

# KOMPATIBILITAS EKSTRAK *Piper retrofractum* Vahl. DAN *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. UNTUK PENGENDALIAN *Helopeltis antonii* Sign.

## *The Compatibility of Piper retrofractum Vahl. and Curcuma xanthorrhiza Roxb. Extracts for Controlling Helopeltis antonii Sign.*

Rohimatun<sup>1,2</sup>, Dadang<sup>1\*</sup>, I Wayan Winasa<sup>1</sup> dan Sri Yuliani<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Departemen Proteksi Tanaman, Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor,

Jalan Kamper, Kampus IPB Dramaga, Bogor 16680

<sup>2</sup>Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat Bogor

Jalan Tentara Pelajar No. 3, Bogor 16111

<sup>3</sup>Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian Bogor

Jalan Tentara Pelajar No. 12, Bogor 16111

### INFO ARTIKEL

#### Article history:

Diterima: 25 Agustus 2020

Direvisi: 11 September 2020

Disetujui: 27 November 2020

#### Kata kunci:

Cabe jawa; insektisida nabati;  
metabolit sekunder;  
sinergisme; temu lawak

#### Keywords:

Botanical insecticide;  
javanese long pepper; java  
turmeric; secondary  
metabolite; synergism

### ABSTRAK/ABSTRACT

Ekstrak tanaman sebagai bahan insektisida nabati dapat digunakan secara tunggal maupun campuran. Penggunaan campuran ekstrak memiliki kelebihan, antara lain dapat mengurangi ketergantungan pada satu jenis/spesies tumbuhan, efek sinergisme yang ditunjukkan dapat meningkatkan efektivitas formula dan memperlambat kemungkinan terjadinya resistensi serangga. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan perbandingan ekstrak *P. retrofractum* yang kompatibel dan sinergis dengan ekstrak *C. xanthorrhiza* yang efektif untuk mengendalikan nimfa instar ketiga *Helopeltis antonii*. Perbandingan ekstrak *P. retrofractum* dan *C. xanthorrhiza* pada uji kompatibilitas, yaitu 4:1, 2:1, 1:1, 1:2 dan 1:4 (w/w). Pengujian dirancang secara acak lengkap menggunakan metode kontak serangga. Nilai LC<sub>50</sub>, LC<sub>90</sub> dan LC<sub>95</sub> dihitung dengan menggunakan Program *PoloPlus Ver 1.0*. Sifat interaksi campuran ditentukan dari nilai Indeks Kombinasi (IK). Hasil penelitian menunjukkan ekstrak *P. retrofractum* kompatibel dan bersifat sinergis secara konsisten dengan ekstrak *C. xanthorrhiza* pada perbandingan 2:1 (w/w). Perbandingan tersebut merupakan kombinasi terbaik yang ditunjukkan oleh nilai LC<sub>50</sub>, LC<sub>90</sub> dan LC<sub>95</sub> yang paling rendah dan menunjukkan sifat sinergis kuat secara konsisten dibandingkan dengan perbandingan lain yang diuji. Komponen ekstrak etil asetat *P. retrofractum* yang diduga bersifat insektisida, di antaranya piperin, piperanin, piperidin, 3,4-Pyridinedimethanol, 6-methyl-; Piperidine,1-[5-(1,3-benzodioxol-5-yl)-1-oxo-2,4-pentadienyl]-,(Z,Z)-; dan (2E,4E,12E)-1-(Piperidin-1-yl)octadeca-2,4,12-trien-1-one. Senyawa metabolit sekunder pada ekstrak etanol *C. xanthorrhiza* yang diduga memiliki aktivitas insektisida, antara lain xanthorrhizol, Ar-curcumene, β-curcumene, curzerene, germacrone, 7-zingiberene, caryophyllene, dan β-bisabolol. Kombinasi kedua ekstrak tanaman ini berpotensi untuk dikembangkan lebih lanjut sebagai insektisida nabati untuk mengendalikan *H. antonii*.

*Plant extracts as a botanical insecticide can be used in either single or mixture forms. Mixed extracts have advantages: reducing dependence on one plant species, being the synergistic effect which can increase the effectiveness of formulas, and reducing the possibility of resistance emergence. This study aimed to obtain compatible and synergistic comparisons of P. retrofractum with C. xanthorrhiza extracts that effectively control the third instar nymph of Helopeltis antonii. The comparison of P. retrofractum and C. xanthorrhiza extracts were 4:1, 2:1, 1:1, 1:2, and 1:4 (w/w). The experiment was performed in a completely randomized design using the contact method. The LC<sub>50</sub>, LC<sub>90</sub>, and LC<sub>95</sub> values were calculated using the PoloPlus Ver 1.0 Program. The mixture interaction was determined from the*

\* Alamat Korespondensi : dadangtea@ipb.ac.id

---

Combination Index value. The results showed that *P. retrofractum* extract was compatible and synergistic with *C. xanthorrhiza* extract at a ratio of 2:1 (w/w). These were the best combination shown by the lowest  $LC_{50}$ ,  $LC_{90}$ , and  $LC_{95}$  values and showed consistently strong synergistic properties compared to other concentrations. The components of *P. retrofractum* may be responsible for the insecticidal properties are piperine; piperanine; piperidine; 3,4-Pyridinedimethanol,6-methyl; Piperidine,1-[5-(1,3-benzodioxol-5-yl)-1-oxo-2,4-pentadienyl]-,(Z,Z)-; and (2E,4E,12E)-1-(Piperidine-1-yl)octadeca-2,4,12-trien-1-one. The insecticidal activity of *C. xanthorrhiza* may associated with its content of xanthorrhizol, Ar-curcumene,  $\beta$ -curcumene, curzerene, germacrone, 7-zingiberene, caryophyllene, and  $\beta$ -bisabolol. A combination of these two plant extracts has the potential to be further developed as a botanical insecticide to control *H. antonii*.

---

## PENDAHULUAN

*Helopeltis antonii* Sign. (Hemiptera: Miridae) merupakan salah satu hama penting pada beberapa tanaman perkebunan, seperti kakao, teh, jambu mete, kayu manis, dan kina (Kalshoven 1981). Hama ini menyebabkan kerusakan hingga kematian jaringan tanaman yang diserang, yaitu pucuk, bunga, dan buah muda dengan gejala kerusakan adanya bercak nekrosis, layu, hingga kematian jaringan tanaman yang diserangnya (Indriati & Soesanthy 2014). Beberapa upaya pengendalian *H. antonii*, antara lain secara kultur teknis, hayati, varietas tahan, dan kimiawi (Indriati & Soesanthy 2014; Manjanaik & Chakravarthy 2013). Pengendalian *H. antonii* secara kimiawi dengan insektisida sintetik banyak dilakukan karena lebih cepat terlihat hasilnya. Namun, pengendalian tersebut menimbulkan dampak negatif, salah satunya resistensi. Populasi *H. antonii* asal perkebunan kakao di Bogor, Ciamis, dan Sukabumi diketahui telah resisten terhadap insektisida lamda sihalotrin (piretroid) dengan nisbah resistensi (NR) berturut-turut sebesar 4,2; 10,8; dan 1,2 (Utami 2017).

Tumbuhan memproduksi dua kelompok senyawa, yaitu metabolit primer dan sekunder. Metabolit sekunder pada awalnya dikelompokkan sebagai senyawa buangan (*waste product*) dari proses metabolisme primer yang terakumulasi dalam jaringan tanaman (Harborne 1990). Sejalan dengan perkembangan ilmu pengetahuan, metabolit sekunder diketahui memegang peran penting, salah satunya dalam pertahanan diri tumbuhan dari lingkungan dan serangan organisme lain (Bernays & Chapman 1994). Dalam hubungannya dengan serangga fitofag, metabolit sekunder dapat diklasifikasikan menjadi dua kelompok besar, yaitu senyawa-senyawa yang memengaruhi respon tingkah laku (*behavioral responses*) dan senyawa-senyawa yang memengaruhi respon fisiologis (*physiological responses*) (Dadang 2015). Sifat-sifat kimia

tumbuhan tersebut dapat digunakan sebagai insektisida nabati.

Cabe jawa atau *Piper retrofractum* Vahl. (Piperaceae) dan temu lawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) merupakan tanaman rempah dan obat yang diketahui mengandung metabolit sekunder yang dapat digunakan sebagai insektisida nabati (Indriati & Samsudin 2014; Soonwera *et al.* 2018). Senyawa metabolit sekunder cabe jawa, antara lain dapat mengendalikan larva *Spodoptera litura* Fabricius (Lepidoptera: Noctuidae) (Yooboon *et al.* 2019), nimfa *Nilaparvata lugens* Stål. (Hemiptera: Delphacidae) (Nuryanti *et al.* 2018), dan imago *H. antonii* Sign. (Hemiptera: Miridae) (Indriati *et al.* 2015), sementara itu senyawa metabolit sekunder temulawak dapat digunakan untuk mengendalikan *Crociodolomia pavonana* Fabricius (Lepidoptera: Pyralidae) (Balfas & Mardiningsih 2016).

Dalam aplikasinya, insektisida nabati dapat digunakan secara tunggal maupun campuran ekstrak. Penggunaan campuran ekstrak yang mengandung dua atau lebih ekstrak tanaman memiliki beberapa kelebihan, antara lain dapat mengurangi ketergantungan pada satu jenis/spesies tumbuhan, adanya efek sinergisme dapat meningkatkan efektivitas formula, dan dapat memperlambat kemungkinan terjadinya resistensi (Dadang 2015). Formula campuran ekstrak *P. retrofractum* dan *Annona squamosa* L. (Annonaceae) dan campuran ekstrak *Aglaia odorata* Lour. (Meliaceae) dan *A. squamosa* 0,1 % lebih efektif menekan populasi larva *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Yponomeutidae) dan *C. pavonana* di lapangan serta kerusakan daun kubis yang diakibatkan daripada insektisida sintetik deltametrin. Selain itu, aplikasi campuran kedua formula tersebut aman terhadap musuh alaminya, yaitu *Diadegma semiclausum* Hellen (Hymenoptera: Ichneumonidae) (parasitoid larva *P. xylostella*) dan *Eriborus argenteopilosus* (Cameron) (Hymenoptera: Ichneumonidae) (parasitoid larva *C. pavonana*) (Dadang *et al.*

2011).

Famili Piperaceae mengandung senyawa piperamida berbentuk gugus metilendioksifenil (MDF), yang merupakan ciri penting senyawa yang bersifat sinergis (Bernard *et al.* 1990; Scott *et al.* 2008). Campuran ekstrak etil asetat *P. retrofractum* dan ekstrak etanol *Tagetes erecta* L. (Asteraceae) dengan perbandingan 2:1 (w/w) menunjukkan sinergis kuat dan konsisten serta lebih efektif mengendalikan *N. lugens* daripada ekstrak tunggalnya (Nuryanti *et al.* 2018). Hasil penelitian Susanto & Prijono (2015) juga menunjukkan campuran ekstrak etil asetat buah *Piper aduncum* L. (Piperaceae) (sirih hutan) sinergis kuat ketika dicampur dengan ekstrak etil asetat *Tephrosia vogelii* Hook.f (Fabaceae) perbandingan 1:2 (w/w) dan lebih efektif mengendalikan penggerek batang padi kuning *Scirpophaga incertulas* (Walker) (Lepidoptera: Pyralidae). Campuran *P. retrofractum* dan *C. xanthorrhiza* belum pernah dilakukan sebelumnya dan diharapkan dapat meningkatkan efektivitasnya dalam mengendalikan nimfa *H. antonii*, serta dapat memperlambat laju resistensinya.

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan campuran ekstrak *P. retrofractum* yang kompatibel dan sinergis dengan ekstrak *C. xanthorrhiza*, serta efektif untuk mengendalikan nimfa instar ketiga *H. antonii*.

## BAHAN DAN METODE

### Waktu dan tempat

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Hama, Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (Balitro) Bogor untuk pengujian kompatibilitas campuran ekstrak. Analisis komposisi senyawa kimia menggunakan *Gas Chromatography Mass Spectrophotometry* (GC-MS) dilakukan di Laboratorium Kesehatan Daerah Provinsi DKI Jakarta. Penelitian dilaksanakan mulai bulan Juli sampai dengan September 2019.

### Perbanyakan massal *H. antonii*

Nimfa *H. antonii* (instar ketiga sampai kelima) dan imago dikoleksi dari perkebunan kakao di Kebun Percobaan Cibodas, Ciampea Bogor (6°32'46,40" LS dan 106°40'17,8" BT) milik Pusat Penelitian Bioteknologi dan Bioindustri Bogor. Koleksi nimfa dilakukan dengan mengusapkan secara halus/perlahan tubuh nimfa dengan kuas halus, sedangkan imago diambil secara langsung dengan memegang

antennanya, kemudian dimasukkan ke dalam stoples (diameter 16,00 cm dan tinggi 16,30 cm) yang telah berisi buah kakao muda hingga sedang, dan ditutup dengan kain kasa. Perbanyakan massal serangga dilakukan dengan metode Kilin & Atmadja (2000) di laboratorium pada suhu  $25 \pm 2$  °C dan kelembapan relatif 66-86 % menggunakan pakan alternatif buah mentimun (*Cucumis sativus* L. (Cucurbitaceae)}. Fase telur, nimfa, dan imago ditempatkan dalam toples yang berbeda. Imago diberi pakan buah mentimun sekaligus sebagai tempat peletakan telur. Setelah satu sampai dua hari, mentimun diambil dan dipindahkan ke toples lain yang ditutup dengan kain kasa untuk ditetaskan. Selanjutnya, imago diganti dengan buah mentimun lain yang segar. Nimfa instar pertama yang menetas dari telur dipindah ke toples lain yang berisi buah mentimun segar, setelah dua sampai empat hari untuk menghindari kematian instar pertama yang tinggi karena masih terlalu rentan. Demikian seterusnya dilakukan pergantian mentimun lama dengan yang baru setiap satu sampai dua hari, hingga serangga mencapai fase imago untuk dikopulasikan dan menghasilkan telur.

### Ekstraksi *P. retrofractum* dan *C. xanthorrhiza*

Buah cabe jawa masak fisiologis, berwarna kemerahan dengan tekstur keras, diperoleh dari kebun percobaan Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar (Balitri) Sukabumi (6°50'50,0" LS dan 106°45'10" BT) dan rimpang segar *C. xanthorrhiza* dari Pasar Anyar, Bogor. Buah *P. retrofractum* dipotong dengan pisau *stainless steel* sepanjang 3-5 mm dan rimpang *C. xanthorrhiza* diiris dengan ketebalan 7-8 mm (Hernani & Marwati 2012). Setelah itu, semua bahan dikeringanginkan dalam ruangan yang diatur suhunya ( $25 \pm 2$ °C) selama tujuh sampai 14 hari. Setelah kering angin, bahan tersebut kemudian dikeringkan dengan menggunakan oven ( $\leq 50$  °C). Setelah kering (kadar air 10%), semua bahan tanaman dihaluskan dengan penggiling (Retsch GmbH 5667 HAAN Type SK1 Nr. 37535 kapasitas 0,5 kg.jam<sup>-1</sup>) hingga diperoleh serbuk. Selanjutnya, serbuk diayak dengan pengayak kasa berjalanan 0,5 mm.

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi/perendaman disertai dengan pengadukan menggunakan *shaker* (pengocok). Masing-masing serbuk direndam dalam pelarut dengan perbandingan 1:10 (w/v). Serbuk buah *P. retrofractum* direndam dalam etil asetat (Indriati *et al.* 2016) dan serbuk rimpang *C. xanthorrhiza* dalam etanol (de Souza Tavares *et al.* 2016).

Masing-masing serbuk direndam selama 48 jam pada suhu ruang ( $26 \pm 2$  °C; kelembapan relatif 66-86 %). Semua hasil rendaman disaring menggunakan corong kaca beralaskan kertas saring. Hasil saringan diuapkan dengan *rotary evaporator* (Buchi Rotavapor R-300) (suhu  $\pm 50$  °C; tekanan 240 mbar). Ekstrak pekat yang diperoleh digunakan untuk pengujian.

**Uji kompatibilitas campuran ekstrak**

Pengujian kompatibilitas menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan lima perbandingan *P. retrofractum* dan *C. xanthorrhiza* serta kontrol (campuran etanol dan Tween-80 5:1; v/v). Perbandingan campuran ekstrak *P. retrofractum* dan *C. xanthorrhiza* pada penelitian ini 4:1, 2:1, 1:1, 1:2 dan 1:4 (w/w). Pengujian toksisitas menggunakan metode kontak serangga. Sebanyak sepuluh ekor nimfa instar ke-3 *H. antonii* dimasukkan ke dalam wadah plastik (diameter 5 cm dan tinggi 8 cm) kemudian ditutup dengan kain kasa dan disemprot dengan sediaan ekstrak sesuai dengan perlakuan sebanyak 1 ml menggunakan *hand sprayer* kapasitas 10 ml. Penutupan dengan kain dimaksudkan agar serangga uji tidak keluar saat disemprot. Serangga yang telah disemprot dibiarkan selama lima menit lalu dipindahkan ke dalam stoples (diameter 16,00 cm dan tinggi 16,30 cm) yang telah berisi buah mentimun segar tanpa perlakuan, kemudian ditutup kain kasa. Perlakuan diulang sebanyak lima kali.

Penduga parameter regresi probit ekstrak tunggal *P. retrofractum* dan *C. xanthorrhiza* terhadap nimfa instar ke-3 *H. antonii* pada 72 jam setelah perlakuan (JSP) dengan metode kontak yang telah dilakukan pada penelitian sebelumnya (Tabel 1) digunakan sebagai pembanding. Konsentrasi campuran yang digunakan pada tiap-tiap perbandingan berbeda berdasarkan persamaan probit ekstrak tunggal yang dihasilkan dan proporsi mortalitas harapan yang ditentukan (Tabel 2).

Proporsi mortalitas harapan campuran merupakan hasil perhitungan masing-masing proporsi mortalitas serangga uji akibat perlakuan *P. retrofractum* pada konsentrasi  $c_{Pr}$  dan perlakuan *C. xanthorrhiza* pada konsentrasi  $c_{Cx}$  yang dihitung berdasarkan regresi probit masing-masing ekstrak tunggal. Penggunaan mortalitas harapan membantu menentukan konsentrasi yang diharapkan dapat menyebabkan mortalitas serangga uji 15-95%.

Pengamatan mortalitas dilakukan pada 24, 48, dan 72 JSP. Data hubungan antara dosis dengan mortalitas dianalisis dengan program *Poloplus version 1.0 LeOra Software*. Nilai LC ekstrak tunggal hasil penelitian sebelumnya digunakan sebagai pembanding. Sifat aktivitas campuran dari jenis tumbuhan berbeda dianalisis berdasarkan model kerja bersama dengan menghitung indeks kombinasi (IK) pada taraf  $LC_{50}$ ,  $LC_{90}$ , dan  $LC_{95}$ . IK pada taraf  $LC_x$  dihitung dengan rumus Chou & Talalay (1984):

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

$LC_x^1$  dan  $LC_x^2$  merupakan  $LC_x$  pengujian ekstrak pertama dan kedua pada pengujian tunggal.  $LC_x^{1(cm)}$  dan  $LC_x^{2(cm)}$  merupakan  $LC_x$  pengujian campuran dikalikan proporsi konsentrasi dalam campuran tersebut yang menyebabkan mortalitas x (misal 50, 90, atau 95 %). Dari nilai yang diperoleh, sifat interaksi campuran ditentukan berdasarkan  $IK < 0,50$  yang menunjukkan campuran bersifat sinergistik kuat;  $IK 0,50-0,77$  menunjukkan campuran bersifat sinergistik lemah;  $IK > 0,77-1,43$  menunjukkan campuran bersifat aditif; dan  $IK > 1,43$  menunjukkan campuran bersifat antagonistik.

Tabel 1. Toksisitas ekstrak *P. retrofractum* dan *C. xanthorrhiza* terhadap nimfa instar ketiga *H. antonii* pada 72 JSP dengan metode kontak

Table 1. Toxicity of *P. retrofractum* and *C. xanthorrhiza* extracts against third instar nymphs of *H. antonii* at 72 HAT by contact method

Ekstrak	a <sup>a</sup> ± GB	b <sup>b</sup> ± GB <sup>c</sup>	LC <sub>50</sub> (SK 95 %) (%)	LC <sub>95</sub> (SK 95 %) (%)
<i>P. retrofractum</i>	8,31 ± 0.50	2,85 ± 0,55	0,07 (0,04 — 0,09)	0,26 (0,20 — 0,42)
<i>C. xanthorrhiza</i>	5,94 ± 0.14	2,63 ± 0,34	0,44 (0,16 — 0,78)	1,85 (0,96 — 28,15)

Keterangan/Note: <sup>a</sup>= intersep garis regresi probit/*intercept of probit regression line*, <sup>b</sup>=kemiringan regresi probit/*probit regression slope*, GB = galat baku/*standard error*, LC = lethal concentration, SK = selang kepercayaan/*confidence interval* (Rohimatun et al. 2020).

Tabel 2. Konsentrasi (%) (w/v) yang digunakan untuk pengujian toksisitas campuran ekstrak *P. retrofractum* dan *C. xanthorrhiza*Table 2. The concentration (%) (w/v) used for testing the toxicity of a mixture of *P. retrofractum* and *C. xanthorrhiza* extracts

Perbandingan campuran (w/w)	Mortalitas harapan (%)						
	15	30	45	60	75	90	99
4:1	0,04	0,06	0,07	0,09	0,12	0,15	0,17
2:1	0,04	0,06	0,08	0,09	0,11	0,13	0,15
1:1	0,04	0,06	0,08	0,09	0,11	0,13	0,14
1:2	0,04	0,06	0,08	0,10	0,12	0,14	0,15
1:4	0,04	0,06	0,08	0,10	0,13	0,16	0,18

### Analisis komponen kimia ekstrak

Komponen senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak *P. retrofractum* dan ekstrak *C. xanthorrhiza* dianalisis menggunakan *Gas Chromatography Mass Spectrometry* (GC-MS) (*Agilent Technologies 7890 Gas Chromatograph with Auto Sampler and 5975 Mass Selective Detector and Chemstation Data System*), pada kondisi: model inisiasi *electron impact*, energi elektron 70 eV, dengan gas pembawa helium, kolom HP Ultra 2, ukuran kolom kapiler 30 m (panjang) × 0,20 mm I.D × ketebalan film 0,11 µm, suhu kolom awal 80 °C kemudian dinaikkan dengan laju 3 °C menit<sup>-1</sup> hingga mencapai 150 °C dan ditahan selama 1 menit, kemudian suhu dinaikkan lagi dengan laju 20 °C menit<sup>-1</sup> hingga mencapai 280 °C dan ditahan selama 26 menit, suhu *port* injeksi 250 °C, suhu sumber ion 230 °C, suhu pemisah 280 °C, suhu *quadrupole* 140 °C, mode kolom *constant flow*, aliran kolom 1,2 ml.menit<sup>-1</sup>, volume injeksi 5 µl, dan rasio pemisah 8:1. GC-MS terhubung dengan monitor dan printer yang mempresentasikan kromatogram dan tabel urutan jenis senyawa murni dengan masing-masing waktu retensi dan persentase konsentrasi tiap senyawa.

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### Toksisitas campuran ekstrak *P. retrofractum* dan *C. xanthorrhiza* terhadap nimfa instar ketiga *H. antonii*

Aktivitas insektisida merupakan hasil dari proses yang kompleks antara toksikan/racun dan jaringan tubuh serangga. Secara sederhana, proses tersebut meliputi penetrasi, aktivasi (= interaksi lokasi target), dan detoksifikasi (Sun 1968). Jumlah racun yang mencapai lokasi target menentukan toksisitas suatu insektisida (Tak &

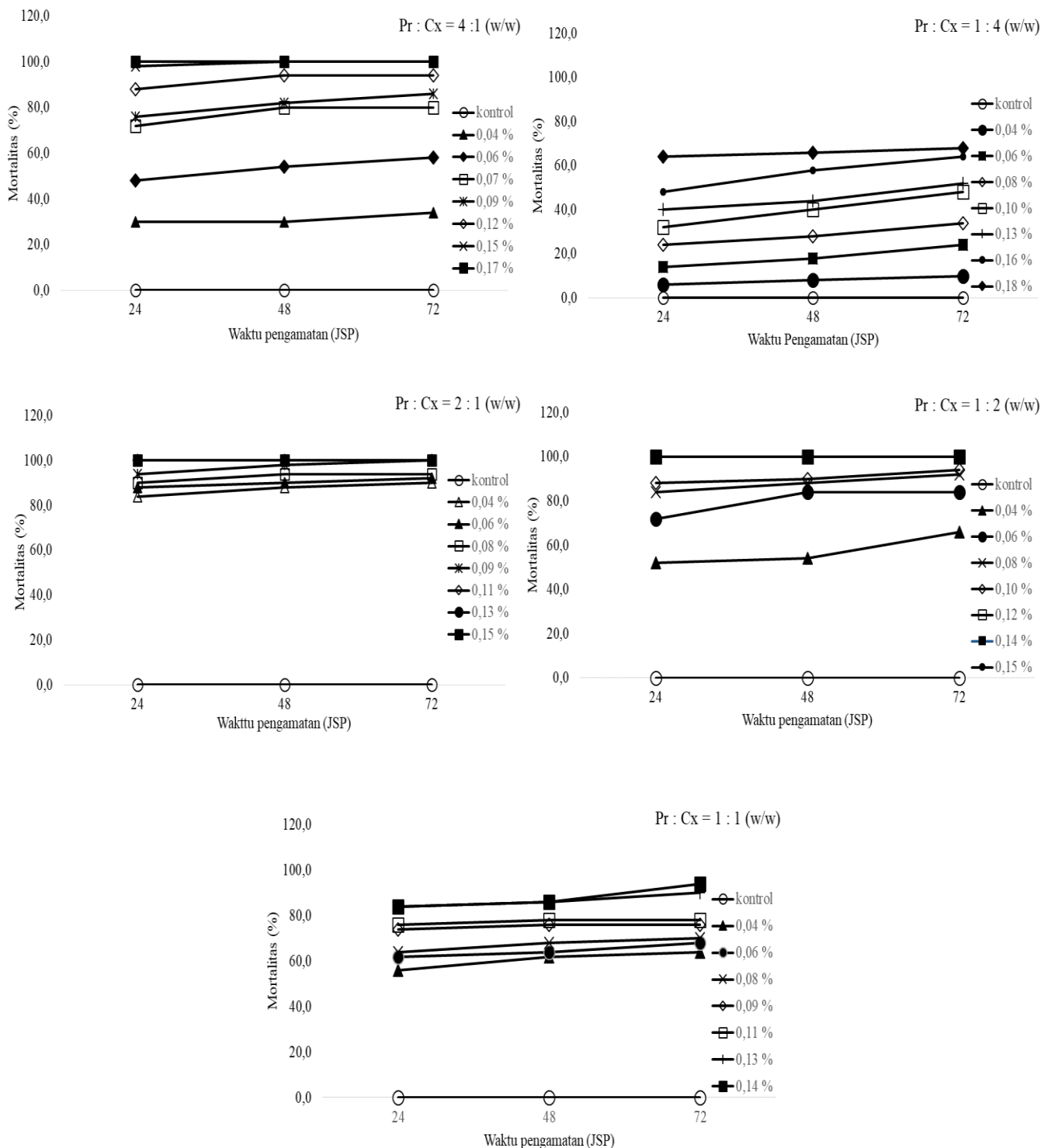
Isman 2015; Matsumura 1985).

Hasil pengujian campuran ekstrak *P. retrofractum* dan *C. xanthorrhiza* menunjukkan mortalitas nimfa *H. antonii* sudah terjadi sejak hari pertama pengamatan dan meningkat seiring bertambahnya waktu pemaparan untuk setiap konsentrasi kombinasi yang diuji. Perbandingan campuran ekstrak *P. retrofractum* dan *C. xanthorrhiza* 2:1 (w/w) paling toksik, diikuti oleh campuran ekstrak dengan perbandingan 1:2; 4:1; 1:1; dan 1:4 (w/w). Kematian nimfa instar ketiga *H. antonii* mencapai 100 % pada konsentrasi 0,11 % untuk perbandingan ekstrak *P. retrofractum* dan *C. xanthorrhiza* 1:2 (w/w) dan konsentrasi 0,12 % untuk perbandingan 2:1 (w/w) pada 24 JSP. Perbandingan ekstrak *P. retrofractum* dan *C. xanthorrhiza* 4:1 (w/w), konsentrasi 0,15 % mampu menyebabkan mortalitas (100%) nimfa instar ketiga *H. antonii* pada 48 JSP. Untuk mencapai mortalitas nimfa instar ketiga *H. antonii* sebesar 100 % pada 24 JSP, konsentrasi campuran ekstrak *P. retrofractum* dan *C. xanthorrhiza* perbandingan 4:1 (w/w) harus dinaikkan sebesar 0,02 %. Sementara itu, pada perbandingan ekstrak *P. retrofractum* dan *C. xanthorrhiza* 1:1 (w/w), konsentrasi tertinggi yang diuji, yaitu 0,14 %, mengakibatkan mortalitas serangga uji sebesar 94 % pada 72 JSP. Pada perbandingan ekstrak *P. retrofractum* dan *C. xanthorrhiza* 1:4 (w/w) konsentrasi tertinggi yang diuji, yaitu 0,18 %, hanya mampu menyebabkan mortalitas nimfa instar ketiga *H. antonii* sebesar 68 % pada 72 JSP (Gambar 1).

Nilai LC<sub>50</sub>, LC<sub>90</sub>, dan LC<sub>95</sub> campuran ekstrak *P. retrofractum* dan *C. xanthorrhiza* 2:1 (w/w) pada 72 JSP lebih rendah dibandingkan dengan perbandingan lainnya. Pada 72 JSP masing-masing nilai LC<sub>50</sub>, LC<sub>90</sub>, dan LC<sub>95</sub> perlakuan *P. retrofractum* dan *C. xanthorrhiza* 2:1 (w/w) berturut-turut 0,02 %, 0,05 %, dan 0,06 %.

Sementara itu, nilai  $LC_{50}$ ,  $LC_{90}$ , dan  $LC_{95}$  pada 72 JSP yang paling tinggi ditunjukkan oleh perbandingan *P. retrofractum* dan *C. xanthorrhiza* 1:4 (w/w), berturut-turut sebesar 0,12 %, 0,38 %, dan 0,54 %. Sementara itu, berat ekstrak *P.*

*retrofractum* optimal yang mampu menyebabkan mortalitas tertinggi adalah dua kali berat ekstrak *C. xanthorrhiza* (Tabel 3).



Gambar 1. Perkembangan tingkat mortalitas nimfa instar ketiga *H. antonii* dengan perlakuan campuran ekstrak *P. retrofractum* (Pr) dan *C. xanthorrhiza* (Cx) pada berbagai perbandingan (w/w)

Figure 1. Mortality rate of *H. antonii* third instar nymphs treated with *P. retrofractum* (Pr) and *C. xanthorrhiza* (Cx) extracts mixtures in various ratios (w/w)

Tabel 3. Toksisitas campuran ekstrak etil asetat *P. retrofractum* (Pr) dan ekstrak etanol *C. xanthorrhiza* (Cx) terhadap mortalitas nimfa instar ketiga *H. antonii*  
 Table 3. Toxicity of *P. retrofractum* (Pr) ethyl acetate and *C. xanthorrhiza* (Cx) ethanol extract mixtures to the mortality of third instar nymphs of *H. Antonii*

Perbandingan campuran Pr : Cx (w/w)	Waktu pengamatan (JSP)	a + GB	b + GB	LC <sub>50</sub> (SK 95 %) (%)	LC <sub>90</sub> (SK 95 %) (%)	LC <sub>95</sub> (SK 95 %) (%)
4:1	24	9,93 ± 0,48	3,89 ± 0,42	0,05 (0,05 - 0,06)	0,12 (0,10 - 0,14)	0,14 (0,12 - 0,18)
	48	10,71 ± 0,57	4,40 ± 0,48	0,05 (0,05 - 0,06)	0,10 (0,09 - 0,11)	0,12 (0,11 - 0,14)
	72	10,66 ± 0,58	4,29 ± 0,48	0,05 (0,04 - 0,05)	0,10 (0,09 - 0,11)	0,12 (0,10 - 0,14)
2:1	24	9,74 ± 0,80	2,82 ± 0,67	0,02 (0,00 - 0,03)	0,06 (0,04 - 0,08)	0,08 (0,06 - 0,13)
	48	10,22 ± 0,99	3,04 ± 0,80	0,02 (0,01 - 0,03)	0,05 (0,04 - 0,06)	0,07 (0,05 - 0,09)
	72	10,48 ± 1,12	3,15 ± 0,91	0,02 (0,00 - 0,03)	0,05 (0,03 - 0,06)	0,06 (0,05 - 0,08)
1:1	24	7,39 ± 0,46	1,70 ± 0,42	0,04 (0,02 - 0,05)	0,22 (0,16 - 0,57)	0,36 (0,22 - 1,46)
	48	7,36 ± 0,46	1,59 ± 0,42	0,03 (0,01 - 0,05)	0,21 (0,15 - 0,60)	0,35 (0,21 - 1,79)
	72	7,34 ± 0,56	1,52 ± 0,50	0,03 (0,01 - 0,04)	0,20 (0,13 - 1,13)	0,35 (0,19 - 5,01)
1:2	24	10,94 ± 0,68	4,35 ± 0,57	0,04 (0,03 - 0,05)	0,09 (0,07 - 0,11)	0,10 (0,09 - 0,14)
	48	11,10 ± 0,75	4,34 ± 0,62	0,04 (0,03 - 0,05)	0,08 (0,07 - 0,10)	0,09 (0,08 - 0,13)
	72	11,02 ± 0,82	4,10 ± 0,67	0,03 (0,03 - 0,04)	0,07 (0,06 - 0,08)	0,09 (0,08 - 0,11)
1:4	24	7,12 ± 0,36	2,59 ± 0,37	0,15 (0,13 - 0,19)	0,48 (0,34 - 0,86)	0,66 (0,44 - 1,35)
	48	7,23 ± 0,35	2,55 ± 0,35	0,13 (0,12 - 0,16)	0,42 (0,31 - 0,73)	0,59 (0,40 - 1,14)
	72	7,31 ± 0,34	2,46 ± 0,34	0,12 (0,10 - 0,14)	0,38 (0,28 - 0,64)	0,54 (0,37 - 1,02)

Keterangan/Note: <sup>a</sup>= intersep garis regresi probit/intercept of probit regression line, <sup>b</sup>=kemiringan regresi probit/probit regression slope, GB = galat baku/standard error, LC = lethal concentration, SK = selang kepercayaan/confidence interval

Senyawa metabolit sekunder yang terdeteksi pada ekstrak etil asetat buah *P. retrofractum* disajikan pada Tabel 4 dan ekstrak etanol rimpang *C. xanthorrhiza*, disajikan pada Tabel 5. Ciri khas tanaman Piperaceae yaitu terdapat senyawa metabolit sekunder alkaloid piperamida, yaitu piperin, piperlonguminin, dihidropiperlonguminin, dihidropiperin, piperanine, dan pipersida (Scott *et al.* 2005; Miyakado *et al.* 1979). Efikasi ekstrak *Piperaceae* sebagai insektisida nabati berkaitan dengan kandungan piperamidanya (Scott *et al.*

2005).

Komponen kimia terbanyak *P. retrofractum* hasil GC-MS dalam penelitian ini adalah piperin sebanyak 74,25 % (Tabel 4). Piperin merupakan turunan kompleks MDF golongan indol alkaloid yang berperan sebagai neurotoksin/racun saraf dengan efek *knockdown* yang cepat (Miyakado *et al.* 1989).

Piperin 1 % yang diisolasi dari biji lada hitam (*Piper nigrum* L.) (Piperaceae) menyebabkan mortalitas telur yang baru diletakkan



imago *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) (88,80 %) dan *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae) (98,90 %) (de Souza Tavares *et al.* 2011). Piperine dan piperanine dari ekstrak heksan *P. retrofractum* juga bersifat toksik terhadap larva instar ketiga *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae) dengan  $LC_{50}$  masing-masing sebesar 0,27 ppm dan 2,97 ppm pada 24 JSP (Wiwattanawanichakun *et al.* 2018).

Selain golongan piperamida, beberapa senyawa yang menunjukkan sifat insektisidal antara lain, caryophyllene dan germacrene D. Caryophyllene oksida dan  $\beta$ -caryophyllene yang diisolasi dari *Salvia ballotiflora* Benth. (Lamiaceae) menunjukkan aktivitas insektisidal terhadap *S. frugiperda* (Cárdenas-Ortega *et al.* 2015). Selain itu,  $\beta$ -caryophyllene juga menunjukkan aktivitas repellent terhadap imago *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae) dan *Anopheles minimus* Theobald (Diptera: Culicidae) (Nararak *et al.* 2019). Germacrene D yang diisolasi dari *Chloroxylon swietenia* DC. (Rutaceae) menunjukkan toksisitas terbaik, diantara sesquiterpen lain yang diisolasi, terhadap imago *Anopheles gambiae* Giles (Diptera: Culicidae), *C. quinquefasciatus*, dan *A. aegypti*, dengan nilai  $LD_{50}$  sebesar  $1,8-2,8 \times 10^{-3}$  mg.cm<sup>-3</sup> (Kiran dan Devi 2007). Campuran minyak serai wangi, yang mengandung caryophyllene dan germacrene D, dan minyak cengkeh, yang mengandung  $\beta$ -caryophyllene, mampu menyebabkan mortalitas nimfa *H. antonii* dan mampu menghambat peneluran imago (Mardiningsih & Balfas 2017).

Beberapa senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada ekstrak *C. xanthorrhiza* memiliki aktivitas insektisidal terhadap serangga. Xanthorrhizol merupakan salah satu metabolit sekunder golongan sesquiterpen yang paling toksik terhadap larva *S. litura* ( $LD_{50}$  6,92-8,13  $\mu$ mol.kg<sup>-1</sup> berat larva) dengan metode kontak (Pandji *et al.* 1993). Ar-curcumen dan  $\beta$ -bisabolol, yang diisolasi dari minyak atsiri *Hedychium larsenii* M. Dan & Sathish (Zingiberaceae), juga menunjukkan toksisitas yang tinggi terhadap larva instar ketiga *Anopheles stephensi* Liston (Diptera: Culicidae) ( $LC_{50}$  = 10,45  $\mu$ g.ml<sup>-1</sup> dan 14,68  $\mu$ g.ml<sup>-1</sup>), *A. aegypti* ( $LC_{50}$  = 11,24  $\mu$ g.ml<sup>-1</sup> dan 15,83  $\mu$ g.ml<sup>-1</sup>), dan *C. quinquefasciatus* ( $LC_{50}$  = 12,24  $\mu$ g.ml<sup>-1</sup> dan 17,27  $\mu$ g.ml<sup>-1</sup>). Disamping bersifat toksik, kedua senyawa tersebut juga mampu menghambat peneluran ketiga imago serangga tersebut (AlShebly *et al.* 2017). Curzerene, komponen dominan minyak atsiri daun *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae), menunjukkan aktivitas insektisidal terhadap larva *Anopheles subpictus* Grassi

(Diptera: Culicidae), *Anopheles albopictus* Skuse (Diptera: Culicidae), dan *Culex tritaeniorhynchus* Giles (Diptera: Culicidae) masing-masing dengan nilai  $LC_{50}$  4,14  $\mu$ g.ml<sup>-1</sup>, 4,57  $\mu$ g.ml<sup>-1</sup> dan 5,01  $\mu$ g.ml<sup>-1</sup> dan aman terhadap predator aquatik (Govindarajan *et al.* 2018). Germacrene, yang diisolasi dari minyak atsiri *Geranium macrorrhizum* L. (Geraniaceae) memiliki aktivitas antifeedant yang kuat terhadap *Spodoptera littoralis* Boisd (Lepidoptera: Noctuidae), *Myzus persicae* Sulz. (Hemiptera: Aphididae) dan *Rhopalosiphium padi* L. (Hemiptera: Aphididae) berturut-turut dengan persentase penghambatan makan sebesar  $90,50 \pm 9,80$  %,  $73,90 \pm 7,00$  %, dan  $69,60 \pm 6,50$  % (Navarro-Rocha *et al.* 2018).

### Sifat interaksi *P. retrofractum* dan *C. xanthorrhiza* terhadap nimfa instar ketiga *H. antonii*

Sifat interaksi pencampuran dua atau lebih ekstrak tanaman yang berbeda berupa sinergis, antagonis, atau aditif. Cara kerja sinergistik dicirikan dengan toksisitas campuran yang lebih besar daripada komponen tunggalnya. Dosis atau konsentrasi campuran yang digunakan lebih rendah daripada komponen tunggalnya. Sebaliknya, cara kerja antagonistik dicirikan dengan toksisitas campuran yang lebih rendah daripada komponen tunggalnya dan dosis atau konsentrasi campuran yang digunakan lebih tinggi daripada komponen tunggalnya (Dadang & Priyono 2008).

Pengujian toksisitas campuran ekstrak *P. retrofractum* dan *C. xanthorrhiza* terhadap nimfa instar ketiga *H. antonii* pada perbandingan 2:1 (w/w) dan 1:2 (w/w) pada 24, 48, dan 72 JSP menunjukkan sifat interaksi sinergisme kuat dan konsisten. Hal ini menunjukkan perlakuan *P. retrofractum* dan *C. xanthorrhiza* 2:1 (w/w) merupakan perbandingan terbaik, diikuti oleh perbandingan 1:2 (w/w). Sifat interaksi yang ditunjukkan oleh *P. retrofractum*:*C. xanthorrhiza* 4:1 (w/w) menunjukkan sinergisme lemah kemudian kuat seiring dengan penambahan waktu pemaparan, sedangkan *P. retrofractum*:*C. xanthorrhiza* 1:1 (w/w) menunjukkan kebalikannya, yaitu sinergisme kuat kemudian melemah seiring dengan penambahan waktu pemaparan. Sementara itu, pada perbandingan *P. retrofractum*:*C. xanthorrhiza* 1:4 (w/w) pada 24 JSP menunjukkan sifat aditif karena toksisitas campuran sama dengan komponen tunggalnya, namun dengan penambahan waktu pemaparan sifat sinergisme akan berubah menjadi kuat kemudian lemah (Tabel 6).



Tabel 4. Kandungan senyawa kimia ekstrak etil asetat *P. retrofractum* berdasarkan analisis GC-MS  
 Table 4. Chemical constituents of *P. retrofractum ethyl acetat extract based on GC-MS analysis*

No.	Nama senyawa	Nama lain	Waktu retensi (menit ke-)	Konsentrasi (%)
1.	Caryophyllene		15,76	1,12
2.	Germacrene D		18,03	1,07
	(1R,2S,6S,7S,8S)-8-Isopropyl-1-methyl-3-methylenetricyclo[4.4.0.0 <sup>2,7</sup> ]decane-rel-	copaene; β-copaene		
3.	Benzene, 1-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-4-methyl-	(-)-Ar-curcumene; Ar-Curcumene; α-Curcumene;	18,19	0,74
4.	(R)-1-Methyl-4-(6-methylhept-5-en-2-yl)cyclohexa-1,4-diene	β -Curcumene	19,21	0,51
	2-epi-.alpha.-Funebrene			
5.	8-Heptadecene		25,10	0,38
	1-Pentadecene			
6.	8-Heptadecene		25,31	0,93
	3-Heptadecene, (Z)-			
7.	Heptadecane		25,62	0,55
8.	Z-5-Nonadecene		28,07	0,23
	9-Nonadecene			
	Pentacos-1-ene			
9.	(2E,4E)-1-(Piperidin-1-yl)deca-2,4-dien-1-one	Achilleamide; Iyeremide B	30,15	0,98
	(2E,4E)-Methyl 5-(benzo[d][1,3]dioxol-5-yl)penta-2,4-dienoate	Methyl piperate; Piperic acid methyl ester; Methyl piperate		
	Butyramide, 4-bromo-N-isobutyl-			
10.	Phthalic acid, di(2-propylpentyl) ester		31,82	0,18
	Bis(2-ethylhexyl) phthalate			
11.	(E)-5-(Benzo[d][1,3]dioxol-5-yl)-1-(piperidin-1-yl)pent-2-en-1-one	Piperanine	32,60	5,86
	Benzamide, N-(2,5-dimethoxyphenil)-2-methoxy-			
12.	Benzamide, 2-methoxy-N-(2,4-dimethoxyphenethyl)		33,03	0,91
	3-Methoxybenzoic acid, 1-(cyclopentyl)ethyl ester			
	3,4-Pyridinedimethanol, 6-methyl-			
	2-Methoxybenzoic acid, cyclohexyl ester			
13.	Bicyclo[4.1.0]heptan-3-one,4,7,7-trimetyl-, [1R-(1.alpha.,4.alpha.,6.alpha.)]-	4-Caranone; Caranone	33,13	2,58
	1,3,3-Trimethylcyclohex-1-ene-4-carboxaldehyde, (+,-)-	2,2,4-Trimethyl-3-cyclohexene-1-carboxaldehyde		
	Octahydroquinolizin-1-ylmethyl N-phenylcarbamate			
14.	Piperine		33,42	3,07
	Piperidine, 1-[5-(1,3-benzodioxol-5-yl)-1-oxo-2,4-pentadienyl]-, (Z,Z)-	Chavicine		
15.	Piperine		33,61	0,48
	Piperidine, 1-[5-(1,3-benzodioxol-5-yl)-1-oxo-2,4-pentadienyl]-, (Z,Z)-	Chavicine		
16.	Piperine		34,66	41,52
17.	Piperidine, 1-[5-(1,3-benzodioxol-5-yl)-1-oxo-2,4-pentadienyl]-, (Z,Z)-	Chavicine	34,81	17,65
	Piperine			
18.	Piperine		34,95	5,37
	Piperidine, 1-[5-(1,3-benzodioxol-5-yl)-1-oxo-2,4-pentadienyl]-, (Z,Z)-	Chavicine		
19.	(2E, 4E, 14E)-1-(Piperidine-1-yl)octadeca-2,4,12-trien-1-one		35,11	6,64
	Piperine			
	Piperidine, 1-[5-(1,3-benzodioxol-5-yl)-1-oxo-2,4-pentadienyl]-, (Z,Z)-	Chavicine		
20.	(2E, 4E, 14E)-1-(Piperidine-1-yl)octadeca-2,4,12-trien-1-one		37,74	2,78
	Dibenzothiophene, 1,2,3,4,6,7,8,9-octahydro-			
21.	Phenol,3-methoxy-2,5,6-trimethyl-		38,02	6,45
	3,4-Dihydro-6-fluorocoumarin			
	L-Proline, 1-(trifluoroacetyl)-, 1-methylpropyl ester,(R)-			

Tabel 5. Kandungan senyawa kimia ekstrak etanol *C. xanthorrhiza* berdasarkan analisis GC-MS  
Table 5. Chemical constituents of *C. xanthorrhiza* ethanol extract based on GC-MS analysis

No.	Nama senyawa	Nama umum/nama lain	Waktu retensi (menit ke-)	Konsentrasi (%)
1.	(+)-2-Bornanone Camphor		7,17	0,57
2.	(1S,5S)-2-Methyl-5-((R)-6-methylhept-5-en-2-yl)bicyclo[3.1.0]hex-2-ene 1,3-Cyclohexadiene, 5-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-2-methyl-, [S-(R*,S*)]-	7-epi-sesquithujene; Episesquithujene (-)-Zingiberene; Zingiberene; $\alpha$ -Zingiberene	15,30	0,74
3.	Caryophyllene Bicyclo[5.2.0]nonane, 2-methylene-4,8,8-trimethyl-4-vinyl-		15,77	0,48
4.	(E)-.beta.-Farnesene cis-.beta.-Farnesene		17,22	1,29
5.	1-Methyl-4-(6-methylhept-5-en-2-yl)cyclohexa-1,3-diene Naphthalene, 1,2,3,4,4a,7-hexahydro-1,6-dimethyl-4-(1-methylethyl)-	$\gamma$ -Curcumene; Curcumene Naphtalene; Cadinadiene-1,4	18,05	1,26
6.	Benzene, 1-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-4-methyl-	(-)-Ar-curcumene; Ar-Curcumene; $\alpha$ -Curcumene	18,32	15,37
7.	Naphthalene, decahydro-4a-methyl-1-methylene-7-(1-methylethylidene)-, (4aR-trans)- 4,7-Methanoazulene, 1,2,3,4,5,6,7,8-octahydro-1,4,9,9-tetramethyl-, [1S-(1.alpha.,4.alpha.,7.alpha.)]- Valerena-4,7(11)-diene	$\gamma$ -Selinene; Eudesma-4(14) $\beta$ -Patchoulene	18,63	1,11
8.	Benzofuran, 6-ethenyl-4,5,6,7-tetrahydro-3,6-dimethyl-5-isopropenyl-, trans- 5-Benzofuranacetic acid, 6-ethenyl-4,5,6,7-tetrahydro-3,6-dimethyl-.alpha.-methylene-, methyl ester	Curzerene	18,78	2,71
9.	(R)-1-Methyl-4-(6-methylhept-5-en-2-yl)cyclohexa-1,4-diene 3,5,5,9-Tetramethyl-4a,5,6,7,8,9-hexahydro-2H-benzo[7]annulene	$\beta$ -Curcumene Himachalene-1,4-diene	19,43	26,32
10.	Naphthalene, 1,2,3,4,4a,7-hexahydro-1,6-dimethyl-4-(1-methylethyl)- (R)-1-Methyl-4-(6-methylhept-5-en-2-yl)cyclohexa-1,4-diene 1H-3a,7-Methanoazulene, 2,3,4,7,8,8a-hexahydro-3,6,8,8-tetramethyl-, [3R-(3.alpha.,3a.beta.,7.beta.,8a.alpha.)]-	$\beta$ -Curcumene Cedrene	19,67	1,87
11.	1,5-Cyclodecadiene, 1,5-dimethyl-8-(1-methylethylidene)-, (E,E)- Cyclohexane Gamma.-elemene	Germacrene B	20,86	4,10
12.	1,5-Cyclodecadiene, 1,5-dimethyl-8-(1-methylethylidene)-, (E,E)- 7-epi-trans-sesquisabinene hydrate 7-epi-cis-sesquisabinene hydrate	Germacrene B	20,94	0,77
13.	Epicurzerenone (5R,6R)-3,6-dimethyl-5-(prop-1-en-2-yl)-6-vinyl-6,7-dihydrobenzofurane-4(5H)-one		22,84	4,62
14.	2,4,6-cycloheptatrien-1-one, 2-hydroxy- Benzofuran, 6-ethenyl-4,5,6,7-tetrahydro-3,6-dimethyl-5-isopropenyl, trans- 3-cyclohexen-1-ol, 1-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-4-methyl-4,7-methanoazulene, 1,2,3,4,5,6,7,8-octahydro-1,4,9,9-tetramethyl-, [1S-(1.alpha.,4.alpha.,7.alpha.)]-	Tropolone, purpurocathechol Curzerene $\beta$ -Bisabolol $\beta$ -Pachoulene	25,10	0,36
15.	(4aS,8aR)-3,8a-Dimethyl-5-methylene-4,4a,5,6,7,8,8a,9-octahydronaphtho[2,3-b]furan Benzofuran, 6-ethenyl-4,5,6,7-tetrahydro-3,6-dimethyl-5-isopropenyl, trans-	Atractylon Curzerene	25,56	2,00
16.	Phenol, o-(o-methoxyphenoxy)- 3,7-cyclodecadien-1-one, 3,7-dimethyl-10-(1-methylethylidene)- (E,E)- Beta.-Elemenone	Germacrene; (E,E)-Germacrene	25,68	10,97
17.	2-Hydroxy-5-methylbenzaldehyde 5-Methyl-2-(6-methylhept-5-en-2-yl)phenol Methanol, (cyclohexyl)(2,3-dimethylphenyl)- 1-(2-Methoxyphenyl)-5-methyl-4-hexene-1-one	5-methylsalicylaldehyde Curcuphenol Benzenemethanol	26,42	0,46
18.	2,3-dimethylhydroquinone Benzenemethanol, 4-methoxy- 3-methoxybenzyl alcohol		26,80	0,39
19.	Phenol, 5-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-2-methyl-, (R)- Cyclobutanecarboxylic acid, 4-isopropylphenyl ester	Xanthorrhizol	26,96	22,83
20.	Phenol, 5-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-2-methyl-, (R)- 1,4-Benzenediamine, 2,3-dimethyl- Phenol, 3,4,5-trimethyl-	Xanthorrhizol	27,23	0,28
21.	2-(Benzo[thiazol-2-ylamino]-3H-imidazole-4-ol Benzene,1,2,4,-triethyl- 2,4,6,-trimethylphenol, trifluoroacetate		27,28	1,49

Perubahan sifat interaksi dapat terjadi antara dua atau lebih campuran ekstrak. Sifat aktivitas campuran ekstrak *P. retrofractum* dengan *A. squamosa* 1:2 (w/w) dan *P. retrofractum* dengan *Tephrosia vogelii* Hook. (Fabaceae) 1:2 (w/w) pada LC<sub>50</sub> memperlihatkan kecenderungan stabil antagonis seiring bertambahnya waktu pemaparan, namun berubah sifatnya pada LC<sub>95</sub> dikarenakan ketidakstabilan campuran jika digunakan pada taraf LC<sub>95</sub> (Asnan *et al.* 2015).

Hasil pengujian dan interaksi biologi antara pestisida yang berbeda dalam campuran tergantung bahan tanaman yang digunakan, serangga target, dan lingkungan (Busvine 1971 dalam Dadang & Prijono 2008). Bahan tanaman yang digunakan dan lingkungan memengaruhi komponen kimia yang terkandung. Faktor bahan tanaman yang berpengaruh, antara lain jenis tanaman (Shah *et al.* 2017), varietas tanaman (Patel *et al.* 2016; Pavela *et al.* 2014), waktu panen (Inan *et al.* 2011), proses penyimpanan dan pengolahan, dan periode penyimpanan, bahan aktif (Díaz *et al.* 2015), metode ekstraksi (Djouahri *et al.* 2013; Kosini & Nukenine 2017). Faktor lingkungan yang memengaruhi kandungan kimia, antara lain geografis (Sembiring & Darwati 2016), iklim (Miresmailli *et al.* 2013), dan

pemupukan (Setiawan *et al.* 2018). Faktor serangga yang memengaruhi hasil pengujian dan interaksi biologi, antara lain cara kerja, dosis/konsentrasi, waktu dan durasi pemaparan, jalur/rute masuk pestisida pada tubuh serangga dan organisme target (fase, fisiologi, dan mekanisme resistensi dalam populasi) (Hernández *et al.* 2017; Tamiru *et al.* 2016).

Campuran ekstrak *P. retrofractum* dan *C. xanthorrhiza* bekerja bersama secara sinergis mengakibatkan mortalitas nimfa instar ketiga *H. antonii*. Nilai LC<sub>95</sub> perlakuan *P. retrofractum*:*C. xanthorrhiza* = 2:1 (w/w), menunjukkan berturut-turut 4,26 dan 30,33 kali lebih kecil daripada nilai LC<sub>95</sub> *P. retrofractum* dan *C. xanthorrhiza* secara tunggal (Tabel 1). Hasil penelitian Yooboon *et al.* (2019) menyebutkan ekstrak etanol *P. retrofractum* dan *Acarus calamus* L. (Acoraceae) secara tunggal mampu mengendalikan larva instar ketiga *S. litura* masing-masing dengan LD<sub>50</sub> sebesar 5,52 µg.larva<sup>-1</sup> dan 9,78 µg.larva<sup>-1</sup>. Kedua ekstrak tersebut bersifat sinergis setelah dikombinasikan dan menunjukkan nilai LD<sub>50</sub> yang lebih kecil daripada komponen tunggalnya. Kombinasi ekstrak etanol *P. retrofractum*:*A. calamus* 1:1 (LD<sub>50</sub> *P. retrofractum* 3,21 µg.larva<sup>-1</sup> + LD<sub>10</sub> *A. calamus* 3,30 µg.larva<sup>-1</sup>) mampu menghambat daya

Tabel 6. Sifat interaksi campuran ekstrak *P. retrofractum* (Pr) dan *C. xanthorrhiza* (Cx) terhadap mortalitas nimfa instar ketiga *H. antonii*

Table 6. Interaction properties of *P. retrofractum* (Pr) and *C. xanthorrhiza* (Cx) extract mixture against mortality of third instar nymphs of *H. antonii*

Perbandingan an campuran Pr : Cx (w/w)	Waktu pengam atan (JSP)	Indeks kombinasi			Sifat interaksi		
		LC <sub>50</sub>	LC <sub>90</sub>	LC <sub>95</sub>	LC <sub>50</sub>	LC <sub>90</sub>	LC <sub>95</sub>
4:1	24	0,67	0,48	0,44	Sinergistik lemah	Sinergistik kuat	Sinergistik kuat
	48	0,62	0,41	0,37	Sinergistik lemah	Sinergistik kuat	Sinergistik kuat
	72	0,59	0,39	0,36	Sinergistik lemah	Sinergistik kuat	Sinergistik kuat
2:1	24	0,22	0,20	0,21	Sinergistik kuat	Sinergistik kuat	Sinergistik kuat
	48	0,20	0,17	0,17	Sinergistik kuat	Sinergistik kuat	Sinergistik kuat
	72	0,19	0,16	0,16	Sinergistik kuat	Sinergistik kuat	Sinergistik kuat
1:1	24	0,34	0,57	0,70	Sinergistik kuat	Sinergistik lemah	Sinergistik lemah
	48	0,29	0,54	0,68	Sinergistik kuat	Sinergistik lemah	Sinergistik lemah
	72	0,25	0,52	0,67	Sinergistik kuat	Sinergistik lemah	Sinergistik lemah
1:2	24	0,29	0,15	0,13	Sinergistik kuat	Sinergistik kuat	Sinergistik kuat
	48	0,26	0,13	0,12	Sinergistik kuat	Sinergistik kuat	Sinergistik kuat
	72	0,23	0,12	0,11	Sinergistik kuat	Sinergistik kuat	Sinergistik kuat
1:4	24	0,84	0,49	0,51	Aditif	Sinergistik kuat	Sinergistik lemah
	48	0,72	0,44	0,45	Sinergistik lemah	Sinergistik kuat	Sinergistik kuat
	72	0,62	0,40	0,42	Sinergistik lemah	Sinergistik kuat	Sinergistik kuat

makan *S. litura* instar keempat sebanyak 82,42 %. Camphor yang diisolasi dari minyak rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) (Lamiales) secara tunggal kurang toksik terhadap larva instar ketiga *Trichoplusia ni* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae), yang diaplikasikan secara topikal, dibandingkan senyawa 1,8 cineol, yang diisolasi dari tanaman yang sama. Namun, ketika camphor dicampur dengan 1,8 cineol, aktivitas penetrasi ke dalam tubuh serangga meningkat tajam dan lebih toksik daripada komponen tunggalnya (Tak & Isman 2015).

Mortalitas nimfa instar ketiga *H. antonii* disebabkan oleh kerja bersama bahan aktif *P. retrofractum* dan *C. xanthorrhiza*. Senyawa lignan 1,3 benzodioxol yang terkandung dalam ekstrak *P. retrofractum* menimbulkan efek sinergisme ketika dicampurkan dengan ekstrak *C. xanthorrhiza*. Di dalam tubuh serangga terdapat enzim polisubstrat monooksigenase (PSMO), seperti sitokrom b5 dan sitokrom P450, yang berperan menurunkan daya racun xenobiotik yang masuk ke dalam tubuh serangga. Gugus MDF sederhana, seperti benzodioxole, dan turunan kompleks MDF, seperti piperin, bekerja menghambat metabolisme oksidasi senyawa-senyawa xenobiotik dalam tubuh serangga (Bernard *et al.* 1995; Matsumura 1985). Terhambatnya enzim PSMO dapat mengakibatkan penumpukan senyawa atau metabolit toksik di dalam tubuh serangga yang akhirnya dapat mengakibatkan kematian (Bernard *et al.* 1995).

Beberapa senyawa kimia yang terkandung di dalam spesies *Zingiber* dan *Curcuma*, seperti Ar-Turmerone,  $\alpha$ -Turmerone,  $\beta$ -Turmerone, dan 25-Hydroxy-Curcumanolide, diduga mampu bertindak sebagai sinyal bagi tanaman untuk menyintesis atau mengaktifkan fitoaleksin dan meningkatkan produksi terpen. Senyawa-senyawa fitoaleksin dan terpen yang dikeluarkan akan memengaruhi serangga yang akan menyerang melalui beberapa mekanisme, misalnya *antifeedant*, menghambat peneluran, membingungkan serangga untuk menyerang tanaman yang akan diserang, dan menarik predator atau parasitoid (Alonso-Amelot 2016).

Berdasarkan cara kerjanya, *P. retrofractum* memiliki cara kerja yang berbeda dengan *C. xanthorrhiza*. Komponen mayoritas ekstrak *P. retrofractum*, yaitu piperin, bekerja sebagai neurotoksin yang kuat (Miyakado *et al.*, 1979), sedangkan  $\beta$ -curcumene, xanthorrhizol, Ar-curcumene, curzerene,  $\beta$ -bisabolol, dan germacrone D pada ekstrak *C. xanthorrhiza*, yang termasuk dalam golongan sesquiterpen, bekerja

sebagai *repellent*, *antifeedant*, dan penghambat peneluran yang kuat terhadap imago (AlShebly *et al.* 2017; Barakat 2011; Navarro-Rocha *et al.* 2018; Bleeker *et al.* 2011). Berdasarkan hasil GC-MS, kandungan senyawa zingiberene (1,3-Cyclohexadiene, 5-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-2-methyl-, [S-(R\*,S\*)]-) rendah, metabolit sekunder tersebut memiliki peran sebagai *repellent*. Sesquiterpen 7-zingiberene yang diisolasi dari *Solanum habrochaites* S. Knapp & DM Spooner (Solanaceae) bersifat *repellent* terhadap *Bemisia tabaci* Gennadius (Hemiptera: Aleyrodidae) (Bleeker *et al.* 2011). Selain itu, senyawa caryophyllene juga memiliki sifat *repellent*. Senyawa  $\beta$ -caryophyllene yang diisolasi dari bunga *Arabidopsis* Heynh. In Holl & Heynh. (Brassicaceae) mampu mencegah kehadiran *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) pada tanaman jeruk (Alqu  zar *et al.* 2017).

Dua bahan aktif dapat bersaing atau menghambat kerja enzim pada organisme target yang sama sehingga mampu meningkatkan toksisitas campuran. Sinergisme dapat terjadi ketika satu bahan aktif pestisida mengganggu kerja enzim yang dapat mendetoksifikasi metabolik pestisida lainnya (Kulkarni & Hodgson 1980; Matsumura 1985). Selain itu, sifat sinergisme akan mendukung penetrasi insektisida melalui kutikula serangga dan bertindak di situs pengikatan insektisida pada protein reseptor serangga target (Bernard & Philog  ne 1993). Dadang & Prijono (2008) menyatakan komponen-komponen dalam campuran yang memiliki cara kerja bersama bebas, memiliki cara kerja yang berbeda dan tidak saling memengaruhi. Campuran yang memiliki sifat demikian berpotensi untuk mengendalikan beberapa hama sekaligus dan mencegah resistensi hama terhadap insektisida (Dougoud *et al.* 2019).

## KESIMPULAN

Campuran ekstrak etil asetat *P. retrofractum* dengan ekstrak etanol *C. xanthorrhiza* pada perbandingan 2:1 (w/w) mengakibatkan mortalitas paling tinggi terhadap nimfa instar ketiga *H. antonii*. Kedua jenis ekstrak tersebut memiliki cara kerja yang berbeda dan bersifat sinergis sehingga dapat meningkatkan toksisitas. Kombinasi ekstrak *P. retrofractum* dan *C. xanthorrhiza* (2:1; w/w) berpotensi untuk dikembangkan lebih lanjut sebagai insektisida nabati untuk mengendalikan *H. antonii* dan memperlambat terjadinya resistensi.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Badan Litbang Pertanian Kementerian Pertanian RI yang telah memberikan dana bantuan penelitian dengan No. 228/Kpts/KP.320/H.1/3/2019 Tanggal 8 Maret 2019. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada Bapak Rahmat (Kepala Kebun Percobaan Cibodas, Ciampea, Pusat Penelitian Bioteknologi dan Bioindustri Bogor) yang telah memperkenalkan koleksi *H. antonii*; Ibu Gusti Indriati, SP., MSi. (Balittri) yang telah menyediakan cabe jawa segar; Mahindra Dewi NA, SP., MSi. dan Bapak Feri Kustiawan, SP. yang telah membantu pelaksanaan penelitian.

## DAFTAR PUSTAKA

- Alonso-Amelot, M.E. (2016). Multitargeted Bioactive Materials of Plants in the Curcuma Genus and Related Compounds: Recent Advances. *Studies in Natural Products Chemistry*. 47, 111—200. doi: 10.1016/B978-0-444-63603-4.00004-8.
- Alquezar, B., Volpe, H.X.L., Magnani, R.F., de Miranda, M.P., Santos, M.A., Wulff, N.A., Bento, J.M.S., Parra, J.R.P., Bouwmeester, H. & Pena, L. (2017).  $\beta$ -caryophyllene Emitted from a Transgenic Arabidopsis or Chemical Dispenser Repels *Diaphorina citri*, Vector of *Candidatus liberibacters*. *Scientific Reports*. 7 (1), 1-9. doi: 10.1038/s41598-017-06119-w.
- AlShebly, M.M., AlQahtani, F.S., Govindarajan, M., Gopinath, K., Vijayan, P. & Benelli, G. (2017). Toxicity of Ar-curcumene and Epi- $\beta$ -bisabolol from *Hedychium larsenii* (Zingiberaceae) Essential Oil on Malaria, Chikungunya and St. Louis Encephalitis Mosquito Vectors. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 137, 149-157. doi: 10.1016/j.ecoenv.2016.11.028.
- Asnan, T.A.W., Sartiami, D., Anwar, R. & Dadang. (2015). Keefektifan Ekstrak *Piper retrofractum* Vahl., *Annona squamosa* L. dan *Tephrosia vogelii* Hook. serta Campurannya terhadap Imago Kutu Putih Pepaya *Paracoccus marginatus* Williams & Granara de Willink (Hemiptera: Pseudococcidae). *Jurnal Entomologi Indonesia*. 12 (2), 80-90. doi: 10.5994/jei.12.2.80.
- Balfas, R. & Mardiningsih, T.L. (2016). Pengaruh Minyak Atsiri terhadap Mortalitas dan Penghambatan Peneluran *Crocidolomia pavonana* F. *Bul Littro*, 27(1), 85—92.
- Barakat, D.A. (2011). Insecticidal and Antifeedant Activities and Chemical Composition of *Casimiroa edulis* La Llave & Lex (Rutaceae) Leaf Extract and its Fractions Against *Spodoptera littoralis* Larvae. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*. 5(9), 693-703.
- Bernard, C.- B., Arnason, J.T., Phylogene, B.J.R., Lam, J. & Waddel, T. (1990). *In Vivo* Effect of Mixtures of Allelochemicals on the Life Cycle of the European Corn Borer, *Ostrinia nubilalis*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 57(1), 17-22. doi: 10.1111/j.1570-7458.1990.tb01411.x.
- Bernard, C.-B., Krishanmurty, H.G., Chauret, D., Durst, T., Philogene, B.J.R., Sanchez-Vindas, P., Hasbun, C., Poveda, L., Roman, L.S., & Arnason, J.T. (1995). Insecticidal Defenses of Piperaceae from the Neotropics. *Journal of Chemical Ecology*. 21(6), 801—814. doi: 10.1007/BF02033462.
- Bernard, C.-B. & Philogene, B.J. (1993). Insecticide Synergists: Role, Importance, and Perspectives. *Journal of Toxicology and Environmental Health*. 38(2), 199—223. doi: 10.1080/15287399309531712.
- Bernays, E.A. & Chapman, R.F. (1994) *Host-Plant Selection by Phytophagous Insects*. New York, Chapman & Hall.
- Bleeker, P.M., Diergaarde, P.J., Ament, K., Schutz, S., Johne, B., Dijkink, J., Hiemstra H., de Gelder R., de Both M.T.J., Sabelis, M.W., Haring, M.A. & Schuurink, R.C. (2011) Tomato-produced 7-epizingiberene and R-curcumene act as Repellents to Whiteflies. *Phytochemistry*. 72(1), 68-73. doi: 10.1016/j.phytochem.2010.10.014.
- Cardenas-Ortega, N.C., Gonzalez-Chavez, M.M., Figueroa-Brito, R., Flores-Macias, A., Romo-Asuncion, D., Martinez-Gonzalez, D.E., Perez-Moreno, V., & Ramos-Lopez, M.A. (2015). Composition of the Essential Oil of *Salvia ballotiflora* (Lamiaceae) and its Insecticidal Activity. *Molecules*. 20(5), 8048—8059. doi: 10.3390/molecules20058048.
- Chou, T.C. & Talalay, P. (1984). Quantitative Analysis of Dose-effect Relationships: The Combined Effects of Multiple Drugs or

- Enzyme Inhibitors. *Advances in Enzyme Regulation*. 22(C), 27—55. doi: 10.1016/0065-2571(84)90007-4.
- Dadang. (2015). *Pengembangan Pestisida Nabati untuk Mendukung Pertanian Ramah Lingkungan dan Berkelanjutan*. Orasi Ilmiah Guru Besar IPB, 16 September 2015. Bogor, Institut Pertanian Bogor. 82 hlm.
- Dadang, Fitriyani, E.D. & Prijono, D. (2011). Field Efficacy of Two Botanical Insecticide Formulations Against Cabbage Insect Pests, *Crociodolomia pavonana* (F.) (Lepidoptera: Pyralidae) and *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Yponomeutidae). *J. ISSAAS*. 17(2), 38-47.
- Dadang & Prijono, D. (2008). *Insektisida Nabati: Prinsip, Pemanfaatan, dan Pengembangan*. Bogor, Departemen Proteksi Tanaman. Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- de Souza Tavares, W., Akhtar, Y., Gonçalves, G. L.P., Zanuncio, J.C., & Isman, M.B. (2016). Turmeric Powder and its Derivatives from *Curcuma longa* Rhizomes: Insecticidal Effects on Cabbage Looper and the Role of Synergists. *Scientific Reports*. 6, 1-11. doi: 10.1038/srep34093.
- de Souza Tavares, W., Cruz, I., Petacci, F., Freitas, S.S., Serrao, & Zanuncio, J.C. (2011). Insecticide Activity of Piperine: Toxicity to Eggs of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae) and Phytotoxicity on Several Vegetables. *Journal of Medicinal Plant Research*. 5(21), 5301-5306.
- Diaz, M., Diaz, C.E., Alvarez, R. G., Gonzalez, A., Castillo, L., Gonzalez-Coloma, A., Seoane, G. & Rossini, C. (2015). Differential Anti-insect Activity of Natural Products Isolated from *Dodonaea viscosa* Jacq. (Sapindaceae). *Journal of Plant Protection Research*. 55(2), 172-178. doi: 10.1515/jppr-2015-0023.
- Djouahri, A., Boudarene, L. & Meklati, B.Y. (2013). Effect of Extraction Method on Chemical Composition, Antioxidant and Anti-inflammatory Activities of Essential Oil from the Leaves of Algerian *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters. *Industrial Crops and Products*. 44, 32-36. doi: 10.1016/j.indcrop.2012.10.021.
- Dougoud, J., Toepfer, S., Bateman, M. & Jenner, W.H. (2011). Efficacy of Homemade Botanical Insecticide Knowledge: A Review. *Agronomy for Sustainable Development*. 39(37), 1-22. doi: 10.1007/s13593-019-0583-1.
- Govindarajan, M., Rajeswary, M., Senthilmurugan, S., Vijayan, P., Alharbi, N.S., Kadaikunnan, S., Khaled, J.M. & Benelli, G. (2018). Curzerene, Trans- $\beta$ -elemenone, and  $\gamma$ -Elemene as Effective Larvicides Against *Anopheles subpictus*, *Aedes albopictus*, and *Culex tritaeniorhynchus*: Toxicity on Non-target Aquatic Predators. *Environmental Science and Pollution Research*. 25(11), 10272-10282. doi: 10.1007/s11356-017-8822-y.
- Harborne, J.B. (1990). Role of Secondary Metabolites in Chemical Defence Mechanism in Plant. In: Chawick, D. J. & Mars, J. (eds) *Bioactive Compounds from Plants*. Chiba Foundation Symposium. John Wiley, Chichester. doi: 10.1002/9780470514009.ch10.
- Hernandez, A.F., Gil, F. & Lacasana, M. (2017). Toxicological Interactions of Pesticide Mixtures: an Update. *Archives of Toxicology*. 91(10), 3211-3223. doi: 10.1007/s00204-017-2043-5.
- Hernani, & Marwati, T. (2012). *Teknologi Pascapanen Tanaman Obat*. Bogor, Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian. ISBN: 978-979-1116-34-3.
- Inan, M., Kirpik, M., Kaya, D.A. & Kirici, S. (2011). Effect of Harvest Time on Essential Oil Composition of *Thymbra spicata* L. Growing in Flora of Adiyaman. *Advances in Environmental Biology*. 5(2), 356-358.
- Indriati, G., Dadang & Prijono, D. (2016). Aktivitas Insektisida Ekstrak Buah Cabai Jawa (*Piper retrofractum*) terhadap *Helopeltis antonii* (Hemiptera: Miridae). *Jurnal Littri*. 21 (1), 33-40. doi: 10.21082/littri.v21n1.2015.33-40.
- Indriati, G. & Samsudin. (2014). Aktivitas Insektisida Ekstrak Piperaceae terhadap *Helopeltis antonii* pada Kakao. *Jurnal Tanaman Industri dan Penyegar*. 1(1), 7-14. doi: 10.21082/jtidp.v1n1.2014.p7-14.
- Indriati, G. & Soesanthy, F. (2014). Hama *Helopeltis* spp. dan Teknik Pengendaliannya pada Pertanaman Teh (*Camelia sinensis*). *Sirinov*. 2(3), 189-198. doi: 10.1111/j.1445-

2197.2008.04755.x.

- Kalshoven, L.G.E. (1981). *Pests of Crops in Indonesia*. van der Laan PA, Penervisi dan Penerjemah. Terjemahan dari *De Plagen van de Cultuurgewassen in Indonesia*. Jakarta, PT. Ichtiar Baru-Van Hoeve.
- Kilin, D. & Atmadja, W.R. (2000) Perbanyakan Serangga *Helopeltis antonii* SIGN. pada Buah Ketimun dan Pucuk Jambu Mete. *Jurnal Littri*. 5(4), 119-122. doi : 10.21082/littri.v5n4.2000.119-122
- Kiran, R.S. & Devi, S.P. (2007). Evaluation of Mosquitocidal Activity of Essential Oil and Sesquiterpenes from Leaves of *Chloroxylon swietenia* DC. *Parasitology Research*. 101(2), 413-418. doi: 10.1007/s00436-007-0485-z.
- Kosini, D. & Nukenine, E.N. (2017). Bioactivity of Novel Botanical Insecticide from *Gnidia kaussiana* (Thymeleaceae) Against *Callosobruchus aculatus* (Coleoptera: Chrysomelidae) in Stored *Vigna subterranea* (Fabaceae) Grains. *Journal of Insect Science*. 17(1). doi: 10.1093/jisesa/iex004.
- Kulkarni, A.P. & Hodgson, E. (1980). Metabolism of Insecticides by Mixed Function Oxidase Systems. *Pharmacology and Therapeutics*. 8(2), 379-475. doi: 10.1016/0163-7258(80)90054-6.
- Manjanaik, C. & Chakravarthy. (2013). Sustainable Management Practice for Tea Mosquito Bug *Helopeltis antonii* Signoret (Miridae: Hemiptera) on Cashew. *Karnataka Journal of Agriculture Sciences*. 26(1), 54-57.
- Mardiningsih, T.L. & Balfas, R. (2017). The Effect of Essential Oil Mixtures on Mortalities and Oviposition Deterrents of *Crocidolomia pavonana* and *Helopeltis antonii*. *Buletin Litro*. 28(1), 75—88. doi: 10.21082/bullitro.v28n1.2017.75-88.
- Matsumura, F. (1985). *Toxicology of Insecticides*, *Toxicology of Insecticides*. New York, Penum Press. doi: 10.1007/978-1-4613-2491-1.
- Miresmailli, S., Zeri, M., Zangerl, A.R., Bernacchi, C.J., Berenbaum, M.R. & DeLucia, E.H. (2013). Impacts of Herbaceous Bioenergy Crops on Atmospheric Volatile Organic Composition and Potential Consequences for Global Climate Change. *GCB Bioenergy*. 5(4), 375-383. doi: 10.1111/j.1757-1707.2012.01189.x.
- Miyakado, M., Nakayama, I. & Ohno, N. (1989). Insecticidal Unsaturated Isobutylamides: from Natural Products to Agrochemical Leads. In: Arnason, J.T., et al. (eds.) *Insecticides of Plant Origin*. AS, pp. 173—187. doi: 10.1021/bk-1989-0387.ch013.
- Miyakado, M., Nakayama, I., Yoshioka, H. & Nakatani, H. (1979). The Piperaceae Amides I: Structure of Pipericide, A New Insecticidal Amide from *Piper nigrum* L. *Agricultural and Biological Chemistry*, 43(7), 1609-1611. doi: 10.1080/00021369.1979.10863675.
- Nararak, J., Sathantriphop, S., Kongmee, M., Mahiou-Leddet, V., Ollivier, E., Manguin, S. & Chareonviriyaphap, T. (2019). Excito-Repellent Activity of  $\beta$ -caryophyllene Oxide Against *Aedes aegypti* and *Anopheles minimus*. *Acta Tropica*. 197, 1-8. doi: 10.1016/j.actatropica.2019.05.021.
- Navarro-Rocha, J., Barrero, A.F., Burillo, J., Olmeda, S., Gonzalez-Coloma, A. (2018). Valorization of Essential Oils from Two Populations (Wild and Commercial) of *Geranium macrorrhizum* L. *Industrial Crops and Products*. 116, 41—45. doi: 10.1016/j.indcrop.2018.02.046.
- Nuryanti, N.S.P., Martono, E., Ratna, E.S, & Dadang. (2018). The Bioactivities of Selected Piperaceae and Asteraceae Plant Extracts Against Brown Plant Hopper (*Nilaparvata lugens* Stal.). *Journal of ISSAAS*. 24(2), 70-78.
- Pandji, C., Grimm, C., Wray, V., Witte, L. & Procksch, P. (1993). Insecticidal Constituents from Four Species of the Zingiberaceae. *Phytochemistry*. 34(2), 415-419. doi: 10.1016/0031-9422(93)80020-S.
- Patel, R.P., Singh, R., Rao, B.R.R., Singh, R.R., Srivastava, A., & Lal, R.K. (2016). Differential Response of Genotype  $\times$  Environment on Phenology, Essential Oil Yield and Quality of Natural Aroma Chemicals of Five *Ocimum* species. *Industrial Crops and Products*. 87, 210-217. doi: 10.1016/j.indcrop.2016.04.001.
- Pavela, R., Kaffkova, K. & Kumsta, M. (2014). Chemical Composition and Larvicidal Activity of Essential Oils from Different *Mentha* L. and *Pulegium* species Against *Culex quinquefasciatus* say (Diptera: Culicidae). *Plant Protection Science*. 50(1),



36-42. doi: 10.17221/48/2013-PPS.

- Rohimatun, Yuliani, S., Winasa, I.W. & Dadang. (2020). Efficacy of Selected Piperaceae, Asteraceae, and Zingiberaceae Plant Extracts Against *Helopeltis antonii* Sign. *Journal of ISSAAS* .26 (2), 145-157
- Scott, I.M., Jensen, H.R., Philogene, B.J.R., & Arnason, J.T. (2008). A Review of *Piper* spp. (Piperaceae) Phytochemistry, Insecticidal Activity and Mode of Action. *Phytochemistry Reviews*. 7(1), 65-75. doi: 10.1007/s11101-006-9058-5.
- Scott, I.M., Puniani, E., Jensen, H., Livesey, J.F., Poveda, L., Sanchez-Vindas P., Durst T., & Arnason, J.T. (2005). Analysis of Piperaceae Germplasm by HPLC and LCMS: A Method for Isolating and Identifying Unsaturated Amides from *Piper* spp. Extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53(6), 1907—1913. doi: 10.1021/jf048305a.
- Sembiring, B. & Darwati, I. (2016). Identifikasi Komponen Kimia Aksesori Rumpun Kebar (*Biophytum petersianum*) asal Papua dan Jawa. *Buletin Littro*. 25(1), 37-44. doi: 10.21082/bullittro.v25n1.2014.37-44.
- Setiawan, Gusmaini, & Nurhayati, H. (2018). Respons Tanaman Serai Wangi terhadap Pemupukan NPKMg pada Tanah Latosol. *Buletin Littro*. 29(2), 69-78. doi: 10.21082/bullittro.v29n2.2018.69-78.
- Shah, F.M., Razaq, M., Ali, A., Han, P. & Chen, J. (2017). Comparative Role of Neem Seed Extract, Moringa Leaf Extract and Imidacloprid in the Management of Wheat Aphids in Relation to Yield Losses in Pakistan. *PLoS ONE*. 12(9), 1-24. doi: 10.1371/journal.pone.0184639.
- Soonwera, M., Wongnet, O., & Sittichok, S. (2018). Ovicidal Effect of Essential Oils from Zingiberaceae Plants and *Eucalytus globulus* on Eggs of Head Lice, *Pediculus humanus capitis* De Geer. *Phytomedicine*. 47, 93—104. doi:10.1016/j.phymed.2018.04.050.
- Sun, Y.-P. (1968). Dynamics of Insect Toxicology - A Mathematical and Graphical Evaluation of the Relationship Between Insect Toxicity and Rates of Penetration and Detoxication of Insecticides. *Journal of Economic Entomology*. 61(4), 949-955. doi: 10.1093/jee/61.4.949.
- Susanto, M.S. & Prijono, D. (2015). Sinergisme Ekstrak *Piper aduncum* dan *Tephrosia vogelii* terhadap Penggerek Batang Padi Kuning, *Scirpophaga incertulas*. *Jurnal Agrikultura*. 26(1), 7-14. doi: 10.24198/agrikultura.v26i1.8454.
- Tak, J.H. & Isman, M.B. (2015). Enhanced Cuticular Penetration as the Mechanism for Synergy of Insecticidal Constituents of Rosemary Essential Oil in *Trichoplusia ni*. *Scientific Reports*. 5, 1-10. doi: 10.1038/srep12690.
- Tamiru, A, Bayih, T. & Chimdessa, M. (2016). Synergistic Bioefficacy of Botanical Insecticides Against *Zabrotes subfasciatus* (Coleoptera: Bruchidae) A Major Storage Pest of Common Bean. *Journal of Fertilizers & Pesticides*. 7(12), 1-8. doi: 10.4172/2471-2728.1000171.
- Utami, A., Dadang, Nurmansyah, A. & Laba, I.W. (2017). Tingkat Resistensi *Helopeltis antonii* (Hemiptera : Miridae ) pada Tanaman Kakao terhadap Tiga Golongan Insektisida Sintetis. *Jurnal Tanaman Industri dan Penyegar*. 4(2), 89—98. doi : 10.21082/jtidp.v4n2.2017.p89-98
- Wiwattanawanichakun, P., Ratwatthananon, A., Poonsri, W., Yooboon, T., Pluempanupat, W., Piyasaengthong, N., Nobsathian, S. & Bullangpoti, V. (2018). The Possibility of Using Isolated Alkaloid Compounds and Crude Extracts of *Piper retrofractum* (Piperaceae) as Larvicidal Control Agents for *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) Larvae. *Journal of Medical Entomology*. 55(5), 1231-1236. doi: 10.1093/jme/tjy082.
- Yooboon, T., Pengsook, A., Ratwatthananon, A., Pluempanupat, W., & Bullangpoti, V. (2019). A Plant-based Extract Mixture for Controlling *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*. 6 (1), 1—10. doi:10.1186/s40538-019-0143-6.