

Pengaruh Subletal Nanosuspensi *Lantana camara* Linnaeus dalam Menghambat Perkembangan dan Lolos Hidup *Larva Crocidolomia pavonana* Fabricius (Lepidoptera: Crambidae)

Melanie^{1,3*}, Wawan Hermawan^{1,3}, Mia Miranti Rustama^{1,3}, Desak Made Malini^{1,3}, Teguh Husodo¹, Camellia Panatarani^{2,3}, dan I Made Joni^{2,3}

¹Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjadjaran

²Departemen Fisika, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjadjaran

³Pusat Unggulan Iptek Perguruan Tinggi Nanopowder Functional (Finder U-CoE), Universitas Padjadjaran

*Alamat korespondensi: melanie@unpad.ac.id

INFO ARTIKEL

Diterima: 28-11-2022

Direvisi: 07-02-2023

Dipublikasi: 30-04-2023

ABSTRACT/ABSTRAK

Effect of Nanosuspension Sublethal of *Lantana camara* Linnaeus in Inhibiting the Development and the Survival of *Crocidolomia pavonana* Fabricius Larvae (Lepidoptera: Crambidae)

Keywords:

Crocidolomia pavonana,
Development, *Lantana camara* EAF,
Nanosuspension, Sub-lethal

Application of synthetic insecticide on cabbage often found obstacles, one of which is the ability of the insecticide to stick on the leaf surface because of the presence of wax layer on the cabbage leaf surface. The research aimed to obtain nanosuspension bioinsecticide which can be used to control *Crocidolomia pavonana* larvae. The *Lantana camara* leaf Ethyl Acetate Fraction (EAF) nanosuspension is known as the potential antifeedant against *C. pavonana* larvae. The surfactant organic-phase ratio (SOR 9, 11, 12, and 14) was prepared into a water-based formula using emulsion phase-inversion by low-energy method, adding ultrasonication interference. The bioassay test of *L. camara* EAF nanosuspension determined the toxicity category and its bioactivity at sub-lethal concentrations on *C. pavonana* larvae to pupae development. The nanosuspension of *L. camara* EAF SOR 11 (D= 76.6 nm; PI= 0.589; Z=-4.4 mV) was determined as the best-dispersed suspension in the water system among others. The results of the toxicity test showed that the sub-lethal effect of *L. camara* nanosuspension (SOR 11) LC₅₀ at 48h (2948 ppm) and LC₅₀ at 72h (3897 ppm) were categorized as a moderate toxicant. This significantly inhibited the development and survival of *C. pavonana* 3rd-instar larvae to pre-pupae (P<0.05), with the longest average development time of 6.5 days (SOR 11), and the lowest survival was in the SOR 11 treatment (13.33%). While, there are no surviving pupae into the imago stage in all variations of SOR, indicated by abnormality and death of pupae. Therefore, due to its low toxicity, *L. camara* nanosuspension is a prospective controlling of *C. pavonana* larvae, effectively and potentially preventing resistance.

Kata Kunci:

Crocidolomia pavonana, *Lantana camara* FEA,
Nanosuspensi,
Perkembangan,
Subletal

Aplikasi insektisida sintetik pada tanaman kubis seringkali mendapatkan kendala, salah satunya karena insektisida tidak dapat melekat dengan baik pada permukaan daun kubis yang mengandung lapisan lilin. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mendapatkan formulasi nanosuspensi bioinsektisida yang dapat digunakan untuk mengendalikan larva *Crocidolomia pavonana* pada tanaman kubis. Nanosuspensi Fraksi Etil Asetat (FEA) daun *Lantana camara*

telah diketahui berpotensi sebagai antifidan terhadap larva *C. pavonana*. Formula nanosuspensi dengan rasio surfaktan (SOR 9, 11, 12, dan 14) di formulasikan dalam media air menggunakan metode emulsi sederhana energi rendah ditambah dengan interferensi ultrasonikasi. Uji bioassay dilakukan untuk menentukan kategori toksisitas dan bioaktivitas nanosuspensi pada konsentrasi subletal terhadap perkembangan larva hingga pupa *C. pavonana*. Formula nanosuspensi FEA *L. camara* dengan variasi SOR 11 (D= 76,6 nm; PI= 0,589; Z = -4,4 mV) diketahui terdispersi dalam media air yang terbaik diantara variasi komposisi formula lainnya. Hasil uji toksisitas menunjukkan bahwa efek subletal nanosuspensi (SOR 11) LC₅₀ 48 jam (2.948 ppm) dan LC₅₀ 72 jam (3.897 ppm) dikategorikan sebagai toksikan sedang, dan secara nyata menghambat perkembangan dan lolos hidup larva *C. pavonana* instar 3 menuju pre-pupa (P<0,05), dengan rata-rata waktu perkembangan terlama 6,5 hari (SOR 11), dan persentase lolos hidup terendah instar 4 menuju fase pupa pada perlakuan SOR 11 (13,33%). Pupa diketahui tidak mampu berkembang ke tahap imago pada semua variasi SOR, yang diindikasikan melalui cacat dan kematian pupa. Dengan demikian, toksisitas nanosuspensi FEA *L. camara* yang rendah menjadikannya formula yang efektif dan berpotensi untuk mencegah resistensi *C. pavonana*.

PENDAHULUAN

Permasalahan yang kerap dijumpai pada budidaya kubis adalah berkurang dan gagalnya panen yang disebabkan oleh serangan serangga hama *Crociodomia pavonana* (Ramasamy *et al.*, 2020; Frasawi dkk., 2016). Insektisida sintesis selama ini menjadi andalan petani kubis untuk mengendalikan larva *C. pavonana* (Patra *et al.*, 2020). Penyemprotan insektisida sintesis pada permukaan daun kubis di antaranya terkendala karakter daun kubis yang dilapisi lapisan lilin pada kutikula permukaan daun kubis, menjadikannya sulit terbasahi merata. Sementara itu, larva *C. pavonana* sulit terpapar insektisida yang disemprotkan di permukaan daun karena karakter larvanya setelah menetas akan melalui fase awal perkembangannya di permukaan daun kubis, selanjutnya bersembunyi di bagian dalam lapisan krop kubis (Frasawi dkk., 2016). Umumnya petani kubis menggunakan zat pengemulsi, perekat, dan perata agar bahan aktif tercampur dalam formula dan melekat dengan baik saat proses penyemprotan insektisida sintetik di lapangan. Selain itu, untuk meningkatkan efektifitas pengendalian larva *C. pavonana* seringkali dosis dan frekuensi aplikasi digunakan tidak sesuai aturan penggunaan. Sebagai akibatnya, penggunaan insektisida sintetik dan bahan kimia kompleks yang berlebihan menyisakan residu yang tinggi pada krop kubis serta mencemari lahan pertanian (Patra *et al.*, 2020). Tingginya dosis toksikan yang terpapar terus menerus terhadap *C.*

pavonana justru menjadi pemicu utama penyebab terjadinya resistensi *C. pavonana* terhadap sejumlah insektisida sintesis (Dono dkk., 2019). Mengacu pada berbagai kendala dalam pengendalian *C. pavonana* yang dihadapi petani kubis, maka diperlukan alternatif pengendalian dengan formula yang aman dan efisien, namun tetap efektif juga mampu mencegah potensi terjadinya resistensi *C. pavonana*.

Biopestisida dari ekstrak metabolit tumbuhan saat ini telah dikembangkan sebagai alternatif untuk melindungi produk tanaman, yang aman dan ramah bagi lingkungan (Lengai *et al.*, 2020). Keunggulan biopestisida dari bahan organik tumbuhan selain aman bagi manusia dan musuh alami, juga memiliki bioaktivitas subletal yang bersifat sistemik dan memiliki beberapa bio-aktivitas terhadap serangga hama. Potensi ini dapat mencegah terjadinya resistensi akibat paparan toksisitas yang tinggi dan *single-bioactivity* yang umumnya menjadi karakter insektisida sintetik. Antifidan merupakan bahan biopestisida yang prospektif dalam mengganggu mekanisme makan serangga hama pemakan daun dengan efektifitas yang berantai terhadap mekanisme biologis lainnya, di antaranya mampu menjadikan serangga hama gagal tumbuh dan berkembang maupun gagal meletakkan telur akibat *mal nutrisi* (Koul, 2016 ; Miresmailli & Isman, 2014).

Lantana camara merupakan salah satu tumbuhan yang berpotensi sebagai sumber biopestisida (Ayalew, 2020; Danuji & Anitasari, 2018) dan juga diketahui bersifat antifidan terhadap

serangga hama, termasuk di antaranya larva *C. pavonana* (Kasmara *et al.*, 2018; Melanie *et al.*, 2019). Berdasarkan studi terhadap ekstrak daun *L. camara*, dilaporkan fraksi etil asetat (FEA) merupakan fraksi aktif yang bersifat antifidan terhadap larva *C. pavonana* (Melanie *et al.*, 2020a). Fraksi *L. camara* dapat terlarut dalam etil asetat, namun tidak dapat terdispersi dengan baik dalam air. Adapun air merupakan pelarut terbaik untuk aplikasi biopestisida yang paling aman digunakan tanpa merusak tanaman (Zhang *et al.*, 2018). Teknologi yang dapat diterapkan untuk mendispersikan bahan non polar seperti halnya terbentuknya koloid minyak dalam air, adalah metode emulsifikasi (Kala *et al.*, 2020; Pascual-Villalobos *et al.*, 2019). Emulsifikasi dengan proses rendah energi memungkinkan FEA *L. camara* dalam pelarut non-polar dapat terdispersi dalam air dengan menambahkan surfaktan dan rasio yang sesuai (*Surfactant and Organic-phase Ratio/SOR*) (Ostertag *et al.*, 2012; Pascual-Villalobos *et al.*, 2019). Metode ini melibatkan juga agitasi mekanis melalui proses ultrasonikasi (Mahbubul, 2019; Vino & Durairaj, 2017). Difusi molekul surfaktan dan pelarut dari fase terdispersi ke fase kontinu yang berlangsung dengan cepat memicu pembentukan droplet emulsi berisi suspensi berukuran mikro atau nanosuspensi (Cheaburu-Yilmaz *et al.*, 2019).

Performa pestisida nabati diketahui lebih efisien dan efektif apabila diformulasi dalam ukuran nano. Ukuran partikel yang lebih kecil mereduksi dosis aplikasi namun tetap mempertahankan keefektifan bahan aktif, karena luas permukaan bahan aktif menjadi lebih besar (Khandelwal *et al.*, 2016). Ukuran partikel nano memiliki afinitas yang lebih kuat sehingga lebih mudah menempel pada permukaan hidrofob, menurunkan tegangan permukaan sehingga dapat membasahi permukaannya secara merata (Cheaburu-Yilmaz *et al.*, 2019; Khandelwal *et al.*, 2016). Seperti halnya dispersi formula nanosuspensi nikotin oleat yang diketahui telah teruji meningkatkan efikasi yang lebih tinggi dengan level dosis lebih rendah terhadap serangga hama (Casanova *et al.*, 2002). Formula nanoemulsi maupun nanosuspensi dengan aplikasi surfaktan sederhana diketahui telah teruji meningkatkan afinitas dan mekanisme pengantaran bahan aktif dipermukaan daun (Forim *et al.*, 2003; Khandelwal *et al.*, 2016; Melanie *et al.*, 2022). Dengan demikian, formula nanosuspensi dapat menjadi solusi formula yang lebih ekonomis dan efisien dengan

target efektif terpapar pada serangga hama yang menyerang daun.

Formula ekstrak nano partikel *L. camara* dalam pelarut etanol diketahui dapat berpengaruh sebagai oral toksikan terhadap larva *Spodoptera litura*, dan berhasil meningkatkan mortalitas sebesar 3-10% dibandingkan ekstrak kasarnya (Kasmara *et al.*, 2018). Nanosuspensi FEA *L. camara* dalam media air dengan komposisi variasi Tween 80 sebagai surfaktan yang disemprotkan pada permukaan daun kubis diketahui pula meningkatkan efek antifidan dengan kategori antifidan kuat terhadap larva *C. pavonana* (Melanie *et al.*, 2020b). Terganggunya aktivitas makan serangga berpeluang besar berpengaruh terhadap mekanisme fisiologis lainnya terhadap serangga hama. Sejauh ini efek subletal nanosuspensi FEA *L. camara* terhadap lolos hidup dan perkembangan larva dan pupa *C. pavonana*, belum pernah diujikan. Pengaruh bioaktivitas bahan aktif yang tidak mematikan secara langsung, namun mengganggu mekanisme biologis serangga hama menjadi hal yang penting diteliti untuk mengantisipasi serangga hama yang telah resisten terhadap insektisida sintetik, seperti halnya *C. pavonana*. Di masa datang diharapkan, formula nanosuspensi FEA *L. camara* dapat diaplikasikan untuk pengendalian hama yang efisien, efektif dan menjadi solusi bagi permasalahan resistensi serangga hama.

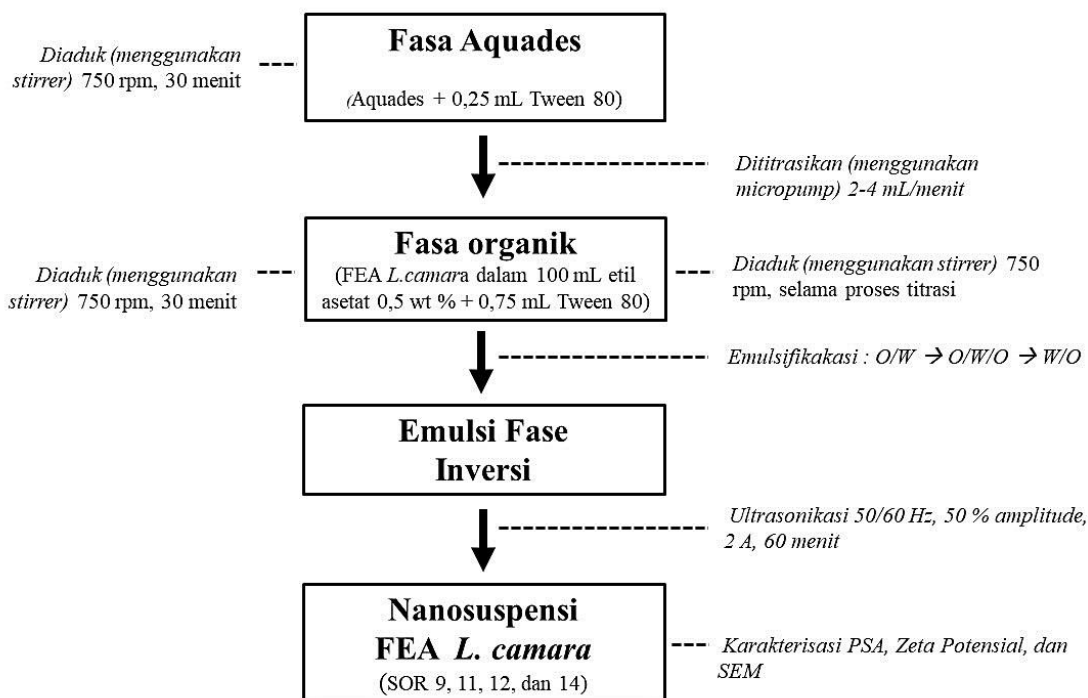
BAHAN DAN METODE

Daun *Lantana camara* yang digunakan merupakan tumbuhan yang tumbuh liar di lahan Arboretum Universitas Padjadjaran, Jatinangor Kabupaten Sumedang, Jawa Barat. Ekstrak daun *L. camara* diperoleh melalui metode maserasi simplisia daun dalam pelarut etanol 95% EMSURE® (Merck) yang dilanjutkan dengan ekstraksi dan fraksinasi. Fraksinasi menggunakan metode kromatografi cair-cair bertujuan untuk mempartisi senyawa ekstrak kasar berdasarkan sifat polaritasnya dengan menggunakan *n*-hexana, etil asetat, dan aquades (BRATACHEM) sebagai pelarut partisi. Berdasarkan hasil uji pendahuluan diketahui bahwa fraksi etil asetat merupakan fraksi aktif (Melanie *et al.*, 2020a), maka fraksi inilah yang dipilih untuk preparasi nano suspensi fraksi etil asetat (FEA) *L. camara*.

Preparasi nano suspensi mengacu pada formulasi nano suspensi terdahulu yang dilakukan oleh Melanie *et al.* (2020). Metode emulsifikasi ini menggunakan metode emulsi fase inversi (*emulsion*

phase inversion method) (Ostertag *et al.*, 2012; VINO & Durairaj, 2017) dengan dimodifikasi, serta Tween 80 (BRATACHEM) sebagai surfaktan dengan variasi Rasio Surfaktan-fase Organik (SOR) 9,11,12, dan 14. Ultrasonikasi (Fischer®-100) ditambahkan untuk

stabilisasi formula, dengan cara memecah aglomerasi dan mendispersikan nanosuspensi ke dalam sistem pelarut air. Tahapan preparasi dan karakterisasi dijelaskan melalui bagan alir seperti pada Gambar 1.



Gambar 1. Bagan alir pembuatan formulasi nanosuspensi EAF *L. camara* (Melanie *et al.*, 2020b).

Karakterisasi formula pra dan pasca emulsifikasi FEA *L. camara* menggunakan *Particle Size Analyzer* (PSA) dan analisis Zeta Potential (HORIBA® SZ-100) pada temperatur 25°C untuk mengukur diameter partikel, distribusi partikel, besaran indeks polidispersitas (PI), dan nilai potensial zeta yang menggambarkan ukuran partikel, dispersitas dan kestabilan partikel dalam sistem koloid. Profil morfologi suspensi di karakterisasi menggunakan *Scanning Electron Microcopy* (SEM) Jeol (JSM IT300) 10.000 × (5.0 kV). Uji bioassay menggunakan larva *Crocidolomia pavonana* instar 3 yang diperoleh dari perkebunan kubis organik Balai Penelitian Sayuran Indonesia (BALITSA) Lembang, Jawa Barat, Indonesia. Larva diaklimatisasi dan dipelihara dalam instrumen *insect rearing cabinet* (63,5×64×186,2 cm; suhu 25°C; kelembaban 70%) (Hermawan *et al.*, 2017).

Formula SOR terbaik dipilih dalam uji toksisitas berdasarkan hasil karakterisasi distribusi, ukuran diameter partikel, nilai PI dan nilai potensial zeta pada tiap-tiap variasi SOR. Uji toksisitas dilakukan untuk mengetahui nilai LC₅₀ 24, 48 dan 72 jam menggunakan analisis probit dengan SPSS versi

16.0. Kategori toksisitas yang mengacu pada kategori toksisitas EPA (Mossa *et al.*, 2018).

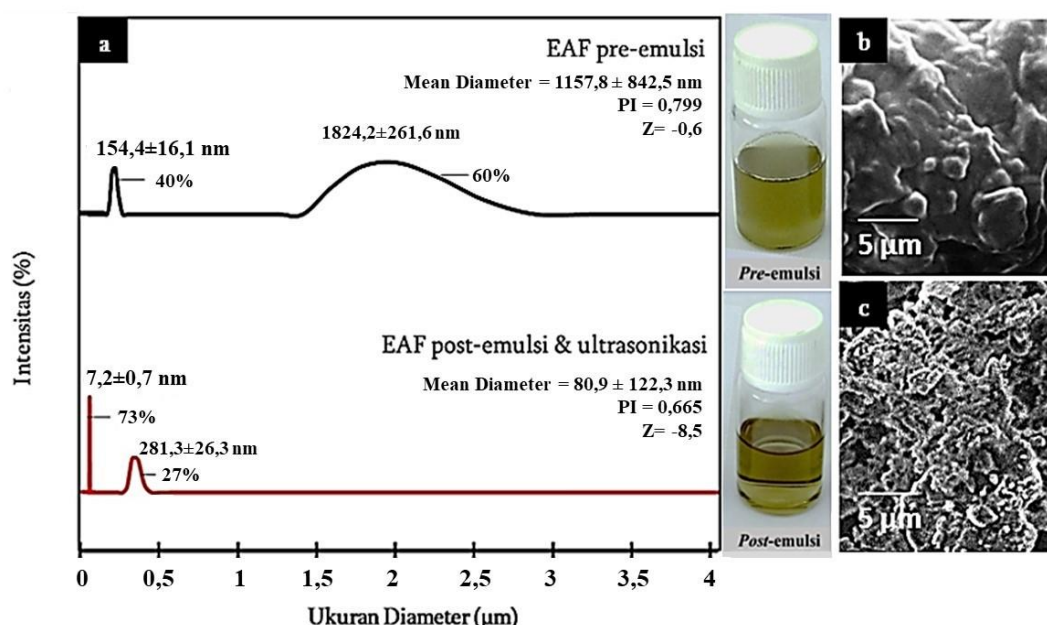
Uji hayati perkembangan dan lolos hidup menggunakan metode eksperimental uji hayati (*in vitro*) terhadap larva instar 3 *C. pavonana* hingga mencapai fase pupa. Rancangan penelitian menggunakan Rancangan Acak lengkap (RAL) dengan 3 kali pengulangan. Perlakuan terdiri dari 6 taraf formula (k) yaitu, k0: 0 (kontrol aquades); k1: pre-emulsi; k2: SOR 9; k3: SOR 11; k4: SOR 12; dan k5: SOR 14. Larva yang diujikan setiap perlakuan terdiri dari 5 ekor larva. Parameter yang diamati adalah rata-rata waktu perkembangan dan persentase lolos hidup *C. pavonana*. Morfologi larva dan pupa diamati sebagai parameter tambahan dan dianalisis secara deskriptif. Hasil uji homogenitas rata-waktu perkembangan dan persentase lolos hidup yang menunjukkan distribusi data yang normal selanjutnya dianalisis menggunakan uji ANOVA dan Uji Lanjutan Jarak Berganda Duncan (P<0.05), untuk melihat perbedaan nyata pengaruh tiap variasi perlakuan nano suspensi FEA *L. camara* terhadap perkembangan dan lolos hidup *C. pavonana*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakterisasi Formula Nanosuspensi FEA *L. camara*

Hasil formulasi FEA *L. camara* yang didispersikan dalam media pelarut air dengan metode emulsi fase inversi dengan modifikasi rasio surfaktan-fasa organik (SOR) 9,11,12 dan 14, diperoleh nanosuspensi FEA *L. camara* yang terdispersi dalam air (diameter partikel < 100 μm). Sebelum diemulsifikasi, ukuran rata-rata diameter partikel

suspensi $1157,8 \pm 842,5$ nm, dengan Zeta potensial -0,6 mV. Setelah diemulsifikasi dengan agitasi ultrasonikasi, ukuran diameter partikel menjadi $80,9 \pm 122,3$ nm, dengan Zeta potensial -8,5 mV (Gambar 2a). Nanosuspensi FEA *L. camara* yang dibandingkan dengan suspensi FEA *L. camara* sebelum emulsifikasi ditampilkan melalui grafik hasil karakterisasi PSA dan profil suspensi hasil foto SEM melalui Gambar 2b dan Gambar 2c.

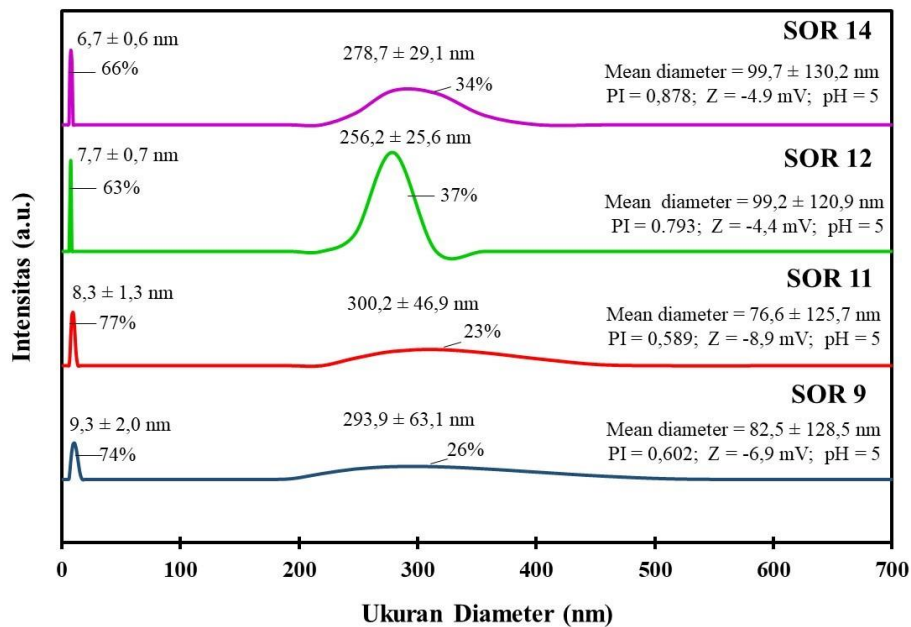


Gambar 2. Karakterisasi FEA *L. camara* sebelum dan sesudah emulsifikasi; a. Diameter partikel, nilai PI distribusi partikel, dan potensial zeta. Foto formula sebelum dan sesudah emulsifikasi, b. Profil SEM FEA *L. camara* (pre-emulsi), c. Profil SEM nanosuspensi FEA *L. camara* (post-emulsi).

Berdasarkan hasil karakterisasi PSA dan zeta potensial nanosuspensi FEA *L. camara* yang terdispersi dalam air pada berbagai variasi SOR, diketahui nanosuspensi dengan SOR 11 menunjukkan perbandingan komposisi surfaktan-fasa organik terbaik. Nanosuspensi dengan SOR 11 menghasilkan suspensi dengan ukuran nano terkecil ($D = 76,6$ nm) yang paling seragam/polidispersitas terkecil ($P = 0,589$) dan stabilitas dispersi terbaik ($Z = -8,9$ mV) dibandingkan variasi SOR lainnya (Gambar 3).

Melalui mekanisme emulsifikasi yang terjadi secara spontan, distribusi partikel homogen diseimbangkan oleh bagian surfaktan yang hidrofilik dan bagian lainnya yang mengikat molekul hidrofobik. Anionik surfaktan yang bersifat hidrofilik seperti halnya Tween 80, berperan sangat baik dalam keseimbangan hidrofil-lipofil dalam proses emulsifikasi (Pascual-Villalobos *et al.*, 2019). Pada metode emulsi dengan *low-energy method* terjadi

pertukaran fase O/W menjadi fase W/O dalam sistem surfaktan-minyak-air (SOW) (Cheaburu-Yilmaz *et al.*, 2019; Ostertag *et al.*, 2012). Proses difusi yang berlangsung cepat antara molekul surfaktan dan pelarut dari fase terdispersi ke fase kontinu memicu terbentuknya droplet emulsi berisi suspensi berukuran halus (Cheaburu-Yilmaz *et al.*, 2019; Solans & Solé, 2012). Penambahan surfaktan (Tween 80) juga berperan untuk menurunkan tegangan permukaan dengan cara mengikat ion hidrogen, sehingga gaya tolakan elektrostatis antar partikel meningkatkan dispersitas dan stabilitas partikel ditandai dengan kenaikan nilai potensial zeta (Kumar & Dixit, 2017). Karakterisasi kandungan kimia FEA *L. camara* melalui uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak daun *L. camara* diketahui mengandung metabolit golongan alkaloid, saponin, triterpenoid, dan steroid (Melanie *et al.*, 2020).

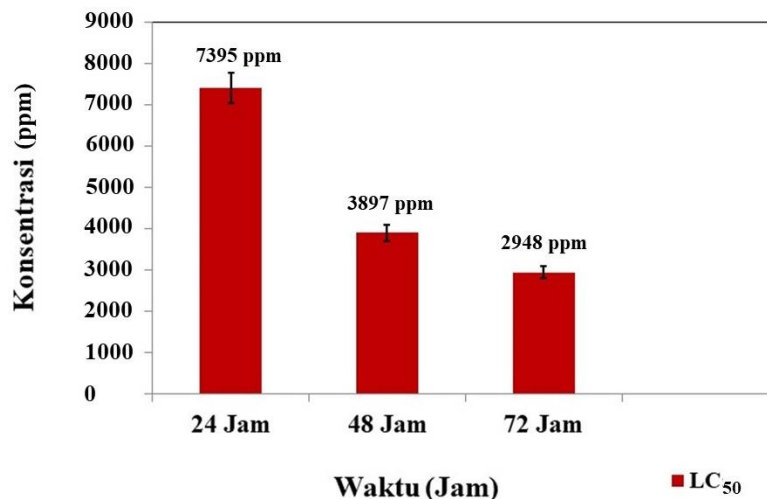


Gambar 3. Distribusi, ukuran diameter partikel, nilai PI dan nilai potensial zeta pada tiap-tiap variasi SOR.

Toksistas Nanosuspensi FEA *L. camara* terhadap Larva *C. pavonana*

Pengaruh pemaparan nanosuspensi FEA *L. camara* yang bersifat sub letal terhadap larva *C. pavonana* instar 3 ditunjukkan melalui nilai toksistas (LC_{50}) pada rentang waktu pemaparan selama 24, 48

dan 72 jam. Formula nanosuspensi yang diujikan adalah formula yang terbaik (SOR 11). Perbandingan nilai LC_{50} nanosuspensi FEA *L. camara* (SOR 11) pada tiap-tiap rentang waktu pemaparan terhadap larva *C. pavonana* ditunjukkan melalui Gambar 4.



Gambar 4. Perbandingan LC_{50} dalam tiap-tiap rentang waktu pemaparan (24, 48 dan 72 jam) nanosuspensi FEA *L. camara* SOR 11.

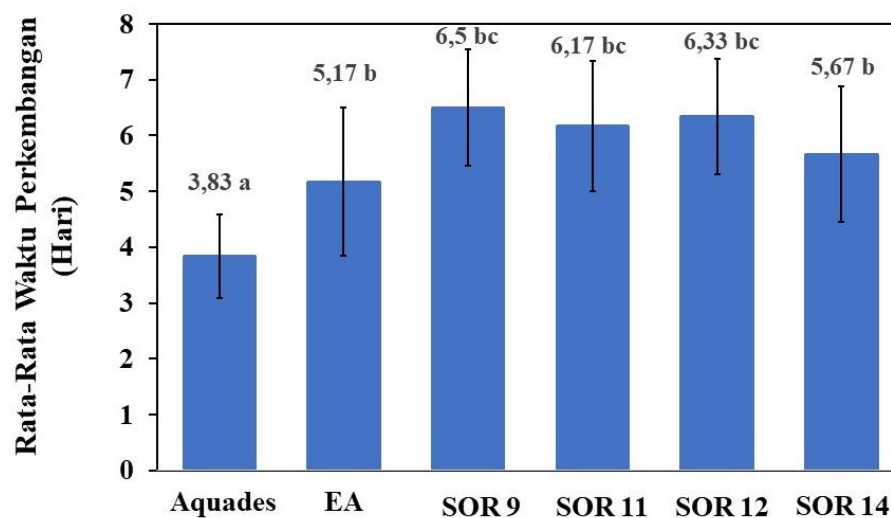
LC_{50} nanosuspensi FEA *L. camara* (SOR 11) yang terendah diperoleh dari pemaparan selama 72 jam (2948 ppm) dengan kategori toksistas rendah. Adapun LC_{50} untuk pemaparan nanosuspensi FEA *L. camara* (SOR 11) 24 jam (7395 ppm) dan 48 jam (3897ppm) termasuk kategori toksistas moderat.

Kategori toksistas mengacu EPA dalam Mossa *et al.*, (2018). Dengan demikian, karakteristik toksistas nanosuspensi FEA *L. camara* (SOR 11) bukan toksistas akut, karena tidak mengakibatkan pengaruh mematikan pada waktu yang singkat.

Pengaruh subletal nanosuspensi FEA *L. camara* memiliki keistimewaan sendiri, yakni tidak membunuh secara langsung namun memiliki efek kronis dan sistemik. Serangga yang terpapar toksikan secara akut lebih cepat beradaptasi dengan cekaman dan mengembangkan kemampuan toleransi dan beradaptasi dengan racun tersebut, hal ini yang memicu terjadinya resistensi. Bioaktivitas sub letal seperti halnya antifidan tidak hanya memberikan pengaruh pada perilaku makan tapi efek lanjutannya dengan menurunkan kualitas hidup serangga, seperti terhambat pertumbuhan, perkembangan, menurunkan fertilitas maupun viabilitas hidup serangga hama.

Pengaruh Nanosuspensi FEA *L. camara* terhadap Perkembangan dan Lolos Hidup Larva hingga Pupa *C. pavonana*

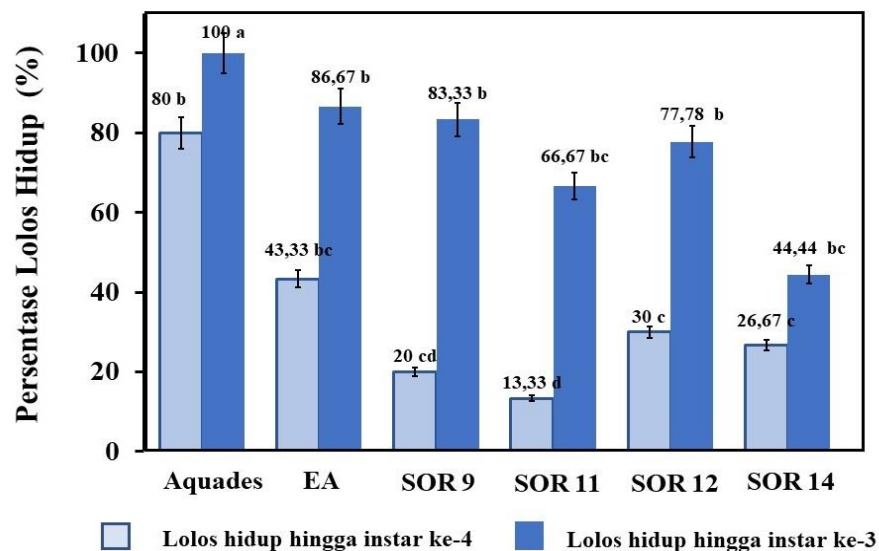
Hasil uji hayati menunjukkan nanosuspensi FEA *L. camara* pada berbagai variasi SOR berpengaruh secara nyata dalam menghambat lolos hidup dan perkembangan *C. pavonana* ($P < 0.05$) dibandingkan dengan kontrol (akuades). Lama waktu perkembangan instar 3 menuju instar 5 (pre-pupa) yang normal ditunjukkan oleh rata-rata waktu perkembangan kontrol (akuades), yaitu 3,83 hari. Larva yang terpapar ekstrak *L. camara* pre-emulsi (EA) maupun nanosuspensi *L. camara* menunjukkan rata-rata lama waktu perkembangan yang lebih lama dibandingkan dengan kontrol. Perkembangan larva instar 3 menuju pre-pupa terhambat pada periode waktu yang relatif sama di tiap-tiap perlakuan variasi SOR, dengan rata-rata waktu perkembangan terlama selama 6,5 hari pada perlakuan SOR 9 (Gambar 5).



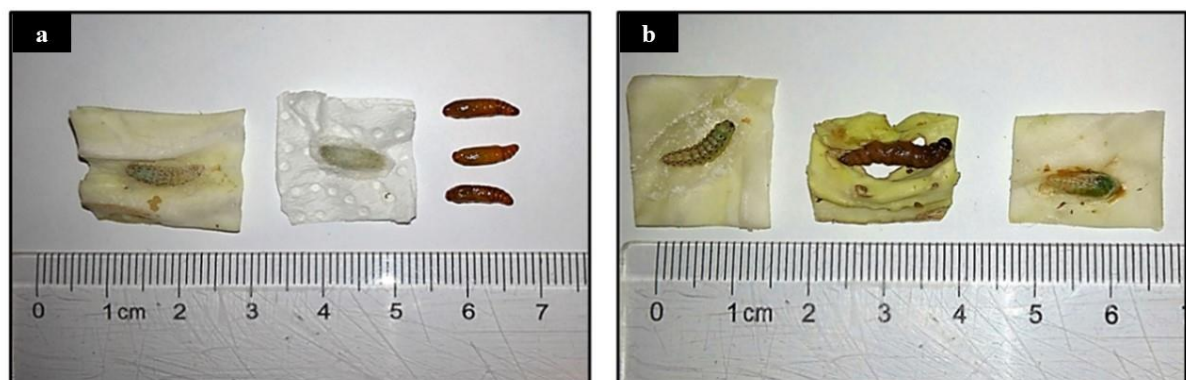
Gambar 5. Perbandingan rata-rata lama waktu perkembangan larva instar 3 menuju pre-pupa antara perlakuan kontrol (akuades) dibandingkan perlakuan pre-emulsi (EA) dan nanosuspensi FEA *L. camara* pada setiap variasi SOR.

Rata-rata instar 3 berhasil lolos hidup menuju fase pre-pupa, meskipun lolos hidup larva yang terpapar oleh nanosuspensi FEA *L. camara* pada seluruh variasi SOR maupun pre-emulsi (EA) rata-rata persentasenya lebih rendah dibandingkan kontrol. Selama perkembangan larva instar 4 menuju fase pupa, terlihat lolos hidup larva yang terpapar nanosuspensi FEA *L. camara* di tiap-tiap variasi SOR terhambat secara nyata menuju fase pupa *C. pavonana*. Persentase lolos hidup terendah pada perlakuan SOR 11 sebesar 13,33% (Gambar 6).

Adapun pemberian nanosuspensi FEA *L. camara* pada seluruh variasi SOR terhadap larva *C. pavonana* yang lolos hidup hingga fase pre-pupa, kenyataannya mengalami gagal perkembangan pupa. Hal ini diindikasikan dengan cacat dan kematian pupa diseluruh perlakuan SOR nanosuspensi FEA *L. camara*, sehingga tidak ada pupa yang lolos hidup menuju imago, berbeda halnya dengan pupa kontrol (akuades) yang berhasil *emerge* menjadi imago (Gambar 7).



Gambar 6. Perbandingan rata-rata persentase lolos hidup larva *C. pavonana* instar 3 menuju instar 4 dan persentase lolos hidup larva instar 4 menuju pupa, antara perlakuan kontrol (akuades) dibandingkan perlakuan pre-emulsi (EA) dan nanosuspensi FEA *L. camara* pada setiap variasi SOR.



Gambar 7. Perbandingan profil morfologi pupa normal dan abnormal. a. Pupa normal (kontrol) dan b. Pupa abnormal yang diberi perlakuan nanosuspensi *L. camara* dan gagal berkembang menjadi imago.

Hasil uji perkembangan-lolos hidup menunjukkan formula nanosuspensi berpengaruh dalam menghambat perkembangan dan lolos hidup larva *C. pavonana*. Kemampuan formula nanosuspensi FEA *L. camara* menghambat perkembangan pupa, merupakan temuan yang penting dalam studi ini, sehingga diperoleh cara terbaik memutus siklus hidup *C. pavonana*.

Tumbuh kembang dan lolos hidup larva dipengaruhi oleh faktor-faktor pendukung kehidupan, dan faktor yang paling utama adalah asupan nutrisi. Berdasarkan studi potensi antifidan ekstrak daun *L. camara* yang potensi antifidannya

jauh meningkat setelah di formulasi nanosuspensi (Melanie, 2020), maka dapat dipahami bahwa faktor terhambatnya aktivitas makan mengakibatkan asupan nutrisi yang menyokong berlangsungnya proses perkembangan yang normal menjadi terganggu (Susrama, 2017). Kegagalan proses tumbuh kembang pada larva dapat memperkecil presentase lolos hidup.

Berdasarkan hasil analisis kandungan fitokimia, ekstrak daun *L. camara* diketahui mengandung alkaloid, saponin, dan steroid (Melanie et al., 2020c). Saponin dan sterol merupakan zat yang diketahui sebagai toksikan pada saluran pencernaan

larva Lepidopteran (Paul & Choudhury, 2016). Interaksi antara konstituen *L. camara* seperti saponin, steroid, dan alkaloid diketahui memiliki bioaktivitas yang berhubungan dengan efek antifidan maupun toksisitas terhadap sejumlah serangga (Yuan & Hu, 2012). Fraksi aktif yang memiliki toksisitas moderat berpotensi memiliki bioaktivitas lainnya yang bersifat subletal di antaranya efek antifidan dan penghambat perkembangan (Isman, 2006). Steroid dalam bentuk fitosterol dapat dianalogikan dengan ekdisteroid, senyawa tersebut dapat memiliki efek sinergis dengan mengganggu metabolisme sterol dalam sistem pencernaan juga menghambat regulasi hormonal (Shields *et al.*, 2008; Chaubey, 2018; Singh & Kaur, 2018). Fitosterol diketahui dapat mengganggu regulasi hormon ekdison yang berperan mengatur mekanisme molting pada pergantian instar serangga dan menyebabkan terhambatnya perkembangan serangga (Chaubey, 2018).

Teknik emulsifikasi dengan komposisi SOR yang sesuai menghasilkan suspensi berukuran nano yang terdispersi dengan baik di dalam air dan meningkatkan *wettability*. Permukaan daun yang terbasahi merata berkorelasi terhadap meningkatnya sebaran droplet yang mengandung nanosuspensi. Oleh karena itu, FEA *L. camara* yang terkonsentrasi dan mengendap pada permukaan daun dan dapat efektif terpapar pada hama target larva *C. pavonana*. *C. pavonana* meletakkan telurnya di permukaan daun kubis, larva menetas pada permukaan daun dan langsung mengkonsumsi mesofil daun. Apabila bahan aktif melekat dan tersebar dengan baik pada permukaan daun hal ini akan meningkatkan sampainya bahan aktif ke hama sasaran. Terlebih, larva serangga hama seperti larva yang memiliki peluang terpapar insektisida lebih kecil, karena sebagian besar siklus instar lanjutnya berlangsung saat larva masuk ke dalam krop kubis. Diperlukan strategi penanganan yang sesuai dengan karakteristik serangga hama. Melalui aplikasi oral dipastikan larva terpapar bahan aktif karena larva harus mengkonsumsi daun untuk kelangsungan hidup, maka pemaparan bahan aktif melalui oral akan lebih efektif mengenai sasaran dibandingkan aplikasi kontak, khususnya untuk target bioaktivitas seperti antifidan dan penghambatan perkembangan serta lolos hidup terhadap serangga hama, khususnya larva *C. pavonana*.

Formula nanosuspensi yang unggul dan efektivitasnya terukur melalui peningkatan bioaktivitas. Rekayasa formula nano sangat menunjang performa biopestisida dengan efek

subletal. Hal ini sejalan dengan sejumlah studi formula biopestisida berbasis nano yang menunjukkan adanya peningkatan properti biopestisida saat diaplikasi terhadap serangga hama target (Melanie *et al.*, 2022). Hal ini dibuktikan melalui studi formula nanosuspensi ekstrak kasar nimba (0,5% w/v + Tween 80 0,5% w/v) yang memiliki bioktivitas antifidan meningkat terhadap larva *Plutella xylostela*. Nanosuspensi diketahui memiliki efikasi yang lebih baik dibandingkan ekstrak kasar (Forim *et al.*, 2013). Formula nanosuspensi dengan konsentrasi lebih rendah terbukti memiliki efikasi tinggi dibandingkan ekstrak kasar ataupun mikrosuspensi (Casanova *et al.*, 2002; Chin *et al.*, 2011). Ekstrak kasar etanol *L. camara* dalam formula nano partikel diketahui dapat meningkatkan mortalitas larva *S. litura* sebesar 3-10% (Kasmara *et al.*, 2018).

Nanosuspensi FEA *L. camara* melalui studi ini telah teruji memiliki potensi yang sangat baik dalam menghambat perkembangan dan menurunkan persentase lolos hidup larva *C. pavonana*, disamping potensi yang telah diketahui sebelumnya sebagai antifidan (Melanie *et al.*, 2019). Aktivitas antifidan ekstrak kasar etanolik *L. camara* terhadap larva *C. pavonana* karakter antifidannya meningkat menjadi kategori antifidan kuat setelah diformulasikan menjadi nanosuspensi fraksi etil asetat *L. camara* (Melanie *et al.*, 2020b). Dalam nano formula, bahan aktif yang terkandung dalam FEA *L. camara* berukuran nano terlindung dalam *micell*, terdispersi dan menempel di permukaan daun dengan sebaran merata, sehingga meningkatkan efektifitas maupun efisiensi paparan bahan aktif terhadap larva *C. pavonana* (Melanie *et al.*, 2022). Semakin besar gangguan terhadap regulasi pencernaan akan memperkecil keberhasilan perkembangan dan lolos hidup serangga (Susrama, 2017). Pengaruh subletal nanosuspensi FEA *L. camara* tidak mengakibatkan terbunuhnya larva *C. pavonana* secara langsung, namun memperkecil peluang hidup *C. pavonana* juga mempersempit peluang terjadinya resistensi *C. pavonana*. Serangga hama yang terhambat makan dan terganggu kelangsungan hidup dan perkembangannya akan mati kelaparan atau dipermudah menjadi mangsa predator, sehingga keseimbangan rantai makanan dapat tetap terpelihara (Zaller & Brühl, 2019). Rekayasa formula nanosuspensi berhasil meningkatkan efektivitas dan efisiensinya. Hal ini menjadi inovasi penting dalam pengembangan formula FEA *L. camara* sebagai biopestisida penghambat aktivitas makan,

penghambat perkembangan dan lolos hidup serangga hama yang prospektif untuk pengendalian *C. pavonana* yang berkelanjutan.

SIMPULAN

Formula nanosuspensi FEA *L. camara* yang terdispersi dalam pelarut air sehingga dapat membasahi permukaan daun kubis dengan merata sehingga efektif terhadap hama sasaran. Hal ini diperoleh melalui metode emulsi fase inversi (*emulsion phase inversion method*) dengan berbagai variasi komposisi SOR. Pengaruh subletal nanosuspensi FEA *L. camara* teruji sebagai toksikan moderat terhadap larva *C. pavonana*, dan berpengaruh dalam menghambat perkembangan dan lolos hidup larva, serta menyebabkan pupa gagal berkembang ke fase imago. Hal ini merupakan prospek bagi pengendalian *C. pavonana* yang lebih efisien, efektif, rendah konsentrasi toksikan, sehingga relatif aman bagi manusia maupun lingkungan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai melalui hibah riset Unpad *Academic Leadership Grant (ALG)* 2021-2022, dan hibah kompetisi nasional Penelitian Terapan Unggulan Perguruan Tinggi (PTUPT) 2021-2022, bekerjasama dengan Pusat Unggulan Iptek Perguruan Tinggi Nanopowder Functional (*Finder U-CoE*), Universitas Padjadjaran.

DAFTAR PUSTAKA

- Ayalew, AA. 2020. Insecticidal activity of *Lantana camara* extract oil on controlling maize grain weevils. *Toxicology Research and Application*. 4 :1-10. <https://doi.org/10.1177/239784732090649>.
- Casanova, H, C Ortiz, C Peláez, A Vallejo, ME Moreno, and M Acevedo. 2002. Insecticide formulations based on nicotine oleate stabilized by sodium caseinate. *Journal of Agricultura and Food Chemistry*. 50 (22): 6389–6394.
- Chaubey, MK. 2018. Role of phytoecdysteroids in insect pest management – A review. *Journal of Agronomy*. 17 (1): 1–10.
- Cheaburu-Yilmaz, CN, HY Karasulu, and O Yilmaz. 2019. Nanoscaled dispersed systems used in drug-delivery application. *In Pp.* 437–468
- Polymeric Nanomaterials in Nanotherapeutics. Elsevier Inc.
- Danuji, S, dan SD Anitasari. 2018. Efektivitas biopestisida daun tembelekan (*Lantana camara*) terhadap hama kutu daun *Aphis* sp. pada tanaman cabai. *Bioma: Jurnal Biologi dan Pembelajaran Biologi*. 3: 44–53.
- Dono, D, YD Pratiwi, S Ishmayana, and D Priyono. 2019. Resistance level of *Crociodolomia pavonana* against profenofos synthetic insecticide and its susceptibility to *Azadirachta indica* seed extract. *Cropsaver*. 1(2): 74-84
- Forim, MR, ES Costa, MF Da Silva, JB Fernandes, JM Mondego, and AL Boiça Junior. 2013. Development of a new method to prepare nano-microparticles loaded with extracts of *Azadirachta indica*, their characterization and use in controlling *Plutella xylostella*. *Journal of Agricultura and Food Chemistry*. 61 (38): 9131–9139.
- Frasawi, O, M Tulung, dan BAN Pinaria. 2016. Efektivitas ekstrak akar tuba terhadap hama ulat kubis *Crociodolomia pavonana* di Kota Tomohon. *Jurnal LPPM Bidang Sains dan Teknologi*. 3 (2): 43–53.
- Lengai GMW, W James, and ERM Muthomi. 2020. Phytochemical activity and role of botanical pesticides in pest management for sustainable agricultural crop production. *Scientific African*. (7)e00239: 1–13.
- Hermawan, W, H Kasmara, M Melanie, C Panatarani, and IM Joni. 2017. Recent advances of rearing cabinet instrumentation and control system for insect stock culture, in *AIP Conference Proceedings*.
- Isman, MB. 2006. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annual Review Entomology*. 51: 45–66.
- Kala, S, N Sogan, A Agarwal, SN Naik, PK Patanjali, and J Kumar. 2020. Biopesticides: formulations and delivery techniques. *In Pp.* 209-220 *Natural Remedies for Pest, Disease and Weed Control*. Academic Press.
- Kasmara, H, M Melanie, DA Nurfajri, W Hermawan, and C Panatarani. 2018. The toxicity evaluation of prepared *Lantana camara* nano extract against *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae), in *AIP Conference Proceedings*.
- Khandelwal, N, RS Barbole, SS Banerjee, GP Chate, AV Biradar, JJ Khandare, and AP Giri. 2016.

- Budding trends in integrated pest management using advanced micro and nano materials: Challenges and perspectives. *Journal of Environmental Management*. 184 (Part-2): 157–169
- Koul, O. 2016. Antifeedant Phytochemicals in Insect Management (So Close Yet So Far). *In Pp.* 525–544 *Eco-friendly Pest Management for Food Security*, Elsevier Inc.
- Kumar, A, and CK Dixit. 2017. Methods for characterization of nanoparticles. *In Pp.* 44–58 *Advances Nanomedicine for the Delivery of Therapeutic Nucleic Acids*, Elsevier Ltd.
- Mahbubul, IM. 2019. Stability and dispersion characterization of nanofluid. *In Pp.* 47–112 *Preparation, Characterization, Properties and Application of Nanofluid*, Elsevier Inc.
- Melanie, M, W Hermawan, H Kasmara, AK Hayyuna, F Rozi, and C Panatarani. 2019. Antifeedant activity of ethanolic leaf extract of *Lantana camara* against *Crocidolomia pavonana* and *Spodoptera litura*. *Journal of Powder Technology and Advanced Functional Material*. 1 (2): 15–25.
- Melanie, M, W Hermawan, H Kasmara, AK Hayyuna, MM Rustama, C Panatarani. 2020a. Antifeedant properties of fractionation *Lantana camara* leaf extract on cabbage caterpillars (*Crocidolomia pavonana* Fabricius) larvae. *IOP Conference Series Earth Environment Science*. 457.
- Melanie, M, FY Kosasih, H Kasmara, DM Malini, C Panatarani, IM Joni, T Husodo, and W Hermawan. 2020b. Antifeedant activity of *Lantana camara* nanosuspension prepared by reverse emulsion of ethyl acetate active fraction at various surfactant organic-phase ratio. *Biocatalysis Agricultural Biotechnology*. 29, 101805: 1-9
- Melanie, M, W Hermawan, H Kasmara, and C Panatarani. 2020c. Physicochemical characterizations and insecticidal properties of *Lantana camara* leaf ethanolic extract with powder application. *AIP Conf. Proceedings* 2219, 040002.
- Melanie, M, M Miranti, H Kasmara, DM Malini, T Husodo, C. Panatarani, IM Joni, and W Hermawan. 2022. Nanotechnology-based bioactive antifeedant for plant protection. *Nanomaterials*. 12 (4) 630: 1-32..
- Miresmailli, S, and MB Isman, Botanical insecticides inspired by plant-herbivore chemical interactions. *Trends in Plant Science*. 19 (1): 29–35.
- Mossa, ATH, SMM Mohafrash, and N Chandrasekaran. 2018. Safety of natural insecticides: Toxic effects on experimental animals. *Biomed Research International*. 2018: 4308054.
- Ostertag, F, J Weiss, and DJ McClements. 2012. Low-energy formation of edible nanoemulsions: Factors influencing droplet size produced by emulsion phase inversion. *Journal of Colloid Interface Science*. 388 (1): 95–102.
- Pascual-Villalobos, MJ, P Guirao, FG Díaz-Baños, M Cantó-Tejero, and G Villora. 2019. Oil in water nanoemulsion formulations of botanical active substances. *In Pp.* 223–247 *Nano-Biopesticides Today and Future Perspectives*. Elsevier Inc.
- Patra, S, P Ganguly, SR Barik, A Goon, J Mandal, A Samanta, and A Bhattacharyya. 2020. Persistence behaviour and safety risk evaluation of Pyridalyl in tomato and cabbage. *Food Chemistry*. 309,125711:1-25
- Paul, D, and M Choudhury. 2016. Larvicidal and antifeedant activity of some indigenous plants of Meghalaya against 4th instar *Helicoverpa armigera* (Hübner) larvae. *Journal of Crop Protection*. 5 (3): 447-460.
- Ramasamy, S, P Sotelo, MY Lin, CH Heng, S Kang, and S Sarika. 2020. Validation of a bio-based integrated pest management package for the control of major insect pests on chinese mustard in Cambodia. *Crop Protection*. 135, 104728: 1-8.
- Singh, B, and A Kaur. 2018. Control of insect pests in crop plants and stored food grains using plant saponins- A review. *LWT Food Science and Technology*. 87: 93–101.
- Solans, C, and I Solé. 2012. Nano-emulsions: Formation by low-energy methods. *Current Opinion Colloid Interface Science*. 17(5): 246–254.
- Susrama, IGK. 2017. Kebutuhan nutrisi dan substansi dalam pakan buatan serangga. *Jurnal Agroekoteknologi Tropika*. 6 (3): 310–318.
- Vino, U, and B Durairaj. 2017. Nanoemulsion formulation useful as a new tool for mosquito control. *International Journal of Current Research*. 9 (11): 60267-60270.
- Yuan, Z, and XP Hu. 2012. Repellent, antifeedant, and toxic activities of *Lantana camara* leaf extract against *Reticulitermes flavipes*

- (Isoptera: Rhinotermitidae). *Journal of Economic Entomology*. 105(6): 2115–2121.
- Zaller, JG, and CA Brühl. 2019. Editorial: Non-target effects of pesticides on organisms inhabiting agroecosystems. *Frontiers in Environmental Science*. 7 (75): 1-3.
- Zhang, XP, TF Jing, DX Zhang, J Luo, BX Li, and F Liu. 2018. Assessment of ethylene glycol diacetate as an alternative carrier for use in agrochemical emulsifiable concentrate formulation. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 163: 349–355.