



## **Status dan Mekanisme Resistensi Biokimia *Crocidolomia pavonana* (F.) (Lepidoptera: Crambidae) terhadap Insektisida Organofosfat serta Kepekaannya terhadap Insektisida Botani Ekstrak Biji *Barringtonia asiatica***

DANAR DONO<sup>1)</sup>, SYAFRI ISMAYANA<sup>2)</sup>, IDAR<sup>2)</sup>, DJOKO PRIJONO<sup>3)</sup>,  
DAN IKHA MUSLIKHA<sup>4)</sup>

<sup>1)</sup>Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan,  
Fakultas Pertanian Universitas Padjadjaran

<sup>2)</sup>Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Padjadjaran

<sup>3)</sup>Departemen Proteksi Tanaman Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor

<sup>4)</sup>Alumnus Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan,  
Fakultas Pertanian Universitas Padjadjaran

(diterima Juli 2009, disetujui Januari 2010)

### ABSTRACT

**Status and Biochemical Resistance Of *Crocidolomia pavonana* (F.) (Lepidoptera: Crambidae) to Organophosphate Insecticide and Its Sensitivity to Botanical Insecticide.** An examination of insect resistance was determined by several steps, i.e. standard sensitivity, resistance diagnosis, and determination of resistance level. Each phase was tested with feeding and residue contact methods at glass tube. Resistance ratio (RR) was determined by comparing LC<sub>50</sub> value of field population with standard population. Field population of *C. pavonana* was classified resistant if it had  $RR \geq 4$ . Biochemistry analysis of resistance was conducted to population of *C. pavonana* showing resistance to prophenophos insecticide. The activity analysis of acetylcholine esterase (ACHE), esterase, and Glutation S-transferase was done with spectrophotometer method. Insect which are resistant to prophenophos insecticide was tested for its sensitivity to *Barringtonia asiatica* seed extract. Result indicated that *C. pavonana* population from Pengalengan showed resistance to prophenophos synthetic insecticide. Using contact test, the highest resistance ratio value was 4.04, while by feeding assay the RR was 2.78. The study on biochemical resistance mechanisms of each field population of *C. pavonana* showed various activities of enzymatic detoxification. This could be due to the difference in the kind of insecticides exposed to each field population of *C. pavonana*. Since RR value from the contact test was higher than that of the feeding test, the resistance development of *C. pavonana* to synthetic insecticides was probably caused by physiological and biochemical changes in insect cuticle rather than the activity of detoxification enzyme. Methanolic seed extract of *B. asiatica* can be used as an alternative of resistance management of *C. pavonana* to prophenophos synthetic insecticide.

**KEY WORDS:** Resistance, enzyme, organophosphat, botanical insecticide

## PENDAHULUAN

Konsep pengendalian hama terpadu (PHT) bertumpu pada kesehatan tanaman dan pengelolaan lingkungan (Untung 2001), tetapi hingga kini petani sayuran kubis-kubisan (Brassicaceae) tetap mengandalkan insektisida untuk mengendalikan hama kubis *Crociodolomia pavonana* (F.) (sinonim *C. binotalis* Zeller) (Lepidoptera: Crambidae) dan *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Yponomeutidae). Tindakan pengendalian kimia yang berlebihan dan terus menerus dapat menimbulkan berbagai efek samping yang merugikan, yaitu resistensi dan resurgensi serangga hama sasaran, terbunuhnya musuh alami, pencemaran lingkungan, dan masalah residu pada hasil panen. Salah satu efek samping yang menjadi pusat perhatian ialah resistensi hama sasaran terhadap insektisida yang digunakan. Oleh karena itu, perlu dipantau dan dikaji status dan mekanisme resistensi biokimia serangga hama tersebut terhadap insektisida yang umum digunakan oleh petani kubis pada sentra pertanaman kubis di Lembang, Pengalengan, Cipanas, dan Ciloto.

Resistensi *P. xylostella* terhadap insektisida telah banyak dilaporkan, sedang laporan resistensi *C. pavonana* masih terbatas. Adiputra (1984) melaporkan bahwa *P. xylostella* populasi Lembang menunjukkan resistensi ter-

hadap insektisida DDT (golongan hidrokarbon berklor). Sastrosiswojo *et al.* (1989) juga melaporkan bahwa serangga tersebut telah resisten terhadap insektisida aseptat dan deltametrin. Telah dilaporkan bahwa lima populasi *P. xylostella* sangat resisten terhadap insektisida profenofos (organofosfat) dan deltametrin (piretroid). Insektisida profenofos dan deltametrin merupakan jenis insektisida yang sering digunakan oleh petani untuk mengendalikan hama pada tanaman kubis-kubisan.

Pada tahun 1993 dilaporkan bahwa *C. pavonana* belum menunjukkan resistensi terhadap beberapa jenis insektisida (Uhan & Sulastrini 1993). Resistensi *C. pavonana* terhadap insektisida di Indonesia pertama kali dilaporkan oleh Santoso (1997). Populasi *C. pavonana* instar tiga asal Pacet (Kabupaten Cianjur), Sukabumi, Bandung, dan Simpang Empat (Kabupaten Karo) telah resisten terhadap profenofos dengan nisbah resistensi (NR) berturut-turut 7,4; 4,1; 15,4; dan 7,0. Selanjutnya, Suharti (2000) melaporkan bahwa populasi larva instar II *C. pavonana* asal Cibogo dan Cikadang, Kecamatan Lembang, Kabupaten Bandung resisten terhadap insektisida profenofos dengan NR masing-masing 6,81 dan 7,88, sedang NR larva instar III masing-masing 10,57 dan 15,49.

Sampai saat ini, mekanisme biokimia resistensi serangga tersebut belum diteliti lebih lanjut. Secara umum resistensi serangga terhadap

insektisida melibatkan proses yang berkaitan dengan detoksifikasi senyawa asing yang masuk ke dalam tubuh. Serangga sasaran dapat menjadi resisten karena terseleksinya populasi serangga yang memiliki mekanisme detoksifikasi efektif terhadap zat toksik, sehingga populasi serangga resisten pada generasi berikutnya akan berkembang lebih banyak dan tidak dapat dikendalikan dengan insektisida yang awalnya efektif. Detoksifikasi zat toksik melibatkan berbagai enzim yang terdapat di dalam tubuh serangga yaitu enzim oksidasi *polysubstrat monoxygenase* (PSMO), enzim reduksi (reduktase), hidrolase, glutation S-transferase, dan reaksi konjugasi (Matsumura 1985).

Penelitian mekanisme biokimia resistensi *C. pavonana* terhadap insektisida profenofos belum pernah dilakukan, sehingga perlu diteliti mekanisme resistensi biokimia *C. pavonana* terhadap jenis insektisida tersebut dan kepekaannya terhadap insektisida botani.

#### BAHAN DAN METODE

Pengujian resistensi dilakukan melalui beberapa tahap, yaitu penentuan tingkat kepekaan acuan, diagnosis resistensi, dan penentuan tingkat resistensi. Analisis biokimia mekanisme resistensi dilakukan terhadap populasi *C. pavonana* yang menunjukkan resistensi terhadap insektisida tertentu. Analisis dilakukan terhadap aktivitas

asetilkolinesterase (AChE), esterase, serta Glutation S-transferase.

#### Insektisida Uji

Insektisida yang digunakan ialah profenofos (golongan organofosfat) dari formulasi komersial. Konsentrasi insektisida yang digunakan adalah konsentrasi pada tingkat yang diharapkan mengakibatkan kematian serangga uji antara  $0 < X < 100\%$ . Konsentrasi tersebut ditentukan berdasarkan uji pendahuluan. Pengencer yang digunakan adalah air yang telah diberi pengemulsi alkilaril poliglikol eter 400 mg/l (Agristic<sup>R</sup>) 0,1%. Sebagai kontrol, perlakuan hanya menggunakan pelarut air ditambah pengemulsi.

#### Larva Uji

Larva uji *C. pavonana* yang digunakan terdiri dari dua kelompok. Kelompok pertama merupakan kelompok larva standar, sedangkan kelompok kedua merupakan kelompok larva lapangan yang berasal dari 3 desa sentra produksi kubis di Kecamatan Pangalengan, Kabupaten Bandung.

Larva standar diperoleh dari koloni di Laboratorium Fisiologi dan Toksikologi Serangga Departemen Proteksi Tanaman Fakultas Pertanian IPB yang dipelihara dalam keadaan bebas pestisida dan telah melampaui 20 generasi.

Larva lapangan yang digunakan adalah instar dua dari generasi F2 dan F3. Pemeliharaan serangga uji meng-

ikuti prosedur yang dikemukakan oleh Prijono & Hassan (1992).

### **Penentuan Data Kepekaan Acuan**

Metode pengujian insektisida terhadap larva uji yang digunakan adalah metode kontak (metode residu pada permukaan tabung gelas) dan metode perlakuan pakan (metode residu pada daun atau metode celup).

#### ***Metode Residu pada Permukaan Tabung Gelas***

Konsentrasi formulasi insektisida yang digunakan yaitu lima taraf yang diharapkan mengakibatkan kematian serangga uji antara  $0 < X < 100\%$  serta kontrol. Konsentrasi tersebut ditentukan berdasarkan uji pendahuluan. Konsentrasi larutan insektisida dibuat dengan mengencerkan formulasi insektisida pada volume tertentu dalam pengencer air dan pengemulsi alkilaril poliglikol eter 400 mg/l (Agristik<sup>R</sup>) 0,1%. Sediaan insektisida pada konsentrasi tertentu dimasukkan ke dalam tabung gelas (tinggi 6 cm dan diameter 2.2 cm) sampai penuh. Setelah beberapa waktu penggenangan, suspensi insektisida dituang ke tabung gelas pengujian dan dikering-udarkan. Setelah kering, tabung siap digunakan sebagai wadah pengujian. Setiap taraf konsentrasi dan kontrol diulang sebanyak enam kali.

Sebanyak 10 ekor larva uji standar instar dua dimasukkan ke dalam setiap tabung gelas pengujian dengan menggunakan kuas halus. Waktu saat pema-

sukan serangga dicatat. Setelah dua jam larva berada dalam tabung pengujian kontak dengan insektisida, larva dikeluarkan dan dimasukkan ke dalam cawan petri (diameter 9 cm) yang di dalamnya telah disiapkan daun brokoli segar secukupnya sebagai pakan. Pengamatan kematian dilakukan 24 dan 48 jam setelah perlakuan. Hubungan antara konsentrasi insektisida dengan tingkat kematian larva serangga uji pada waktu pengamatan 24 dan 48 jam setelah perlakuan dilakukan dengan menggunakan analisis probit dengan program SAS.

#### ***Metode Residu pada Permukaan Daun Pakan***

Lima taraf konsentrasi formulasi insektisida yang digunakan yaitu lima taraf yang diharapkan mengakibatkan kematian serangga uji antara  $0 < X < 100\%$ . Konsentrasi tersebut ditentukan berdasarkan uji pendahuluan. Konsentrasi larutan insektisida dibuat dengan melarutkan formulasi insektisida pada volume tertentu dalam pengencer air dan pengemulsi alkilaril poliglikol eter 400 mg/l (Agristik<sup>R</sup>) 0,1%. Daun brokoli dipotong berbentuk bujur sangkar  $4 \times 4 \text{ cm}^2$  yang kemudian dicelupkan ke dalam setiap suspensi insektisida sampai seluruh permukaan daun terbasahi secara merata. Daun tersebut kemudian dikering-udarkan sebelum digunakan sebagai pakan larva.

Daun brokoli berperlakuan dan kontrol dimasukkan ke dalam cawan petri (diameter 9 cm) yang telah dialasi

kertas hisap. Sebanyak 10 ekor larva standar instar II dimasukkan ke dalam wadah tersebut. Tiap perlakuan diulang 6 kali. Daun berperlakuan diberikan kepada larva selama 24 jam. Selanjutnya larva diberi pakan daun brokoli segar (tanpa perlakuan). Pengamatan dilakukan pada 24 dan 48 jam setelah perlakuan terhadap jumlah larva yang mati hingga 72 jam setelah perlakuan.

Hubungan antara konsentrasi insektisida dengan tingkat kematian larva serangga uji pada waktu pengamatan 24 dan 48 jam setelah perlakuan dilakukan dengan menggunakan analisis probit dengan program SAS.

#### **Penentuan Tingkat Resistensi**

Bila resistensi telah terdeteksi pada populasi lapangan *C. pavonana* tertentu, maka dilakukan pengujian toksisitas insektisida profenofos terhadap populasi lapang tersebut. Pengujian dilakukan pada 6 taraf konsentrasi insektisida ditambah kontrol, dengan tahap pekerjaan seperti pada penentuan tingkat kepekaan acuan. Dari analisis probit data tingkat kematian yang diperoleh dalam pengujian tersebut dapat ditentukan  $LC_{50}$  insektisida profenofos terhadap masing-masing populasi lapangan *C. pavonana* yang diuji.

Sebagai tolak ukur resistensi, digunakan nisbah resistensi (NR) yang dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$NR = \frac{LC_{50} \text{ populasi lapangan}}{LC_{50} \text{ populasi standar}}$$

Serangga yang berasal dari populasi lapangan dikatakan telah resisten jika memiliki  $NR \geq 4$  (Winteringham 1969). Indikasi resistensi telah terjadi jika  $NR > 1$ .

#### **Analisis Mekanisme Resistensi**

Untuk menentukan mekanisme biokimia resistensi *C. pavonana* terhadap insektisida profenofos maka dilakukan analisis hambatan aktivitas enzim asetilkolinesterase (AChE) serta analisis aktivitas enzim esterase dan glutathion transferase akibat perlakuan dengan insektisida uji.

Untuk standarisasi aktivitas enzim, pengukuran kadar protein larva *C. pavonana* instar tiga populasi standar dan generasi F2 populasi lapangan dilakukan dengan metode Lowry (Kresze 1988) dan pengukuran absorbansi larutan dilakukan dengan spektrofotometer pada  $\lambda = 500$  nm. Pereaksi yang digunakan adalah tembaga alkalin dan pereaksi Folin ciocalteau. Pereaksi tembaga alkalin terdiri dari campuran 1%  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ , 2% Natartrat, dan 2%  $Na_2CO_3$  dalam 0,1 N NaOH. Sebagai blangko digunakan aquades. Standar protein yang digunakan adalah BSA (*bovine serum albumin*).

Untuk keperluan analisis aktivitas enzim disiapkan homogenat larva *C. pavonana* instar tiga populasi standar dan generasi F2 populasi lapangan. Serangga dipilih yang seragam dan dibersihkan dari kotoran yang melekat.

Jumlah serangga yang diperlukan untuk setiap kali penggerusan adalah 10 ekor (10 mg larva/ml). Tubuh serangga digerus dengan menggunakan *homogenizer* gelas (kapasitas 1 ml) dengan menggunakan bufer fosfat 0,1 M pH 7,5. Penggerusan larva dilakukan pada suhu 4°C. Selanjutnya homogenat disentrifuge pada kecepatan 10.000 rpm selama 30 menit pada suhu 4°C. Supernatan hasil sentrifusi disaring dengan wol kaca. Supernatan hasil saringan siap digunakan sebagai sumber enzim.

#### **Uji Aktivitas Asetilkolinesterase (AChE)**

Analisis aktivitas asetilkolinesterase dilakukan menurut metode Ellman *et al.* (1961). Ke dalam tabung reaksi berisi 1,95 ml bufer kalium fosfat 0,1 M pH 7,5, ditambahkan 200 µl homogenat larva *C. pavonana*, 150 µl DTNB 0,0011 M dalam buffer fosfat dan 100 µl larutan insektisida uji dalam air dan pengemulsi alkilaryl poliglikol eter 400 mg/l 0,1%. Pada campuran kontrol suspensi insektisida diganti dengan larutan bufer. Setelah dikocok sempurna dan dibiarkan selama 10 menit, selanjutnya ke dalam setiap tabung reaksi ditambahkan 100 µl asetilkolin iodida 0,0105 M dalam buffer fosfat. Pengujian dilakukan pada lima taraf konsentrasi insektisida. Campuran blanko berisi komponen yang sama dengan campuran uji, kecuali homogenat sumber enzim diganti dengan bufer fosfat. Reaksi dibiarkan

selama 30 menit, kemudian serapan cahaya larutan pada masing-masing tabung diukur pada panjang gelombang 412 nm dengan menggunakan spektrofotometer.

Aktivitas asetilkolinesterase dinyatakan dalam molar substrat terhidrolisis per menit per mg protein. Laju hidrolisis substrat dihitung dengan menggunakan rumus Ellman *et al.* (1961):

$$\text{Laju hidrolisis substrat (mol/l/unit)} = \frac{\Delta \text{ absorban / menit}}{1,36 \times 10^4}$$

$\Delta$  absorban = serapan cahaya yang telah dikurangi dengan serapan cahaya blanko.

Persentase hambatan aktivitas asetilkolinesterase oleh insektisida tertentu dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ Hambatan} = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100\%$$

$A_0$  : aktivitas asetil kolinesterase (M substrat/menit/mg protein) kontrol (tanpa diberi insektisida)

$A_1$  : aktivitas asetil kolinesterase pada perlakuan insektisida

#### **Deteksi dan Uji Aktivitas Esterase**

Aktivitas  $\alpha$ -naftil asetat esterase (aktivitas esterase total) dan  $\alpha$ -naftil karboksilesterase ditentukan dengan metode Yu *et al.* (2003). Ke dalam tabung reaksi berisi 0,5 ml buffer kalium fosfat 0,1 M pH 7,5 dicampurkan 15 µl substrat  $\alpha$ -naftil asetat 0,02 M dalam metanol dan 50 ul

homogenat *C. pavonana*. Dalam blanko, homogenat diganti dengan buffer fosfat. Campuran diinkubasi pada 37°C selama 30 menit, kemudian reaksi dihentikan dengan menambahkan 2 ml fast blue RR (0,2 mg/ml H<sub>2</sub>O). Serapan cahaya diukur dengan spektrofotometer pada  $\lambda = 490$  nm.

Aktivitas esterase total dan karbo-silesterase dinyatakan sebagai serapan cahaya per menit per mg protein. Analisis aktivitas enzim tersebut dilakukan dalam tiga ulangan. Data aktivitas enzim tersebut diolah dengan sidik ragam dan perbandingan nilai tengah antar perlakuan dilakukan dengan uji Tukey.

#### ***Uji Aktivitas Glutation S-transferase***

Pengujian aktivitas glutathion S-transferase menggunakan substrat 1-kloro -2, 4- dinitro benzena (CDNB). Ke dalam tabung reaksi berisi 0,9 ml bufer fosfat 0,1 M pH 7,5, ditambahkan 20  $\mu$ l homogenat *C. pavonana*, 100  $\mu$ l glutathion 0,001 M, dan 10  $\mu$ l CDNB. Serapan cahaya diukur dengan spektrofotometer pada  $\lambda = 340$  nm pada suhu 30°C (Habig *et al.* 1974). Aktivitas glutathion S-transferase dinyatakan sebagai serapan cahaya per menit per mg protein. Analisis aktivitas glutathion S-transferase dilakukan dalam tiga ulangan. Data aktivitas glutathion S-transferase tersebut diolah dengan sidik ragam dan perbandingan nilai tengah antar perlakuan dilakukan dengan uji Tukey.

#### **Uji Kepekaan Serangga Resistensi terhadap Insektisida Botani**

Populasi *C. pavonana* yang resisten diuji kepekaannya terhadap insektisida botani *Barringtonia asiatica*. Ekstrak metanol biji *B. asiatica* dilaporkan cukup efektif terhadap larva *C. pavonana* dengan nilai LC<sub>50</sub> 0,6% (Dono & Sujana 2007).

Pengujian dilakukan dengan menggunakan metode residu pada daun. Ekstrak diuji pada tidak kurang dari lima taraf konsentrasi yang dapat mematikan larva pada kisaran 10–90% yang ditentukan berdasarkan uji pendahuluan.

Untuk memperoleh larutan dengan konsentrasi yang diinginkan, ekstrak dilarutkan dalam campuran aseton-metanol (3:1), fraksi air dilarutkan menggunakan campuran metanol dan air (1:1), sedangkan fraksi lainnya dilarutkan dengan aseton. Daun sawi berukuran 4 cm x 4 cm dicelupkan sampai rata pada campuran dengan konsentrasi yang telah ditentukan, kemudian dikering-udarkan. Setelah pelarut menguap, dua potong daun perlakuan diletakkan dalam cawan petri berdiameter 9 cm yang dialasi kertas hisap. Selanjutnya, ke dalam setiap cawan petri dimasukkan 10 ekor larva *C. pavonana* instar II awal. Larva kontrol diberi pakan daun yang hanya dicelupkan dalam pelarut sesuai dengan pelarut sediaan yang digunakan. Pemberian pakan daun perlakuan dilakukan selama 48 jam, selanjutnya larva

diberi pakan daun tanpa perlakuan hingga mencapai instar IV. Percobaan disusun dalam rancangan acak lengkap dengan 4 ulangan. Penentuan nilai  $LC_{50}$  (*Lethal Concentration*) dilakukan dengan analisis probit menggunakan program SPSS versi 11,5.

Sebagai tolak ukur kepekaan serangga terhadap insektisida botani, digunakan nisbah resistensi (NR) yang dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$NR = \frac{LC_{50} \text{ populasi lapangan}}{LC_{50} \text{ populasi standar}}$$

Jika  $NR < 1$  berarti serangga yang berasal dari populasi lapangan (resisten terhadap insektisida sintetis tertentu) peka terhadap insektisida botani.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Penentuan Tingkat Kepekaan Acuan

Berdasarkan uji tingkat kepekaan acuan *C. pavonana* standar terhadap insektisida sintetis profenofos, nilai  $LC_{99}$  *C. pavonana* standar pada metode pengujian efek kontak adalah

sebesar 0,01016% sedang pada metode pengujian efek residu pada daun pakan nilainya sebesar 0,00889% (Tabel 1). Nilai ini masih jauh di bawah dosis anjuran insektisida sintetis profenofos (Curacron 500 EC) yaitu 0,15% (1,5 ml/liter). Dengan demikian populasi *C. pavonana* yang ada di Laboratorium Fisiologi dan Toksikologi Serangga Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, IPB dapat digunakan sebagai populasi *C. pavonana* standar acuan untuk pengujian resistensi.

### Penentuan Tingkat Resistensi

Hasil pengujian toksisitas insektisida sintetis profenofos terhadap larva *C. pavonana* lapangan Kecamatan Pangalengan diperoleh bahwa ketiga populasi lapangan telah terindikasi resisten terhadap insektisida tersebut, dengan nilai NR yang lebih dari satu baik pada pengujian efek kontak maupun pengujian efek residu pada daun pakan (Tabel 2 dan Tabel 3). Namun nisbah resistensinya masih di

**Tabel 1.** Toksisitas insektisida sintetis profenofos terhadap *C. pavonana* standar laboratorium ( 48 jam setelah aplikasi)

Metode Pengujian	Persamaan regresi $Y = a + b X$	Nilai $LC_{50}$ (%) sk (95%)	Nilai $LC_{99}$ (%) sk (95%)
Efek kontak	$Y = 13,659 + 3,178 X$	0,00188 (0,00131-0,00256)	0,01016 (0,00588-0,03894)
Efek residu pada daun pakan	$Y = 14,606 + 3,549 X$	0,00196 (0,00146-0,00246)	0,00889 (0,00573-0,02436)

Keterangan : a = intersep, b = kemiringan garis regresi,  $X = \log$  konsentrasi (%),  
Y = mortalitas larva, sk = selang kepercayaan 95%



**Tabel 2.** Nisbah Resistensi *C. pavonana* terhadap insektisida sintetik profenofos dengan menggunakan metode pengujian efek kontak (48 JSA)

Populasi	Persamaan regresi $Y = a + b X$	Nilai LC <sub>50</sub> (%) sk (95%)	NR
Laboratorium (standar)	$Y = 13,659 + 3,178 X$	0,00188 (0,00131-0,00256)	
Desa Pengalengan	$Y = 15,008 + 4,681 X$	0,00728 (0,00539-0,00916)	3,87
Desa Margamukti	$Y = 10,425 + 2,560 X$	0,00760 (0,00642-0,00894)	4,04
Desa Wanasuka	$Y = 10,211 + 2,434 X$	0,00722 (0,00501-0,00996)	3,84

**Tabel 3.** Nisbah resistensi *C. pavonana* terhadap insektisida sintetik profenofos dengan menggunakan metode pengujian efek residu pada daun pakan (48 JSA)

Populasi	Persamaan regresi $Y = a + b X$	Nilai LC <sub>50</sub> (%) sk (95%)	NR
Laboratorium (standar)	$Y = 14,605 + 3,549 X$	0,00196 (0,00146-0,00246)	
Desa Pengalengan	$Y = 15,169 + 4,528 X$	0,00568 (0,00387-0,00706)	2,89
Desa Margamukti	$Y = 13,207 + 3,624 X$	0,00544 (0,00472-0,00607)	2,78
Desa Wanasuka	$Y = 10,561 + 2,276 X$	0,00360 (0,00287-0,00434)	1,72

bawah ketentuan yang dikemukakan oleh Winteringham (1969) ( $NR \geq 4$ ), kecuali untuk populasi dari desa Margamukti. Nilai NR tertinggi terdapat pada populasi Desa Margamukti sebesar 4,04 (metode pengujian efek kontak) sedangkan terendah terdapat pada populasi Desa Wanasuka sebesar 1,72 (metode pengujian efek residu pada daun pakan). Desa Margamukti merupakan desa yang memiliki areal pertanian hortikultura yang cukup luas, yang memungkinkan penyemprotan pestisida lebih sering dilakukan di desa tersebut. Berdasarkan wawancara yang dilakukan dengan petani pemilik lahan tempat pengambilan sampel di Desa Margamukti, interval penyemprotan yang dilakukan yaitu 3-4 hari, lebih

sering jika dibandingkan dengan dua desa lainnya. Hal tersebut mengakibatkan semakin cepat terjadinya seleksi terhadap serangga yang rentan sehingga pada populasi berikutnya akan didominasi oleh serangga yang tahan (resisten) terhadap insektisida. Menurut Suharti (2000), tinggi rendahnya nilai NR kemungkinan disebabkan oleh perilaku petani mengendalikan hama kubis dengan menggunakan insektisida sintetik, seperti frekuensi penyemprotan dan pola aplikasi insektisida yang dilakukan petani. Berkurangnya frekuensi penggunaan insektisida menyebabkan penurunan tekanan seleksi, sehingga akan mengurangi jumlah populasi serangga resisten. Sedangkan pola pergiliran pesti-

sida yang dilakukan diduga dapat menyebabkan rendahnya nilai NR pada populasi lapang.

Petani di Desa Pangalengan adalah petani yang memanfaatkan pekarangan rumah untuk menanam beberapa jenis sayuran. Sementara di sekitarnya terdapat rumah-rumah penduduk yang memungkinkan lebih sedikitnya perlakuan pestisida yang terjadi dibandingkan dengan Desa Margamukti. Interval penyemprotan yang dilakukan petani di desa tersebut 5-7 hari. Dengan tekanan seleksi yang lebih rendah menyebabkan perkembangan resistensi pada populasi tersebut terjadi lebih lambat.

Pertanaman kubis di Desa Wanayasa terletak jauh dari pemukiman penduduk dan berada di tengah-tengah perkebunan teh. Lokasinya yang terletak di tengah-tengah kebun teh memungkinkan tekanan seleksi terhadap *C. pavonana* lebih kecil karena pestisida yang digunakan di kebun teh berbeda sasaran dengan pestisida yang digunakan untuk mengendalikan hama kubis. Seleksi yang terjadi hanya berasal dari penyemprotan yang dilakukan petani kubis dalam mengendalikan *C. pavonana*. Interval penyemprotan yang dilakukan petani di desa tersebut adalah satu kali dalam 10 hari.

Dilihat dari nilai  $LC_{50}$  dua metode pengujian yang dilakukan (Tabel 2 dan 3),  $LC_{50}$  pada metode pengujian efek kontak (residu pada permukaan gelas) memiliki nilai yang lebih tinggi

dibandingkan dengan metode pengujian efek residu pada daun pakan. Hal ini mengindikasikan bahwa mekanisme resistensi yang lebih dominan terjadi pada mekanisme fisiologi misalnya perubahan ketebalan kutikula serangga. Kemungkinan telah terjadi penebalan lapisan kutikula larva *C. pavonana* yang menyebabkan menurunnya laju penetrasi insektisida melalui kulit atau integumen. Penebalan lapisan kutikula larva mengakibatkan semakin rendah kandungan lipidnya, sehingga dapat mengurangi jumlah insektisida yang terlarut dalam kutikula (Busvine 1971; Busvine 1980; Priyono 1988).

Menurut Worthing (1987) insektisida sintetik profenofos merupakan insektisida yang bersifat non polar, yang mudah larut dalam lipid pada kutikula. Larutnya insektisida sintetik profenofos dalam lipid pada kutikula akan mempercepat laju penetrasi racun ke dalam hemosol (rongga tubuh). Akibat dari penebalan kutikula dan penurunan kandungan lipid pada kutikula larva *C. pavonana*, maka laju penetrasi insektisida melalui kutikula menjadi lebih lambat sehingga toleransi larva terhadap insektisida menjadi lebih besar (Suharti 2000).

Insektisida profenofos merupakan insektisida yang memiliki cara masuk (*mode of entry*) sebagai racun perut dan racun kontak. Insektisida yang bekerja sebagai racun kontak adalah insektisida yang masuk ke dalam tubuh

serangga sasaran lewat kulit (kutikula) dan ditranslokasikan ke bagian tubuh serangga tempat insektisida aktif bekerja. Serangga hama akan mati jika bersinggungan langsung (kontak) dengan insektisida tersebut (Djojosumarto 2008).

Perubahan ketahanan larva terhadap insektisida racun kontak selama perkembangannya disebabkan oleh perubahan kutikula, seperti ketebalan kutikula, kekerasan kutikula dan penurunan kandungan lipid dalam kutikula. Larva serangga umumnya paling peka terhadap insektisida racun kontak sesaat setelah ganti kulit, dan ketahanannya meningkat dengan bertambahnya umur dan kemudian menurun kembali saat menjelang ganti kulit. Laju penetrasi insektisida pada suatu bagian kutikula tergantung dari struktur dan ketebalan kutikula pada bagian tersebut. Insektisida umumnya cenderung memasuki tubuh serangga melalui bagian yang dilapisi oleh kutikula yang tipis, seperti selaput antar ruas, selaput persendian pada pangkal embelan dan kemoreseptor pada tarsus (Priyono 1988).

Insektisida yang bekerja sebagai racun perut (*stomach poison*) adalah insektisida yang membunuh serangga sasaran jika termakan dan masuk ke dalam organ pencernaan. Selanjutnya insektisida tersebut diserap dinding saluran pencernaan makanan kemudian dibawa oleh cairan tubuh serangga ke tempat aktifnya insektisida tersebut.

Oleh karena itu, serangga harus memakan tanaman yang sudah disemprot dengan insektisida dalam jumlah yang cukup untuk membunuhnya (Djojosumarto 2008).

Menurut Busvine (1971), perubahan kepekaan larva terhadap insektisida racun perut, dapat disebabkan oleh peningkatan ketahanan dinding saluran pencernaan terhadap penetrasi insektisida, peningkatan kadar enzim dan aktivitas enzim-enzim yang dapat mendetoksifikasi insektisida. Mekanisme ketahanan tersebut termasuk ke dalam mekanisme resistensi dari biokimia serangga, seperti yang telah dilaporkan Yu *et al.* (2003) bahwa *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith.) (Lepidoptera: Noctuidae) yang resisten terhadap insektisida karbaril dan metil paration mengalami peningkatan aktifitas enzim detoksifikasi MFO (*microsomal mixed function oxidases*) (epoksidase, hidrosilase, sulfoksidase, N-demetilase) dan enzim hidrolase (esterase umum, karboksilesterase,  $\beta$ -glukosidase) serta enzim glutation S-transferase.

#### **Kepekaan Serangga Resisten terhadap Insektisida Botani *B. asiatica***

Hasil pengujian toksisitas insektisida botani ekstrak biji *B. asiatica* terhadap ketiga populasi lapangan *C. pavonana* yaitu populasi lapangan yang resisten masih memiliki kepekaan terhadap insektisida botani. Hal ini dibuktikan dengan nilai NR yang kurang dari satu (Tabel 4). Insektisida

botani ekstrak biji *B. asiatica* memiliki cara kerja yang beragam dalam mematikan serangga seperti memiliki senyawa yang bersifat toksik, antifidan, antioviposisi, berpengaruh terhadap fekunditas, penghambatan perkembangan larva dan berpengaruh terhadap efisiensi pemanfaatan makanan larva *C. pavonana* (Wirahadian 2007; Dono *et al* 2008). Berbeda dengan insektisida sintetik profenofos yang hanya memiliki satu cara kerja yaitu mengganggu sistem syaraf serangga dengan menghambat kerja enzim asetilkolinesterase (AChE) dan menyebabkan akumulasi asetilkolin (Untung 2001; Insecticide Resistance Action Committe 2007; Djojsumarto 2008).

Pada serangga resisten telah terjadi ketidakpekaan enzim AChE yang merupakan sasaran dari insektisida sintetik profenofos, sehingga serangga akan lebih tahan jika terpapar insektisida tersebut dan tidak terjadi kelum-

puhan atau kematian yang biasanya terjadi pada serangga umumnya.

Ketahanan serangga terhadap insektisida sintetik dapat dipatahkan dengan menggunakan insektisida botani, karena berbedanya mekanisme kerja dari dua insektisida tersebut. Sejauh ini *B. asiatica* mempunyai cara kerja yang beragam. Insektisida botani ekstrak biji *B. asiatica* diduga memiliki senyawa yang disebut saponin yang dapat menyebabkan kematian pada larva *C. pavonana* karena bekerja sebagai antifidan.

Akibat senyawa tersebut, aktivitas makan larva menjadi terhambat dan menyebabkan kurangnya asupan nutrisi yang dibutuhkan larva dalam proses pertumbuhan. Seperti senyawa antifidan yang lain, senyawa saponin dalam ekstrak biji *B. asiatica* diduga dapat mematikan larva secara tidak langsung dengan cara menyebabkan gangguan pada sistem pengiriman sinyal perangsang makan (*phagostimulant*) pada serangga.

**Tabel 4.** Nisbah resistensi *C. pavonana* terhadap insektisida botani ekstrak biji *B. asiatica* dengan menggunakan metode pengujian efek residu pada daun pakan (5 hari setelah aplikasi)

Populasi	Persamaan regresi	LC <sub>50</sub> (%) sk (95%)	NR
Laboratorium (standar)	$Y = 6,969 + 1,919 X$	0,0941 (0,06719-0,11962)	
Desa Pangalengan	$Y = 7,606 + 2,449 X$	0,0863 (0,04082-0,12721)	0,91
Desa Margamukti	$Y = 7,695 + 2,379 X$	0,0737 (0,05379-0,09211)	0,78
Desa Wanasuka	$Y = 8,121 + 2,988 X$	0,0902 (0,07263-0,10746)	0,96

Antifidan merupakan senyawa kimia yang bersifat menghambat aktivitas makan serangga, akan tetapi tidak bersifat membunuh, mengusir atau menjerat serangga secara langsung. Senyawa antifidan hanya menghambat nafsu makan (*feeding inhibition*) pada serangga. Senyawa antifidan bersifat *suppresant* (menekan aktivitas menggigit) dan *deterrent* (mencegah serangga terus makan) pada serangga (Mayanti, 1996 dalam Hermawan *et al.* 2005). Pengaruh senyawa bioaktif dapat terjadi baik secara langsung dengan cara membunuh serangga hama dalam waktu singkat (*directly acting insecticides*) maupun secara tidak langsung (*indirectly acting insecticides*), seperti antifidan yang merupakan kategori senyawa bioaktif yang bekerja secara tidak langsung (Dahelmi 1989 dalam Hermawan *et al.* 2005).

Selain bekerja sebagai antifidan ekstrak juga menyebabkan penghambatan pertumbuhan larva *C. pavonana*. Hal ini diduga diakibatkan oleh rendahnya aktivitas makan larva akibat pengaruh dari bahan aktif ekstrak biji *B. asiatica*. Aktivitas makan yang rendah pada larva mengakibatkan energi untuk perkembangan larva menjadi berkurang. Selain itu, ada kemungkinan disebabkan oleh terganggunya fungsi organ yang menghasilkan hormon pertumbuhan. Chapman (1998) menyatakan bahwa proses pergantian kulit dan metamorfosis serangga me-

libatkan beberapa hormon pertumbuhan, terganggunya produksi satu jenis hormon akibat terhambatnya respirasi sel pada organ penghasil hormon. yang berdampak terhadap fungsi hormon secara keseluruhan, sehingga serangga akan terhambat perkembangannya. Hal ini membuktikan bahwa ekstrak metanol biji *B. asiatica* yang diaplikasikan memiliki sifat sebagai penghambat perkembangan terhadap larva *C. pavonana*.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Dono *et al.* (2008) bahwa ekstrak biji *B. asiatica* juga dapat mempengaruhi perilaku *C. pavonana* setelah memasuki fase imago yang menunjukkan perlakuan ekstrak biji *B. asiatica* dapat memperlambat kemunculan imago dan mempersingkat lama hidup dari imago jantan dan betina. Ekstrak biji *B. asiatica* juga dapat menunda waktu pembentukan telur *C. pavonana*, mempengaruhi fertilitas (telur yang menetas) dan jumlah telur yang tersisa dalam abdomen imago *C. pavonana*. Terjadinya gangguan reproduksi imago betina *C. pavonana* tersebut kemungkinan disebabkan oleh senyawa aktif dari ekstrak biji *B. asiatica* berpengaruh terhadap proses pembentukan organ reproduksi serangga *C. pavonana*. Dilihat dari cara kerja ekstrak biji *B. asiatica* yang beragam dalam mematikan serangga dan berbeda dengan insektisida sintetik profenofos maka ekstrak biji *B.*

*asiatica* berpotensi sebagai alternatif pengelolaan resistensi *C. pavonana* terhadap insektisida sintetik profenofos.

Populasi *C. pavonana* dari Kecamatan Lembang tidak diuji lebih lanjut kepekaannya terhadap insektisida botani karena baru mengindikasikan resisten ( $NR \geq 1$ ), dengan asumsi bahwa jika populasi serangga tersebut diuji dengan bahan toksik lain yang memiliki bioaktivitas (*mode of action*) berbeda dengan profenofos (penghambat asetil kolinesterase) dapat dipastikan akan menunjukkan respons kepekaan yang tinggi.

### **Mekanisme Biokimia Resistensi**

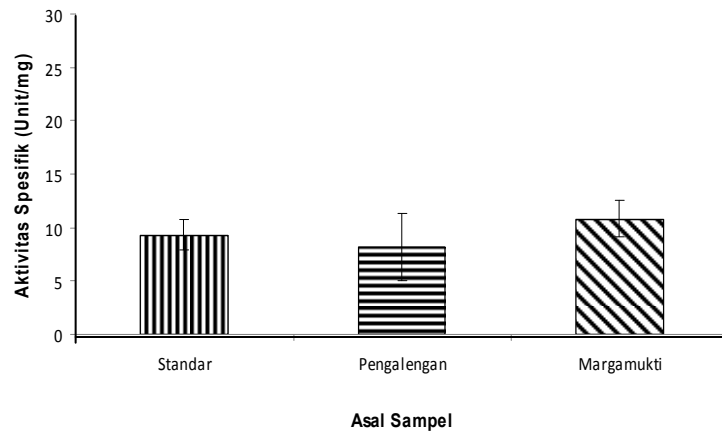
Data aktivitas spesifik enzim asetil kolin esterase menunjukkan bahwa sampel serangga yang berasal dari Desa Pengalengan dan Desa Margamukti menunjukkan aktivitas asetil kolin esterase yang tidak berbeda nyata dengan standar (Gambar 1).

Aktivitas glutathion S-transferase paling tinggi ditunjukkan oleh sampel dari Desa Margamukti. Sampel ini memiliki aktivitas spesifik yang lebih besar dibandingkan dengan standar laboratorium. Sampel dari Desa Pengalengan menunjukkan aktivitas yang lebih rendah dibandingkan dengan standar (Gambar 2).

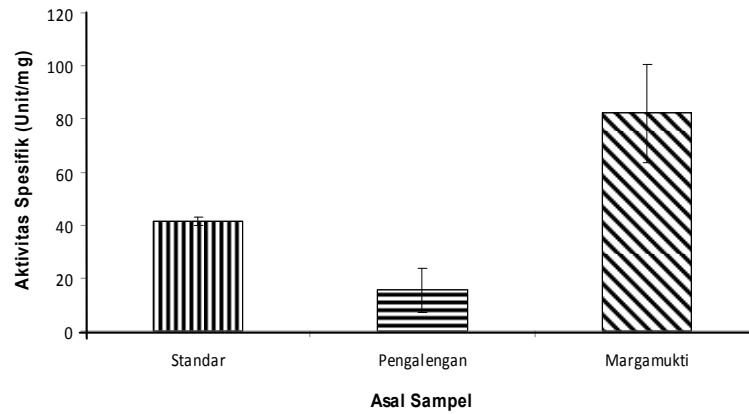
Sampel dari Desa Pengalengan menunjukkan aktivitas esterase yang lebih tinggi dibandingkan sampel standar, sedangkan sampel dari Desa Margamukti menunjukkan aktivitas esterase

yang lebih rendah dibandingkan dengan standar meskipun tidak berbeda nyata dengan standar (Gambar 3). Untuk pengujian aktivitas enzim, sampel terlebih dahulu dimurnikan dengan pengendapan protein menggunakan garam ammonium sulfat dan proses penghilangan garam (*desalting*) menggunakan kromatografi kolom filtrasi gel dengan matriks Sephadex G-25. Hal ini dilakukan karena homogenat berwarna hijau pekat yang kemungkinan besar disebabkan adanya klorofil pada saluran pencernaan larva dari asupan daun yang ikut terekstraksi ketika dilakukan proses homogenisasi. Adanya klorofil ini dikhawatirkan dapat mengganggu pengukuran menggunakan alat spektrofotometer. Oleh karena itu, dilakukan tahap pemisahan protein, termasuk di dalamnya enzim yang diinginkan dari komponen klorofil.

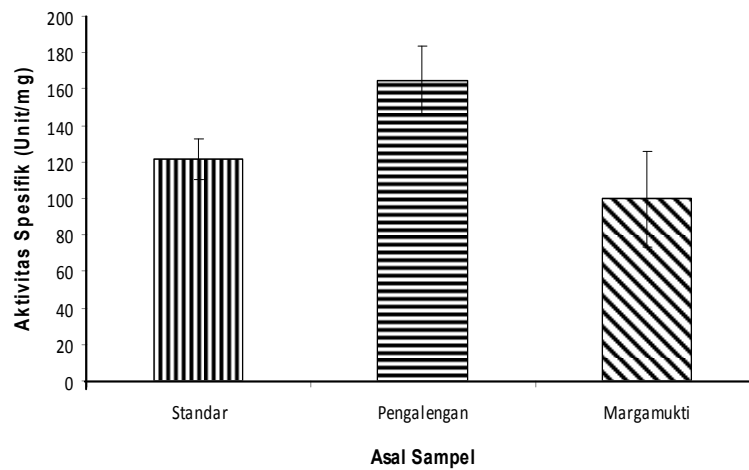
Resistensi terhadap insektisida dapat terjadi karena salah satu mekanisme berkurangnya penetrasi insektisida ke dalam serangga, insektisida dapat dimetabolisme lebih efisien dengan bantuan enzim-enzim oksidase (contoh: sitokrom P450 oksidase), glutathion S-transferase dan hidrolase (contoh: esterase), dan target insektisida mengalami perubahan (terjadinya mutasi pada target senyawa insektisida) (Fournier *et al.* 1992; Pasteur & Raymond 1996).



**Gambar 1.** Aktivitas spesifik asetilkolin esterase



**Gambar 2.** Aktivitas spesifik Glutathione S-Transferase



**Gambar 3.** Aktivitas spesifik esterase

Resistensi yang berkaitan dengan enzim dapat terjadi dengan terjadinya mutasi pada enzim yang dimaksud sehingga meningkatkan aktivitas katalitik enzim yang bersangkutan (Hemingway *et al.* 2002; Hemingway *et al.* 2004; Walsh *et al.* 2001) dan/atau meningkatnya jumlah enzim yang diekspresikan (Field *et al.* 1999; Fournier *et al.* 1992). Dengan meningkatnya aktivitas total enzim yang bersangkutan, maka konversi senyawa-senyawa toksik insektisida menjadi senyawa yang tidak bersifat toksik dapat berlangsung lebih efektif.

Hasil analisis tiga enzim (asetilkolin esterase, esterase dan glutathion S-transferase) pada penelitian ini menunjukkan bahwa aktivitas enzim tertinggi berbeda-beda antara satu sampel dengan sampel yang lain. Hal ini menunjukkan bahwa masing-masing sampel dapat mengembangkan sistem detoksifikasi yang berbeda. Hal ini ditunjukkan dengan, sampel dari Desa Margamukti menunjukkan aktivitas glutathion S-transferase yang tinggi dibandingkan standar namun aktivitas esterase pada sampel ini lebih rendah dibandingkan standar. Sampel dari Desa Pangalengan menunjukkan aktivitas esterase yang tinggi, namun aktivitas asetil kolin esterase pada sampel ini lebih rendah dibandingkan standar. Hal ini dapat terjadi karena sampel-sampel yang diuji terpapar terhadap senyawa insektisida yang berbeda se-

hingga sistem detoksifikasi yang dikembangkan juga berbeda-beda.

Tingginya aktivitas yang ditunjukkan, dapat terjadi karena adanya mutasi pada enzim yang bersangkutan sehingga mengakibatkan meningkatnya aktivitas, juga mungkin dapat terjadi karena bertambahnya ekspresi enzim tersebut, sehingga aktivitas enzim yang bersangkutan menjadi lebih tinggi dibandingkan standar. Tingginya aktivitas enzim-enzim tersebut akan mengakibatkan meningkatnya resistensi terhadap senyawa-senyawa insektisidal, karena kemampuan serangga meningkat untuk mengkonversi senyawa insektisidal yang toksik menjadi senyawa lain yang bersifat kurang toksik.

Untuk mengkonfirmasi apakah tingginya aktivitas enzim-enzim yang diuji terjadi karena adanya mutasi pada enzim atau meningkatnya ekspresi enzim tersebut, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut pada tingkat molekular dengan mempelajari struktur dan tingkat ekspresi enzim-enzim tersebut dibandingkan dengan standar laboratorium.

## KESIMPULAN

*C. pavonana* populasi Desa Pangalengan telah menunjukkan mekanisme resistensi terhadap insektisida sintetik profenofos. Dengan nilai nisbah resistensi  $>7$ . Nilai nisbah resistensi tertinggi sebesar 4,04 yang diperoleh melalui pengujian dengan metode



kontak terdapat pada populasi dari Desa Margamukti sedangkan pengujian dengan metode residu pada daun pakan menghasilkan nisbah resistensi tertinggi sebesar 2,89 pada populasi dari Desa Pengalengan.

Mekanisme biokimia resistensi *C. pavonana* menunjukkan adanya variasi aktivitas enzim detoksifikasi dari masing-masing populasi lapangan, karena kemungkinan adanya variasi paparan insektisida yang beragam pada daerah tersebut.

Berdasarkan nilai nisbah resistensi dari kedua metode perlakuan, perkembangan serangga resistensi lebih ditunjukkan melalui perubahan pada kutikula serangga dibandingkan melalui mekanisme kerja enzim detoksifikasi.

Ekstrak metanol biji *B. asiatica* dapat digunakan sebagai alternatif pengelolaan resistensi *C. pavonana* terhadap insektisida sintetik profenofos. Nilai nisbah resistensi <1, yang menunjukkan bahwa populasi lapangan yang resisten terhadap insektisida sintetik profenofos memiliki kepekaan terhadap insektisida botani ekstrak metanol biji *B. asiatica*.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dibiayai oleh dana DIPA Universitas Padjadjaran sesuai dengan surat keputusan Rektor Universitas Padjadjaran no.: 1159/ h6.1/ kep/ hk/ 2009, tanggal 14 April 2009, untuk itu disampaikan terima kasih.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Adiputra IMG. 1984. Status resistensi *Plutella xylostella* Linn. dan parasitoid *Diadegma eucero-phaga* Horstm. terhadap beberapa macam insektisida [tesis]. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.
- Busvine JR. 1971. *A Critical Review of The Techniques for Testing Insecticides*. London: Commonwealth Agricultural Bureaux.
- Busvine JR. 1980. *Recommended Methods for Measurement of Pest Resistance to Pesticide*. London: Food and Agriculture Organization of The United Nations.
- Chapman RF. 1998. *The Insects: Structure and Function*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Djojosumarto P. 2008. *Pestisida dan Aplikasinya*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Dono D, Sujana N. 2007. Aktivitas insektisidal ekstrak *Barringtonia asiatica* (L.) Kurz. (Lecythidaceae) terhadap larva *Crociodolomia pavonana* F. (Lepidoptera: Pyralidae) dan fitotoksitasnya pada tanaman sawi. *J. Agrikultura* 18(1):11-19.
- Dono D, Hidayat S, Nasahi C, Anggraini E. 2008. Pengaruh ekstrak biji *Barringtonia asiatica* L. (Kurz.) (Lecythidaceae) terhadap mortalitas larva dan fekunditas *Crociodolomia pavonana* F. (Lepidoptera: Pyralidae). *J Agrikultura* 18 (1): 11-19.
- Ellman GL, Courtney KD, Andres VJr, Featherstone RM. 1961. A new and rapid calorimetric determina-

- tion of acetylcholinesterase activity. *Biochem Pharmacol* 7: 88-95.
- Field I, Blackman RL, Tyler-smith C, Devonshire. 1999. Relationship between amount of esterase and gene copy number in insecticide-resistant *Myzus persicae* (Sulzer). *Biochemistry Journal* 339:737-742.
- Fournier D, Bride J-M, Hoffmann F, Kar F. 1992. Acetylcholinesterase: two types of modifications confer resistance to insecticide. *J. Biol. Chem.* 267: 14270-14274.
- Habig WH, Pabst MJ, Jacoby WB. 1974. Glutathione S-transferases. The first step enzymatic step in mercapturic acid formation. *J. Biol. Chem.* 249: 7130-7139.
- Hemingway J, Field I, Vontas J. 2002. An overview of insecticide resistance. *Science* 298, 96-97.
- Hemingway J, Hawkes NJ, Mccarroll I, Ranson H. 2004. The molecular basis of insecticide resistance in mosquitoes. *Insect Biochemistry and Molecular Biol* 34: 653-665.
- Hermawan, W; Melanie; H, Kasmara dan U, Supratman. 2005. Pengaruh ekstrak daun *Kalanchoe daigremontiana* terhadap aktivitas makan larva *Epilachna vigintioctopunctata* Fabricius. *Jurnal Bionatura* 7(2):101-111.
- Insecticide Resistance Action Committee. 2007. Insecticide Resistance : Causes and management. Available <http://www.fshs.org> [diakses 26 April 2008].
- Kresze GB. 1988. Methods for protein determination. In Bergmeyer HU, & Gral M (ed). *Methods of Protein Enzymatic Analysis*. 3<sup>rd</sup>, voll II. Weinheim: VCH. p 84-99.
- Matsumura F. 1985. *Toxicology of Insecticides*, 2<sup>nd</sup> ed. New York: Plenum Press.
- Pasteur N, Raymond M. 1996. Insecticide resistance genes in mosquitoes: their mutations, migration, and selection in field populations. *J Heredit* 87: 444-449.
- Prijono D, Hassan E. 1992. Life cycle and demography of *Crocidolomia binotalis* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) on broccoli in laboratory. *Indon J Trop Agric* 4: 18-24.
- Prijono D. 1988. *Pengujian Insektisida*. Bogor: Institut Pertanian Bogor, Fakultas Pertanian, Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan.
- Santoso KN AB. 1997. Deteksi resistensi profenofos terhadap *Crocidolomia binotalis* Zell. (Lepidoptera: Pyralidae) dan pengaruh konsentrasi subletal profenofos terhadap berat pupa, keberhasilan pupa menjadi imago, reproduksi, dan lama hidup imago [skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Sastrosiswojo S, Koestoni T, Sukwida A. 1989. Status resistensi *Plutella xylostella* L. strain Lembang terhadap beberapa jenis insektisida golongan organofosfor, piretroid sintetik, dan benzil urea. *Bul. Penel. Hort.* 18(1): 85-93.
- Suharti T. 2000. Status Resistensi *Crocidolomia binaotalis* Zell. (Lepidoptera: Pyralidae) terhadap Insektisida Profenofos (Curacron

- 500 EC) dari Tiga Daerah di Jawa Barat (Garut, Pengalengan, Lembang) [skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Uhan TS, Sulastrini I. 1993. Resistensi *Crocidolomia binotalis* Zell. Strain Lembang terhadap beberapa jenis insektisida. *J. Hort.* 3(2): 75-79.
- Untung K. 2001. *Pengantar Pengelolaan Hama Terpadu*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Walsh SB, Dolden TA, Moores GD, Kristensen M, Lewis T, Devonshire AL, Williamson MS. 2001. Identification and characterization of mutations in house-fly (*Musca domestica*) acetylcholinesterase involved in insecticide resistance. *Biochem Journal* 359: 175-181.
- Winteringham FPW. 1969. FAO international collaborative programme for the development of standardized test for resistance of agricultural pests to pesticides. *FAO Plant Prot. Bull.* 17:73-75.
- Wirahadian I. 2007. Pengaruh Ekstrak Biji Bitung (*Barringtonia asiatica* L. (KURZ)) terhadap Mortalitas dan Oviposisi *Crocidolomia pavonana* F. (Lepidoptera: Pyralidae) [skripsi]. Bandung: Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Padjadjaran.
- Worthing RC. 1987. *The Pesticide Manual*. A Word Compedium. 8th ed. The British Crop Protection Council.
- Yu SJ, Nguyen SN, Abo-Elghar GE. 2003. Biochemical characteristics of insecticide resistance in the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (JE Smith). *Pestic Biochem Physiol* 77:1-11.
-