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor

² Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor,

Jl. Kamper Kampus Darmaga, Bogor 16680. E-mail: priyonojoko@gmail.com

tergeser oleh insektisida sintetik (Klocke, 1987). Kandungan rotenon pada daun *T. vogelii* lebih tinggi dibandingkan dengan pada bagian lain (tangkai daun, batang, dan akar) (Delfel *et al.*, 1970). Dengan demikian, penggunaan daun *T. vogelii* sebagai sumber rotenon akan lebih menguntungkan daripada akar tuba karena pemanenan dan penanganan daun lebih mudah dibandingkan dengan akar.

Morrallo-Rejesus (1986) menyatakan bahwa bagian tanaman *T. vogelii* yang dapat digunakan sebagai insektisida adalah daun dan biji. Tanaman *T. vogelii* ada yang memiliki bunga berwarna ungu dan berwarna putih (Gaskins *et al.*, 1972; Kardinan, 2002), tetapi sampai sekarang belum pernah ada laporan tentang perbedaan keaktifan sediaan daun dan biji *T. vogelii* berbunga ungu dan putih, sehingga perlu dilakukan pengujian aktivitas insektisida yang terkait dengan hal tersebut.

Insektisida nabati dapat digunakan secara tunggal atau dalam bentuk campuran. Pemanfaatan insektisida nabati berbahan baku dua jenis atau lebih ekstrak tumbuhan dapat mengurangi ketergantungan pada satu jenis tumbuhan sebagai bahan baku sehingga dapat mengatasi keterbatasan bahan baku insektisida nabati di tingkat petani (Dadang & Priyono, 2008). Selain itu, insektisida dalam bentuk campuran dapat digunakan untuk mengendalikan beberapa jenis hama sekaligus, meningkatkan efisiensi aplikasi karena insektisida dalam campuran digunakan pada dosis yang lebih rendah dibandingkan dengan dosis masing-masing komponennya secara terpisah, terutama bila campuran bersifat sinergis (Stone *et al.*, 1988), menunda timbulnya resistensi hama terhadap insektisida (Georghiou, 1983), dan dapat mengurangi pengaruh samping terhadap organisme bukan sasaran dan lingkungan (Priyono, 2002).

Ekstrak buah kemukus, *Piper cubeba* L. (Piperaceae), memiliki potensi sinergis jika dicampurkan dengan ekstrak lainnya. Sekitar 18 senyawa lignan yang terdapat dalam buah kemukus memiliki gugus metilendioksifenil di dalam strukturnya (Usia *et al.*, 2005; Elfahmi *et al.*, 2007). Gugus tersebut terdapat dalam sejumlah senyawa sinergis yang dapat menghambat aktivitas enzim sitokrom P450 dalam memetabolisme insektisida (Metcalf, 1967). Beberapa senyawa lignan dari buah kemukus dilaporkan menghambat aktivitas enzim sitokrom P450 3A4 (CYP3A4) dari mikrosoma hati manusia yang berperan dalam memetabolisme senyawa asing termasuk obat-obatan (Usia *et al.*, 2005). Bernard *et al.* (1989) juga melaporkan bahwa kubebin (salah satu senyawa aktif *P. cubeba*) dapat

menghambat aktivitas enzim sitokrom P450 dari saluran pencernaan ulat penggerek batang, *Ostrinia nubilalis* Hübner. Terhambatnya enzim pemetabolisme senyawa asing tersebut menyebabkan bahan aktif insektisida atau ekstrak lain yang dicampurkan tidak terurai sehingga insektisida tersebut dapat tetap bekerja mengganggu fungsi bagian sasaran.

Salah satu serangga yang dapat dijadikan sebagai hama sasaran insektisida botani adalah ulat *C. pavonana*, yang merupakan hama penting pada tanaman sayuran Brassicaceae. Pada fase larva, serangga ini hidup berkelompok dan membutuhkan banyak makanan untuk melangsungkan hidupnya. Larva *C. pavonana* biasanya memakan habis daun tanaman dan hanya meninggalkan tulang-tulang daun. Larva instar awal umumnya mengonsumsi daun pada permukaan bawah. Pada kubis, serangan lanjut dapat mencapai krop atau titik tumbuh sehingga dapat menyebabkan kegagalan panen. Di Jawa Barat, serangan ulat *C. pavonana* dan *P. xylostella* secara bersamaan dapat mengakibatkan kehilangan hasil sampai 100% bila tidak dilakukan pengendalian, terutama pada musim kemarau (Sastrosoewojo & Setiawati, 1993).

Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh ekstrak daun dan biji *T. vogelii* bunga ungu dan bunga putih, ekstrak buah *P. cubeba*, serta campuran ekstrak *T. vogelii* yang paling aktif dan ekstrak buah *P. cubeba* terhadap mortalitas dan perkembangan larva *C. pavonana*.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Fisiologi dan Toksikologi Serangga, Departemen Proteksi Tanaman, Institut Pertanian Bogor, dari Januari sampai November 2009.

Bahan Tumbuhan Sumber Ekstrak. Bahan tumbuhan yang digunakan sebagai sumber ekstrak adalah daun dan biji *T. vogelii* bunga ungu dan bunga putih yang diperoleh dari kebun organik Bina Sarana Bakti, Cisarua, Bogor (914,4 m dpl, 6°41'17,51 LS dan 106°56'55,42 BT) dan buah *P. cubeba* yang diperoleh dari pasar lokal di Yogyakarta. Bahan tumbuhan *T. vogelii* bunga ungu dan putih yang digunakan dalam penelitian ini dipastikan spesiesnya berdasarkan identifikasi oleh staf "Herbarium Bogoriense" Bidang Botani, Pusat Penelitian Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Bogor.

Penyiapan Tanaman Pakan. Tanaman brokoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica* Plenck) digunakan sebagai pakan serangga uji dan medium perlakuan pada uji hayati di laboratorium. Untuk keperluan pakan serangga uji, tanaman brokoli diperbanyak secukupnya. Benih brokoli cv. Green Magic disemai dalam nampan semai yang diisi media semai campuran tanah dan kompos Super Metan. Bersamaan dengan penyemaian dilakukan pemupukan dengan pupuk majemuk pelepasan perlahan “Dekastar” (NPK 18-9-10+TE). Setelah bibit berumur 4 minggu atau sekurang-kurangnya memiliki empat helai daun, bibit dipindahkan ke *polybag* kapasitas 5 kg yang diisi campuran tanah dan pupuk kandang dengan perbandingan 3:1 (v/v). Pada setiap *polybag* ditanam satu bibit tanaman. Setelah berumur 4 minggu, tanaman dipupuk NPK dengan dosis ± 1 g per *polybag*. Pupuk ditabur melingkar mengelilingi tanaman, lalu ditutup tanah dan disiram. Pemeliharaan tanaman brokoli yang dilakukan meliputi penyiraman, penyulaman, penyiangan gulma, dan pengendalian hama secara mekanis. Setelah tanaman brokoli berumur 2 bulan, daunnya digunakan sebagai pakan larva *C. pavonana*.

Pemeliharaan Serangga Uji. Serangga *C. pavonana* yang digunakan dalam penelitian ini merupakan koloni yang diperbanyak di Laboratorium Fisiologi dan Toksikologi Serangga, Departemen Proteksi Tanaman, Institut Pertanian Bogor. Pembiakan serangga tersebut dilakukan mengikuti prosedur yang dikemukakan oleh Prijono & Hassan (1992). Larvanya diberi pakan daun brokoli bebas pestisida, yang diperoleh dari perbanyakan tanaman pakan yang diuraikan pada bagian sebelumnya, dan imagonya diberi pakan larutan madu 10% yang diserapkan pada segumpal kapas.

Ekstraksi Bahan Tumbuhan. Daun dan biji *T. vogelii* bunga ungu dan bunga putih dikeringanginkan, kemudian daunnya dipotong menjadi bagian-bagian kecil dan digiling menggunakan blender hingga menjadi serbuk, sedangkan bijinya ditumbuk menggunakan alat penumbuk dari batu lalu digiling dengan blender. Buah *P. cubeba* langsung digiling dengan blender. Setiap bahan tumbuhan yang sudah diblender diayak menggunakan pengayak kawat kasa berjalinan 0,5 mm.

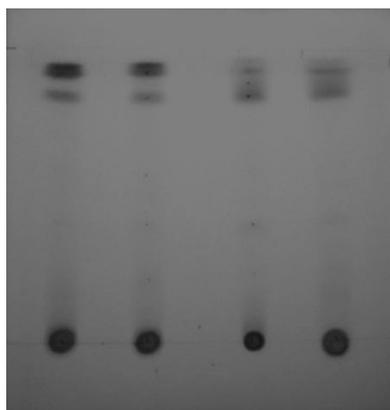
Serbuk daun *T. vogelii* 300 g, biji *T. vogelii* 100 g, dan buah *P. cubeba* 500 g, masing-masing direndam dalam 3 L, 1 L, dan 1,5 L etil asetat selama 24 jam. Rendaman masing-masing serbuk tumbuhan kemudian disaring menggunakan corong kaca yang

dialasi kertas saring Whatman No. 41. Hasil saringan kemudian diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C dan tekanan 240 mbar. Etil asetat hasil penguapan yang diperoleh digunakan kembali untuk membilas residu pada perendaman dan corong kaca. Pembilasan dan perendaman ini dilakukan berulang-ulang sehingga pada perendaman terakhir larutan hasil penyaringan berwarna sangat muda (hampir tidak berwarna).

Ekstrak yang diperoleh dari daun *T. vogelii* berbentuk padat dan berwarna hijau pekat, ekstrak biji *T. vogelii* berbentuk padat dan berwarna cokelat kemerahan, dan ekstrak buah *P. cubeba* berbentuk campuran fraksi minyak dan fraksi padatan yang berwarna cokelat kemerahan. Fraksi padatan ekstrak *P. cubeba* digunakan untuk pengujian setelah dipisahkan dari fraksi minyaknya. Setiap ekstrak yang diperoleh disimpan dalam lemari es ($\pm 4^\circ\text{C}$) hingga saat digunakan.

Pemeriksaan Kualitatif Komponen Ekstrak *T. vogelii*. Pemisahan komponen empat jenis ekstrak *T. vogelii* diperiksa secara kualitatif dengan teknik kromatografi lapisan tipis (*thin layer chromatography*–TLC), dengan menggunakan pelat aluminium TLC berlapiskan gel silika (Silica Gel F₂₅₄, Merck) dan larutan pengembang campuran kloroform dan dietileter (19:1), serta visualisasi komponen ekstrak dengan sinar UV 254 nm (Kamal & Mangla, 1993). Hasil pemeriksaan menunjukkan bahwa pemisahan komponen ekstrak daun *T. vogelii* bunga ungu dan bunga putih memiliki pola yang sama, demikian pula pemisahan komponen ekstrak biji *T. vogelii* bunga ungu dan bunga putih (Gambar 1). Intensitas bercak pada ekstrak daun *T. vogelii* lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak biji. Ekstrak daun *T. vogelii* bunga ungu dan putih mengandung enam subfraksi dengan Rf antara 0,21 dan 0,94, sedangkan ekstrak biji *T. vogelii* bunga ungu dan bunga putih mengandung lima subfraksi dengan Rf antara 0,31 dan 0,96 (Tabel 1). Pada keempat jenis ekstrak, bercak nonpolar (Rf > 0,8) tampak jelas, selain komponen polar yang tetap berada di dekat garis dasar pelat TLC (Gambar 1).

Metode Pengujian. Setiap jenis ekstrak diuji pada enam taraf konsentrasi yang diharapkan dapat memetakan serangga uji antara 15% dan 95%, yang ditentukan berdasarkan uji pendahuluan. Konsentrasi uji ekstrak daun *T. vogelii* bunga ungu ialah 0,05%, 0,08%, 0,11%, 0,14%, 0,18% dan 0,22% (w/v).



Gambar 1. Hasil pemeriksaan kualitatif empat jenis ekstrak *T. vogelii* (T.v.) dengan TLC gel silika. Sampel dari kiri ke kanan berturut-turut ekstrak daun T.v. bunga ungu, ekstrak daun T.v. bunga putih, ekstrak biji T.v. bunga ungu, dan ekstrak biji T.v. bunga putih

Tabel 1. Faktor retensi komponen ekstrak *T. vogelii* pada pelat TLC gel silika

Jenis ekstrak	Faktor retensi (Rf)
Ekstrak daun <i>T. vogelii</i> bunga ungu dan bunga putih	0*; 0,21; 0,39; 0,83*; 0,89; 0,91*; 0,94*
Ekstrak biji <i>T. vogelii</i> bunga ungu dan bunga putih	0*; 0,31; 0,84*; 0,89*; 0,93*; 0,96

* Subfraksi utama (bercak tampak jelas)

Konsentrasi uji ekstrak daun *T. vogelii* bunga putih dan ekstrak biji *T. vogelii* bunga ungu dan putih sama, yaitu 0,05%, 0,12%, 0,19%, 0,26%, 0,33% dan 0,40%. Konsentrasi uji fraksi padatan ekstrak buah ialah 0,25%, 0,32%, 0,39%, 0,46%, 0,53% dan 0,60% (w/v). Konsentrasi total campuran ekstrak daun *T. vogelii* bunga ungu dan ekstrak *P. cubeba* (5:9) yang diuji ialah 0,07%, 0,126%, 0,182%, 0,238%, 0,294% dan 0,350%.

Ekstrak daun dan biji *T. vogelii* dicampur dengan pelarut metanol dan pengemulsi Tween-80 (5:1) kemudian diencerkan dengan akuades sampai volume tertentu sesuai konsentrasi yang diinginkan. Konsentrasi akhir metanol dan Tween-80 dalam suspensi ekstrak uji masing-masing 1% dan 0,2% (v/v). Air yang mengandung pelarut metanol 1% dan pengemulsi Tween-80 0,2% digunakan sebagai larutan kontrol. Fraksi padatan ekstrak buah *P. cubeba* dicampur dengan

campuran aseton, metanol, dan Tween-80 (2,5:7,5:2, konsentrasi akhir 0,25%, 0,75% dan 0,2%) kemudian diencerkan dengan akuades sampai volume tertentu sesuai konsentrasi yang diinginkan. Larutan kontrol berupa akuades yang mengandung aseton 0,25%, metanol 0,75% dan Tween-80 0,2%. Untuk pengujian campuran, ekstrak daun *T. vogelii* bunga ungu dan fraksi padatan ekstrak buah *P. cubeba* (5:9, w/w) dicampur dengan campuran aseton, metanol dan Tween-80 (5:5:2, konsentrasi akhir 0,5%, 0,5%, dan 0,2%) kemudian diencerkan dengan akuades sampai volume tertentu sesuai konsentrasi yang diinginkan. Larutan kontrol berupa akuades yang mengandung aseton 0,5%, metanol 0,5% dan Tween-80 0,2%. Semua suspensi ekstrak dikocok dengan menggunakan pengocok ultrasonik agar ekstrak dapat tersuspensikan secara merata di dalam air.

Pengujian dilakukan dengan menggunakan metode celup daun. Potongan daun brokoli segar berukuran 4 cm x 4 cm dan bebas pestisida dicelup satu per satu dalam suspensi ekstrak uji sampai basah merata lalu dikeringudarkan. Daun kontrol dicelup dalam larutan kontrol yang sesuai. Setiap potong daun perlakuan dan daun kontrol diletakkan secara terpisah di dalam cawan petri (diameter 9 cm) yang dialasi tisu. Sebanyak 15 ekor larva instar II *C. pavonana* (< 30 menit setelah ganti kulit) dimasukkan ke dalam cawan petri, kemudian diberikan daun kontrol atau daun perlakuan sesuai konsentrasinya (satu daun/cawan), dan larva tersebut dibiarkan makan selama 24 jam. Setelah 24 jam ditambahkan daun perlakuan atau daun kontrol secukupnya. Dua puluh empat jam berikutnya, daun perlakuan diganti dengan daun tanpa perlakuan. Setiap perlakuan diulang enam kali. Jumlah larva yang mati dicatat setiap hari sampai hari ke-4 (96 jam sejak awal perlakuan [JAP]).

Data mortalitas kumulatif pada 48, 72 dan 96 JAP diolah dengan analisis probit menggunakan program POLO-PC (LeOra Software, 1987). Perbandingan toksisitas di antara ekstrak tunggal dilakukan dengan cara menghitung nisbah LC_{50} dan selang kepercayaan (SK) 95%-nya (Robertson *et al.*, 2007).

Penentuan Sifat Aktivitas Campuran Ekstrak *T. vogelii* dan *P. cubeba*. Sifat aktivitas campuran ekstrak *T. vogelii* yang paling aktif dan fraksi padatan ekstrak buah *P. cubeba* dianalisis berdasarkan model kerja bersama berbeda dengan menghitung indeks kombinasi (IK) pada taraf LC_{50} dan LC_{95} (Chou & Talalay, 1984):

$$IK = \frac{LC_x^{1(cm)}}{LC_x^1} + \frac{LC_x^{2(cm)}}{LC_x^2} + \left(\frac{LC_x^{1(cm)}}{LC_x^1} \times \frac{LC_x^{2(cm)}}{LC_x^2} \right)$$

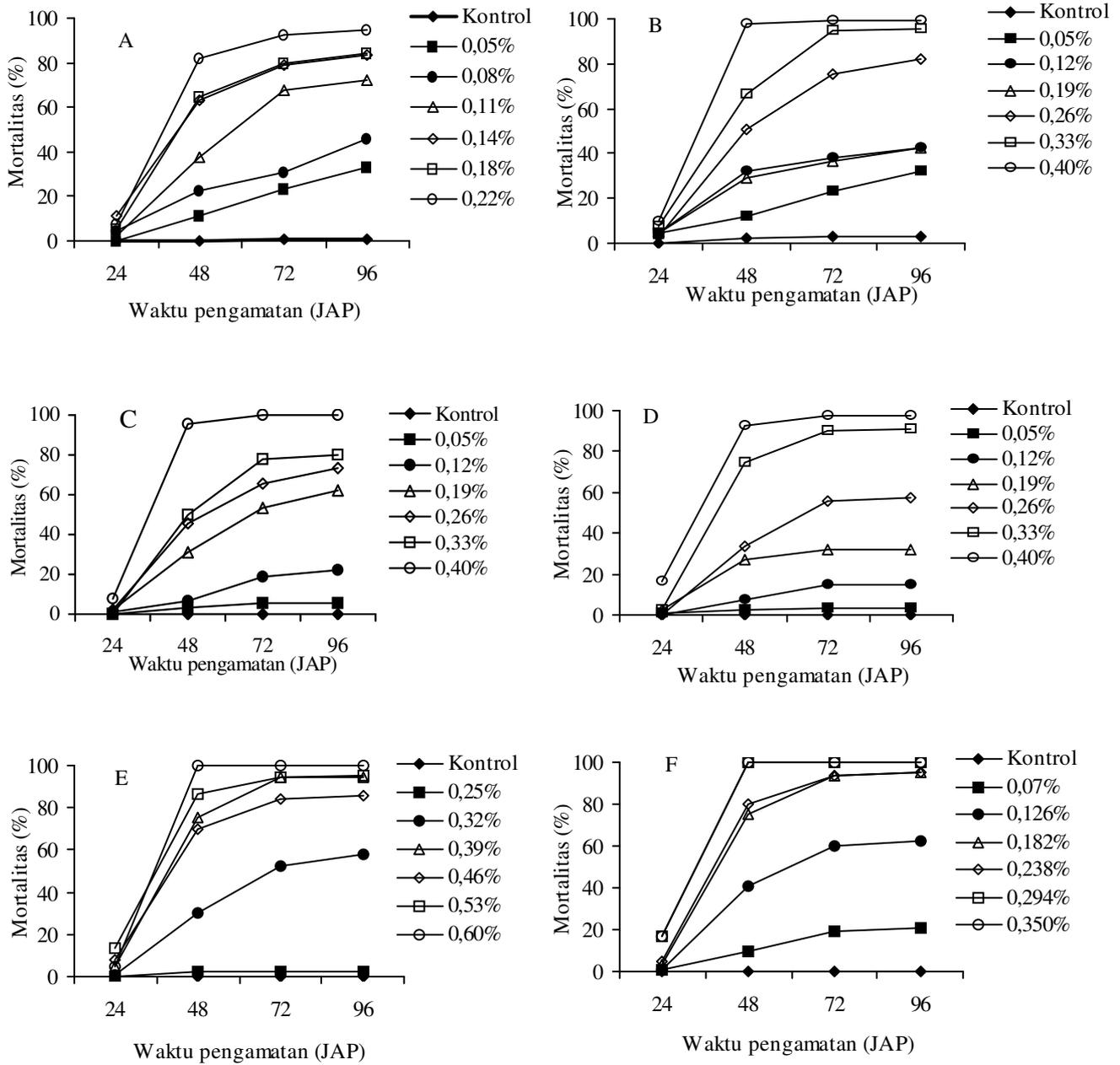
LC_x^1 dan LC_x^2 masing-masing merupakan LC_x ekstrak *T. vogelii* yang paling aktif dan fraksi padatan ekstrak buah *P. cubeba* pada pengujian terpisah; $LC_x^{1(cm)}$ dan $LC_x^{2(cm)}$ masing-masing LC komponen *T. vogelii* yang paling aktif dan *P. cubeba* dalam campuran yang mengakibatkan mortalitas x (misal 50% dan 95%). Nilai LC tersebut diperoleh dengan cara mengalikan LC_x campuran dengan proporsi konsentrasi komponen *T. vogelii* dan *P. cubeba* dalam campuran.

Kategori sifat interaksi campuran adalah sebagai berikut (diadaptasi dari Gisi, 1996 dan Kosman & Cohen, 1996): (1) bila $IK < 0,5$ komponen campuran bersifat sinergistik kuat; (2) bila $0,5 \leq IK \leq 0,77$ komponen campuran bersifat sinergistik lemah; (3) bila $0,77 < IK \leq 1,43$ komponen campuran bersifat aditif; (4) bila $IK > 1,43$ komponen campuran bersifat antagonistik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Ekstrak Uji terhadap Mortalitas Larva *C. pavonana*. Tingkat kematian larva *C. pavonana* pada 24 JAP masih rendah untuk semua perlakuan. Peningkatan kematian serangga uji mulai tampak nyata pada 48 JAP dan umumnya meningkat dengan makin besarnya konsentrasi yang diuji (Gambar 2). Pada 48 JAP perlakuan dengan empat jenis ekstrak *T. vogelii* pada konsentrasi tertinggi mengakibatkan kematian larva $\geq 80\%$ (Gambar 2 A-D), sedangkan perlakuan ekstrak buah *P. cubeba* dan campuran ekstrak daun *T. vogelii* bunga ungu + ekstrak buah *P. cubeba* (5:9) pada konsentrasi tertinggi mengakibatkan kematian larva 100% (Gambar 2 E-F). Pada 72 JAP masih terjadi peningkatan kematian larva pada perlakuan yang kematiannya belum mencapai 100%, meskipun daun perlakuan sudah diganti dengan daun tanpa perlakuan. Pada perlakuan empat jenis ekstrak *T. vogelii* pada konsentrasi tertinggi, mortalitas larva bertambah menjadi 90%, sementara perlakuan ekstrak buah *P. cubeba* dan campuran ekstrak daun *T. vogelii* bunga ungu + ekstrak buah *P. cubeba* pada lima konsentrasi tertinggi mengakibatkan kematian larva $\geq 50\%$. Untuk semua perlakuan, kematian larva umumnya hanya sedikit meningkat setelah 72 JAP. Pola perkembangan mortalitas larva *C. pavonana* tersebut menunjukkan bahwa senyawa aktif dalam empat jenis ekstrak *T. vogelii* dan ekstrak buah *P. cubeba* bekerja relatif lambat.

Semua data yang mengandung tingkat mortalitas $\geq 50\%$ diolah dengan analisis probit untuk menentukan hubungan konsentrasi-mortalitas, termasuk menentukan LC_{50} dan LC_{95} . Berdasarkan sifat data yang diperoleh, analisis probit dilakukan terhadap data kematian larva pada 48, 72, dan 96 JAP. Hasil analisis probit untuk semua perlakuan menunjukkan bahwa nilai LC_{50} dan LC_{95} pada 96 JAP lebih kecil daripada LC_{50} dan LC_{95}



Gambar 2. Perkembangan mortalitas larva *C. pavonana* pada perlakuan ekstrak daun *T. vogelii* bunga ungu (A), ekstrak daun *T. vogelii* bunga putih (B), ekstrak biji *T. vogelii* bunga ungu (C), ekstrak biji *T. vogelii* bunga putih (D), ekstrak buah *P. cubeba* (E), dan campuran ekstrak daun *T. vogelii* bunga ungu dan ekstrak buah *P. cubeba* (5:9) (F). JAP = jam sejak awal perlakuan

Tabel 2. Penduga parameter hubungan konsentrasi-mortalitas empat jenis ekstrak *T. vogelii* dan *P. cubeba* terhadap larva instar II *C. pavonana* dengan metode celup daun

Ekstrak uji	Waktu pengamatan (JAP) ^a	$a \pm GB^b$	$b \pm GB^b$	LC ₅₀ (SK 95%) (%) ^b	LC ₉₅ (SK 95%) (%) ^b
Daun <i>T. vogelii</i> bunga ungu	48	3,030 ± 0,284	3,368 ± 0,305	0,126 (0,110 - 0,145)	0,388 (0,292 - 0,639)
	72	3,595 ± 0,298	3,457 ± 0,305	0,091 (0,071 - 0,109)	0,273 (0,202 - 0,512)
	96	3,486 ± 0,300	3,107 ± 0,298	0,075 (0,060 - 0,088)	0,256 (0,199 - 0,396)
	48	1,875 ± 0,204	2,770 ± 0,300	0,210	0,825
Daun <i>T. vogelii</i> bunga putih	72	2,446 ± 0,211	2,953 ± 0,284	0,148	0,535
	96	2,320 ± 0,191	2,555 ± 0,238	0,124	0,544
	48	2,196 ± 0,214	3,726 ± 0,332	0,257	0,711
	72	2,719 ± 0,206	3,674 ± 0,287	0,182 (0,127 - 0,239)	0,510 (0,351 - 1,375)
Biji <i>T. vogelii</i> bunga ungu	96	2,889 ± 0,209	3,716 ± 0,283	0,167 (0,121 - 0,212)	0,462 (0,333 - 0,970)
	48	2,632 ± 0,237	4,400 ± 0,374	0,252	0,597
	72	3,090 ± 0,238	4,504 ± 0,351	0,206	0,478
	96	3,156 ± 0,241	4,570 ± 0,354	0,204	0,457
Buah <i>P. cubeba</i>	48	3,886 ± 0,272	8,998 ± 0,652	0,370 (0,311 - 0,420)	0,564 (0,481 - 0,852)
	72	4,883 ± 0,343	10,141 ± 0,753	0,330 (0,244 - 0,388)	0,479 (0,404 - 0,896)
	96	5,030 ± 0,357	10,303 ± 0,775	0,325 (0,237 - 0,383)	0,469 (0,395 - 0,899)
	48	4,365 ± 0,297	5,023 ± 0,364	0,135 (0,107 - 0,161)	0,287 (0,230 - 0,441)
Campuran daun <i>T. vogelii</i> bunga ungu + <i>P. cubeba</i> (5:9)	72	5,081 ± 0,366	5,221 ± 0,404	0,106 (0,090 - 0,122)	0,220 (0,186 - 0,285)
	96	5,329 ± 0,396	5,382 ± 0,428	0,102 (0,087 - 0,116)	0,207 (0,176 - 0,266)

^a JAP = jam sejak awal perlakuan.

^b a = intersep garis regresi probit, b = kemiringan regresi probit, GB = galat baku, SK = selang kepercayaan.

pada 72 JAP yang juga lebih kecil daripada LC_{50} dan LC_{95} pada 48 JAP (Tabel 2). Hal ini konsisten dengan pola perkembangan mortalitas larva seperti yang diuraikan di atas, yaitu pada 72 dan 96 JAP masih terjadi peningkatan kematian larva.

Ekstrak daun *T. vogelii* bunga ungu memiliki aktivitas insektisida yang kuat terhadap larva *C. pavonana* karena LC_{95} -nya pada 72 dan 96 JAP tidak lebih besar dari 0,3%. Sementara itu, ekstrak biji *T. vogelii* bunga ungu dan bunga putih serta ekstrak buah *P. cubeba* memiliki aktivitas insektisida cukup kuat

karena LC_{95} -nya pada 72 dan 96 JAP sekitar 0,5%, dan toksisitas ekstrak daun *T. vogelii* bunga putih lebih rendah dibandingkan dengan tiga jenis ekstrak *T. vogelii* lainnya (Tabel 2).

Berdasarkan kesetaraan toksisitas pada taraf LC_{50} pada 96 JAP, ekstrak daun *T. vogelii* bunga ungu berturut-turut 4,30; 2,70; 2,21; dan 1,64 kali lebih toksik dibandingkan dengan ekstrak buah *P. cubeba*, ekstrak biji *T. vogelii* bunga putih, ekstrak biji *T. vogelii* bunga ungu, dan ekstrak daun *T. vogelii* bunga putih; toksisitas ekstrak daun *T. vogelii* bunga ungu tersebut berbeda

Tabel 3. Kesetaraan toksisitas di antara empat macam ekstrak *T. vogelii* dan *P. cubeba* terhadap larva *C. pavonana* berdasarkan nisbah LC_{50} dan selang kepercayaan (SK) 95%

Ekstrak ^a	Nisbah LC_{50} (SK 95%) ^c			
	<i>T. vogelii</i> -1	<i>T. vogelii</i> -2	<i>T. vogelii</i> -3	<i>T. vogelii</i> -4
48 JAP ^b				
<i>P. cubeba</i>	1,467 (0,591–3,636)	1,437 (0,582–3,552)	1,759 (0,739–4,184)	2,936 (1,307–6,598)
<i>T. vogelii</i> -1	-	1,020 (0,498–2,092)	1,199 (0,614–2,342)	2,002 (1,106–,625)
<i>T. vogelii</i> -2		-	1,224 (0,629–2,379)	2,043 (1,134–3,680)
<i>T. vogelii</i> -3			-	1,670 (0,985–2,831)
72 JAP ^b				
<i>P. cubeba</i>	1,601 (0,647–3,946)	1,814 (0,752–4,371)	2,224 (0,922–5,365)	3,620 (1,578–8,300)
<i>T. vogelii</i> -1	-	1,133 (0,610–2,104)	1,389 (0,747–2,584)	2,261 (1,309–3,904)
<i>T. vogelii</i> -2		-	1,226 (0,681–2,207)	1,996 (1,200–3,320)
<i>T. vogelii</i> -3			-	1,628 (0,977–2,712)
96 JAP ^b				
<i>P. cubeba</i>	1,594 (0,644–3,945)	1,947 (0,806–4,703)	2,629 (1,105–6,256)	4,302 (1,858–9,961)
<i>T. vogelii</i> -1	-	1,222 (0,659–2,264)	1,650 (0,909–2,992)	2,699 (1,550–4,702)
<i>T. vogelii</i> -2		-	1,350 (0,773–2,356)	2,209 (1,322–3,692)
<i>T. vogelii</i> -3			-	1,636 (1,005–2,665)

^a Kode 1 s.d. 4 untuk *T. vogelii* (T.v.) berturut-turut (1) ekstrak biji T.v. bunga putih, (2) ekstrak biji T.v. bunga ungu, (3) ekstrak daun T.v. bunga putih, dan (4) ekstrak daun T.v. bunga ungu.

^b Waktu pengamatan, JAP = jam sejak awal perlakuan.

^c LC_{50} ekstrak pada kolom ke-1 dibagi LC_{50} ekstrak pada kolom ke-2 dan seterusnya, kecuali pada 48 JAP T.v.-1/T.v.-2 nisbah tersebut merupakan LC_{50} T.v.-2 kolom ke-3 dibagi LC_{50} T.v.-1 kolom ke-1.

nyata dengan toksisitas empat jenis ekstrak lainnya (SK 95% dari nisbah LC_{50} tidak melewati nilai 1) (Tabel 3). Pada 48 dan 72 JAP, toksisitas ekstrak daun *T. vogelii* bunga ungu juga berbeda nyata dengan toksisitas ekstrak buah *P. cubeba*, ekstrak biji *T. vogelii* bunga putih, dan ekstrak biji *T. vogelii* bunga ungu, tetapi tidak berbeda nyata dengan toksisitas ekstrak daun *T. vogelii* bunga putih (SK 95% dari nisbah LC_{50} melewati nilai 1).

Toksistas ekstrak daun *T. vogelii* bunga putih pada taraf LC_{50} pada 48, 72, dan 96 JAP masing-masing 1,76; 2,22; dan 2,63 kali lebih tinggi dibandingkan dengan toksisitas ekstrak buah *P. cubeba*, tetapi toksisitas yang berbeda nyata hanya terdapat pada pengamatan 96 JAP. Toksistas ekstrak daun *T. vogelii* bunga putih tidak berbeda nyata dengan toksisitas ekstrak biji *T. vogelii* bunga ungu dan bunga putih meskipun nisbah LC_{50} -nya 1,20–1,65. Ekstrak biji *T. vogelii* bunga ungu memiliki toksisitas yang tidak berbeda nyata dengan ekstrak biji *T. vogelii* bunga putih dengan nisbah LC_{50} 1,02–1,22. Toksistas kedua ekstrak biji *T. vogelii* tersebut juga tidak berbeda nyata dengan toksisitas ekstrak buah *P. cubeba*, meskipun nisbah LC_{50} -nya berkisar dari 1,44 sampai 1,95 (Tabel 3). Secara umum dapat dikemukakan bahwa ekstrak daun *T. vogelii* lebih aktif dibandingkan dengan ekstrak bijinya dan ekstrak yang berasal dari tanaman *T. vogelii* berbunga ungu lebih aktif daripada ekstrak *T. vogelii* berbunga putih. Keempat jenis ekstrak *T. vogelii* tersebut lebih aktif dibandingkan dengan ekstrak buah *P. cubeba*.

Hasil penelitian ini sesuai dengan laporan Morallo-Rejesus (1986) yang menyatakan bahwa bagian tanaman *T. vogelii* yang dapat digunakan sebagai insektisida adalah daun dan biji. Pemeriksaan kualitatif ekstrak *T. vogelii* dengan TLC gel silika menunjukkan perbedaan pola bercak antara ekstrak daun dan ekstrak

biji. Ekstrak daun *T. vogelii* mengandung senyawa nonpolar lebih banyak yang tampaknya menyebabkan ekstrak bersifat aktif (Gambar 2, Tabel 1). Ekstrak daun *T. vogelii* bunga ungu lebih aktif dibandingkan dengan ekstrak daun *T. vogelii* bunga putih, serta ekstrak biji *T. vogelii* bunga ungu dan bunga putih. Dengan demikian, pengembangan insektisida botani berbahan baku *T. vogelii* lebih disarankan menggunakan daun *T. vogelii* bunga ungu dibandingkan dengan biji *T. vogelii* bunga ungu atau daun dan biji *T. vogelii* bunga putih. Selain pembuatan ekstrak daun *T. vogelii* lebih praktis dan hemat biaya, ketersediaan daun juga lebih banyak dibandingkan dengan biji.

Aktivitas ekstrak daun *T. vogelii* bunga ungu yang lebih tinggi dibandingkan dengan tiga jenis ekstrak *T. vogelii* lainnya kemungkinan ekstrak tersebut memiliki kandungan senyawa aktif rotenoid yang lebih tinggi. Tiga jenis senyawa rotenoid utama yang bersifat insektisida dalam tanaman *T. vogelii* adalah rotenon, deguelin, dan tefrosin (Delfel *et al.*, 1970; Lambert *et al.*, 1993). Rotenon dan deguelin lebih banyak terdapat dalam daun daripada dalam tangkai daun dan batang, serta paling sedikit dalam akar (Delfel *et al.*, 1970).

Rotenon bekerja sebagai racun respirasi dengan cara menghambat transfer elektron dalam NADH-koenzim ubiquinon reduktase (kompleks I) dari sistem transpor elektron di dalam mitokondria (Hollingworth, 2001). Hambatan ini akan menurunkan produksi ATP, selanjutnya menghambat aktivitas sel, mengakibatkan kelumpuhan akibat otot dan jaringan lain kekurangan energi, dan akhirnya mengakibatkan kematian (Perry *et al.*, 1998). Tubuh larva *C. pavonana* yang keracunan ekstrak *T. vogelii* tampak menghitam yang mencerminkan terjadinya kematian sel dan jaringan.

Tabel 4. Sifat aktivitas campuran ekstrak daun *T. vogelii* bunga ungu dan buah *P. cubeba* (5:9) terhadap larva instar II *C. pavonana* dengan metode celup daun

Waktu pengamatan (JAP) ^a	Indeks kombinasi		Sifat Interaksi	
	LC_{50}	LC_{95}	LC_{50}	LC_{95}
48	0,710	0,680	Sinergistik lemah	Sinergistik lemah
72	0,708	0,668	Sinergistik lemah	Sinergistik lemah
96	0,245	0,655	Sinergistik kuat	Sinergistik lemah

^a JAP = jam sejak awal perlakuan.

Sifat Aktivitas Campuran Ekstrak *T. vogelii* dan *P. cubeba*. LC_{50} campuran ekstrak daun *T. vogelii* bunga ungu + buah *P. cubeba* (5:9) sekitar 1,07–1,36 kali lebih tinggi dibandingkan dengan LC_{50} ekstrak daun *T. vogelii* bunga ungu, tetapi hanya sekitar 2,74–3,19 kali lebih rendah daripada LC_{50} ekstrak buah *P. cubeba*, serta LC_{95} campuran tersebut sekitar 1,24–1,35 kali lebih rendah dibandingkan dengan LC_{95} ekstrak daun *T. vogelii* bunga ungu dan sekitar 1,97–2,27 kali lebih rendah daripada LC_{95} ekstrak buah *P. cubeba* (Tabel 2). Dengan demikian pada taraf LC_{95} campuran ekstrak daun *T. vogelii* bunga ungu + buah *P. cubeba* lebih aktif terhadap larva *C. pavonana* dibandingkan dengan ekstrak daun *T. vogelii* bunga ungu dan buah *P. cubeba* secara terpisah.

Pada taraf LC_{50} , campuran ekstrak daun *T. vogelii* bunga ungu dan buah *P. cubeba* bersifat sinergistik lemah pada 48 dan 72 JAP dan sinergistik kuat pada 96 JAP, sedangkan pada taraf LC_{95} campuran tersebut bersifat sinergistik lemah baik pada 48, 72 maupun 96 JAP (Tabel 4). Peningkatan sifat sinergistik pada taraf LC_{50} dari sinergistik lemah pada 72 JAP menjadi sinergistik kuat pada 96 JAP mencerminkan terjadinya peningkatan mortalitas larva *C. pavonana* yang lebih besar pada perlakuan campuran ekstrak pada 96 JAP dibandingkan dengan peningkatan mortalitas pada perlakuan ekstrak tunggal. Campuran ekstrak daun *T. vogelii* bunga ungu dan buah *P. cubeba* yang bersifat sinergistik layak diuji lebih lanjut di lapangan.

Sifat sinergistik campuran ekstrak daun *T. vogelii* bunga ungu dan buah *P. cubeba* kemungkinan disebabkan oleh adanya senyawa lignan yang mengandung gugus metilendioksifenil dalam buah *P. cubeba*, seperti kubebin, klusin, dihidroklusin, yatein, hinokinin, dan dihidrokubebin (Usia *et al.*, 2005; Elfahmi *et al.*, 2007). Gugus fungsional tersebut merupakan ciri penting dari sejumlah sinergis insektisida yang dapat menghambat aktivitas enzim sitokrom P450, yang dapat menurunkan daya racun senyawa asing termasuk insektisida (Metcalf, 1967; Bernard *et al.*, 1989). Dengan terhambatnya enzim penurun daya racun senyawa asing tersebut kemungkinan senyawa aktif ekstrak *T. vogelii* yang dicampurkan tidak terurai dan

dapat tetap bekerja. Dengan demikian, penggunaan campuran ekstrak daun *T. vogelii* bunga ungu dan ekstrak buah *P. cubeba* lebih disarankan dibandingkan dengan penggunaan komponennya secara terpisah di lapangan.

Penggunaan campuran insektisida botani yang bersifat sinergistik dapat meningkatkan efisiensi aplikasi karena insektisida campuran digunakan pada dosis yang lebih rendah dibandingkan dengan dosis komponen masing-masing secara terpisah. Dengan kata lain, penggunaan campuran insektisida botani yang bersifat sinergistik dapat mengurangi jumlah pemakaian bahan baku dibandingkan dengan insektisida botani yang mengandung ekstrak tunggal, sehingga dapat mengatasi keterbatasan bahan baku insektisida botani di tingkat petani karena tumbuhan sumber insektisida botani tidak selalu terdapat melimpah di suatu daerah. Penggunaan campuran insektisida botani pada dosis yang lebih rendah juga dapat mengurangi dampak samping terhadap organisme bukan sasaran dan lingkungan. Selain itu, penggunaan campuran insektisida botani yang komponennya memiliki cara kerja berbeda dapat menunda terjadinya resistensi hama (Georghiou, 1983).

SIMPULAN

Ekstrak etil asetat daun dan biji *T. vogelii* bunga ungu dan bunga putih dan fraksi padatan ekstrak etil asetat buah *P. cubeba* memiliki aktivitas insektisida yang kuat terhadap larva instar II *C. pavonana*. Ekstrak daun *T. vogelii* lebih aktif dibandingkan dengan ekstrak biji dan ekstrak yang berasal dari tanaman *T. vogelii* bunga ungu lebih aktif daripada ekstrak *T. vogelii* bunga putih. Keempat jenis ekstrak *T. vogelii* tersebut lebih aktif dibandingkan dengan ekstrak buah *P. cubeba*. Campuran ekstrak daun *T. vogelii* bunga ungu + fraksi padatan ekstrak buah *P. cubeba* (5:9) bersifat sinergistik terhadap larva *C. pavonana*, baik pada taraf LC_{50} maupun LC_{95} . Ekstrak daun *T. vogelii* bunga ungu dan campurannya dengan ekstrak buah *P. cubeba* berpotensi untuk dimanfaatkan sebagai bahan alternatif dalam pengendalian hama *C. pavonana* di lapangan.

DAFTAR PUSTAKA

- Bernard CB, Arnason JT, Philogene BJR, Lam J & Waddell T. 1989. Effect of lignans and other secondary metabolites of the Asteraceae on the monooxygenase activity of European corn borer. *Phytochemistry* 28: 1373-1377.
- Chou TC & Talalay P. 1984. Quantitative analysis of dose-effect relationships: the combined effects of multiple drugs or enzyme inhibitors. *Adv. Enzyme Regl.* 22: 27-55.
- Dadang & Prijono D. 2008. *Insektisida Nabati: Prinsip, Pemanfaatan, dan Pengembangan*. Departemen Proteksi Tanaman, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Delfel NE, Tallent WH, Carlson DG & Wolff IA. 1970. Distribution of rotenone and deguelin in *Tephrosia vogelii* and separation of rotenoid-rich fractions. *J. Agric. Food Chem.* 18(3): 385-390.
- Elfahmi, Ruslan K, Batterman S, Bos R, Kayser O, Woerdenbag HJ & Quax WJ. 2007. Lignan profile of *Piper cubeba*, an Indonesian medicinal plant. *Biochem. System. Ecol.* 35: 397-402.
- Gaskins MH, White GA & Martin FW. 1972. *Tephrosia vogelii*: a source of rotenoids for insecticidal and piscicidal use. <http://gears.tucson.ars.ag.gov/book/chap9/tephrosia.html> [12 Desember 2009].
- Georghiou GP. 1983. Management of resistance in arthropods. Pages 769-792 in: Georghiou GP & Saito T, eds. *Pest Resistance to Pesticides*. Plenum Press, New York.
- Gisi U. 1996. Synergistic interaction of fungicides in mixtures. *Phytopathology* 86: 1273-1279.
- Hollingsworth RM. 2001. Inhibitor and uncouplers of mitochondrial oxidative phosphorylation. Pp. 1169-1227 In: Krieger R, Doull J, Ecobichon D, Gammon D, Hodgson E, Reiter L & Ross J, eds. *Handbook of Pesticide Toxicology*. Vol 2. Academic Press, San Diego.
- Kamal, R. & M. Mangla. 1993. *In vivo* and *in vitro* investigations on rotenoids from *Indigofera tinctoria* and their bioefficacy against the larvae of *Anopheles stephensi* and adults of *Callosobruchus chinensis*. *J. Biosci.* 18: 93-101.
- Kardinan A. 2002. *Pestisida Nabati: Ramuan dan Aplikasi*. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Klocke JA. 1987. Natural plant compounds useful in insect control. Pages 396-415 in: Waller GR, eds. *Allelochemicals: Role in Agriculture and Forestry*. ACS, Washington DC.
- Kosman E & Cohen Y. 1996. Procedures for calculating and differentiating synergism and antagonism in action of fungicide mixtures. *Phytopathology* 86: 1255-1264.
- Lambert N, Trouslot MF, Campa CN & Chrestin H. 1993. Production of rotenoids by heterotrophic and photomixotrophic cell cultures of *Tephrosia vogelii*. *Phytochemistry* 34: 1515-1520.
- LeOra Software. 1987. *POLO-PC User's Guide*. LeOra Software, Petaluma, California.
- Metcalf RL. 1967. Mode of action of insecticide synergists. *Annu. Rev. Entomol.* 12: 229-256.
- Morallo-Rejesus B. 1986. Botanical insecticides against the diamondback moth. University of the Philippines at Los Banos, College, Laguna, Philippines. <http://www.avrd.org/pdf86dbm86DBM23pdf> [16 Maret 2007].
- Oka IN. 1995. *Pengendalian Hama Terpadu dan Implementasinya di Indonesia*. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Perry AS, Yamamoto I, Ishaaya I & Perry RY. 1998. *Insecticides in Agriculture and Environment: Retrospects and Prospects*. Springer, Berlin.

- Priyono D. 2002. *Pengujian Keefektifan Campuran Insektisida: Pedoman bagi Pelaksana Pengujian Efikasi untuk Pendaftaran Pestisida*. Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Priyono D & Hassan E. 1992. Life cycle and demography of *Crociodolomia binotalis* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) on brocolli in laboratory. *Indon. J. Trop. Agric.* 4: 18:24.
- Robertson JL, Russell RM, Preisler HK & Savin NR. 2007. *Bioassays with Arthropods*. 2nd ed. CRC Press, Boca Raton.
- Sastrosiswojo S. 1996. Sistem pengendalian hama terpadu dalam menunjang agribisnis sayuran. Hlm. 69-81 dalam: *Prosiding Ilmiah Nasional Komoditas Sayuran*. Lembang, 24 Oktober 1995. Balai Penelitian Tanaman Sayuran, Lembang-Bandung.
- Sastrosiswojo S & Setiawati W. 1993. Hama-hama kubis dan pengendaliannya. dalam: Permadi AH & Sastrosiswojo S, eds. *Kubis*. Balithor, Lembang- Bandung.
- Stone ND, Makela ME & Plapp FW. 1988. Nonlinear optimization analysis of insecticide mixtures for the control of the tobacco budworm (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Econ. Entomol.* 81: 989-994.
- Usia T, Wabate T, Kadota S & Tezuka Y. 2005. Potent CYP3A4 inhibitory constituents of *Piper cubeba*. *J. Nat Prod.* 68: 64-68.
- Wulan RDR. 2008. Aktivitas insektisida ekstrak daun *Tephrosia vogelii* Hook. f. (Leguminosae) terhadap larva *Crociodolomia pavonana* (F.) (Lepidoptera: Pyralidae) [skripsi]. Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor.