



Gangguan fisiologi dan biokimia *Crocidolomia pavonana* (F.) (Lepidoptera: Crambidae) akibat perlakuan ekstrak campuran *Tephrosia vogelli* dan *Piper aduncum*

Physiological and biochemical interferences caused by treatment of mixture extracts of *Tephrosia vogelli* and *Piper aduncum*

Eka Candra Lina^{1,2*}, Dadang², Syafrida Manuwoto², Gustini Syahbirin³

¹Jurusan Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Andalas
Kampus Unand Limau Manis, Padang 25163

²Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor
Jalan Kamper, Kampus IPB Dramaga, Bogor 16680

³Departemen Kimia, Fakultas MIPA, Institut Pertanian Bogor
Gedung Fapet Wing 2 Lt 4, Kampus IPB Dramaga, Bogor 16680

(diterima September 2014, disetujui Mei 2015)

ABSTRACT

Ekstrak tanaman dapat mempengaruhi fisiologi dan biokimia serangga yang meliputi penghambatan makan, asimilasi makanan, dan aktivitas enzim detoksifikasi, yaitu sitokrom b5 dan sitokrom P450. Penelitian ini bertujuan untuk menguji pengaruh ekstrak campuran *Tephrosia vogelii* : *Piper aduncum* (1 : 5) terhadap fisiologi *Crocidolomia pavonana* (F.) dan pengaruh ekstrak *P. aduncum* terhadap biokimia *C. pavonana*. Pengujian ekstrak campuran *T. vogelii* : *P. aduncum* (1 : 5) pada konsentrasi 0,06% atau setara dengan LC₉₅ menghambat makan larva *C. pavonana* hingga 94,82%. Ekstrak campuran yang diuji pada LC₂₅ (0,007%) dan LC₅₀ (0,014%) menyebabkan gangguan pertumbuhan relatif larva *C. pavonana*. Gangguan ini disebabkan oleh toksisitas intrinsik ekstrak campuran yang masuk ke dalam tubuh serangga. Selain gangguan pada pertumbuhan larva uji, juga terjadi peningkatan daya cerna serangga sebesar 11,11% sebagai bentuk adaptasi terhadap senyawa toksik tumbuhan. Adaptasi lain yang dilakukan larva *C. pavonana* adalah mekanisme detoksifikasi terhadap ekstrak *P. aduncum*. Hal ini tampak dari peningkatan aktivitas enzim oksidasi sitokrom b5 dan sitokrom P450 pada perlakuan *in vivo* dan *in vitro* jika dibandingkan dengan kontrol. Penelitian ini memberikan informasi mengenai cara kerja ekstrak campuran *T. vogelii* : *P. aduncum* (1 : 5) pada larva *C. pavonana* dan mekanisme detoksifikasi larva terhadap ekstrak *P. aduncum*.

Key words: antifeedant, asimilasi, enzim, oksidasi, sitokrom

ABSTRAK

Plant extracts have been known to cause physiological and biochemical interferences against insect, such as feeding inhibitor, food assimilation, and changes on activity of cytochrome b5 and cytochrome P450. This study was carried out to examine the effect of the extracts mixture of *Tephrosia vogelii* and *Piper aduncum* (1 : 5) on the physiology of *Crocidolomia pavonana* (F.) as well as extract of *P. aduncum* on biochemical of *C. pavonana*. The study showed that larvae of *C. pavonana* was experiencing a feeding inhibition until 94.82% after treated with extracts mixture on concentration 0.06% or equivalent to LC₉₅. However, larvae treated with extracts mixture on LC₂₅

*Penulis korespondensi: Eka Candra Lina, Universitas Andalas Padang, Fakultas Pertanian, Jurusan Agroteknologi,
Kampus Unand Limau Manis, Padang 25163
Tel: 0813-82568905, Email: trijata1012@yahoo.com

and LC_{50} only experienced a relative growth disorders as a result of intrinsic toxicity of extracts mixture which enters into the body of insects. Insect adaptation to toxic plant compounds indicated by an increase in the digestibility of larvae approximately 11.11%. Furthermore, detoxification mechanism by larvae against active compounds of *P. aduncum* occurred and shown by an increase of oxidative enzyme activity of cytochrome b5 and cytochrome P450, in in vivo and in vitro compared to control. This study provides an information about mode of action of extracts mixture of *T. vogelii* and *P. aduncum* (1 : 5) on larvae of *C. pavonana* and detoxification mechanism by larvae due to extract of *P. aduncum*

Kata kunci: antifeedant, assimilation, cytochrome, enzyme, oxidation

PENDAHULUAN

Keberadaan metabolit primer dan metabolit sekunder tanaman menjadi penentu dalam interaksi serangga dengan tanaman inangnya (Fraenkel 1969; Schoonhoven 2005). Nutrisi berupa protein, karbohidrat dan lemak sangat mempengaruhi kebugaran serangga dan keturunannya, sebaliknya keberadaan metabolit sekunder tanaman secara langsung dan tidak langsung menjadi pembatas bagi kehidupan serangga (Schoonhoven 2005). Metabolit sekunder tanaman dapat menghambat makan (*antifeedant*), menyebabkan kematian, menghambat peneluran, mengganggu aktivitas pengaturan pertumbuhan, dan menghambat reproduksi.

Kesesuaian tanaman sebagai sumber makanan dapat diketahui dengan melakukan uji asimilasi makanan oleh serangga, yang dihitung berdasarkan metode gravimetri (Waldbauer 1968). Keberadaan senyawa asing pada makanan menyebabkan serangga meninggalkan tanaman tersebut atau beradaptasi. Bentuk adaptasi yang dilakukan serangga antara lain melakukan detoksifikasi senyawa alelokimia tanaman melalui degradasi secara enzimatis. Enzim yang paling sering dipelajari dan efektif memetabolisme toksikan adalah sitokrom P450-monooksigenase disebut juga polisubstrat monooksigenase (PSMOs) atau *mixed-function oxidase* (MFO) (Dauterman & Hodgson 1978).

Beberapa tanaman yang diketahui memiliki dampak negatif bagi serangga adalah *Piper aduncum* (Piperaceae) dan *Tephrosia vogelii* (Leguminosae). Daun *T. vogelii* diketahui mengandung senyawa kelompok isoflavonoid seperti rotenon dan senyawa rotenoid lain yang bersifat insektisida, yaitu deguelin dan tefrosin (Delfel et al. 1970; Gaskins et al. 1972; Lambert et al. 1993). Tumbuhan famili Piperaceae selain bersifat toksik diketahui memiliki sifat sinergis. Senyawa lignan

yang mengandung gugus metilendioksifenil dapat menghambat aktivitas enzim sitokrom P450 (Metcalf 1967; Bernard et al. 1989). Menurut Bernard et al. (1990), dilapiol yang berasal dari *P. aduncum* dapat menghambat aktivitas enzim sitokrom P450 dalam sediaan mikrosom dari sel-sel saluran pencernaan larva penggerek batang jagung *Ostrinia nubilalis* (Hübner). Sifat sinergis ini sangat menguntungkan untuk pengembangan insektisida nabati campuran sebagai alternatif pengendalian di masa yang akan datang. Penelitian ini bertujuan untuk melihat pengaruh ekstrak *T. vogelii* dan *P. aduncum* terhadap fisiologi dan biokimia *Crocidolomia pavonana* (Fabricius).

BAHAN DAN METODE

Tempat dan waktu penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Fisiologi dan Toksikologi Serangga, Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor (IPB), dan Laboratorium Penelitian dan Pelayanan Kimia, Universitas Padjajaran, Bandung, pada bulan Maret 2013 sampai September 2013.

Ekstraksi dan pencampuran ekstrak

Ekstraksi *P. aduncum*, dan *T. vogelii* dilakukan dengan metode perendaman/maserasi menggunakan pelarut etil asetat. Pemilihan pelarut berdasarkan penelitian sebelumnya dan studi literatur. mengacu pada penelitian ekstrak kasar yang dilakukan oleh Abizar & Prijono (2010); Nailufar (2011); Lago et al. (2009); dan Flores et al. (2009). Sifat aktivitas campuran dianalisis berdasarkan model kerja bersama berbeda dengan menghitung indeks kombinasi pada taraf LC_{50} dan LC_{95} . Indeks kombinasi (IK) pada taraf LC_x

tersebut dihitung dengan rumus Chou & Talalay (1984). Campuran yang memiliki nilai IK paling kecil digunakan dalam pengujian penghambat makan dan asimilasi makanan.

Destilasi buah *P. aduncum*

P. aduncum yang diperoleh dari areal kampus IPB disiapkan sebanyak 500 g kemudian didestilasi selama dua jam sejak air di dalam labu mendidih. Minyak yang menetes pada kolom penampung kemudian dipindahkan secara perlahan ke dalam botol kaca. Magnesium sulfat digunakan untuk menghilangkan air yang tersisa di dalam cairan ekstrak yang diperoleh. Ekstrak hasil destilasi digunakan dalam perlakuan analisis enzim sitokrom P450 dan sitokrom b5 larva *C. pavonana*.

Percobaan pengaruh ekstrak campuran *T. vogelii* : *P. aduncum* (1 : 5) terhadap aktivitas penghambat makan larva *C. pavonana*

Aktivitas penghambat makan ekstrak campuran diuji terhadap *C. pavonana* dengan metode residu pada daun tanpa pilihan. Dua lembar daun perlakuan dan kontrol dimasukkan ke dalam cawan petri terpisah yang sudah dialasi tisu. Lima belas ekor larva *C. pavonana* instar 2 dimasukkan ke dalam cawan petri dan dibiarkan makan daun percobaan selama 24 jam. Luas daun yang dimakan langsung dipetakan di atas kertas milimeter untuk dihitung jumlah luas daun yang dimakan. Percobaan disusun dalam rancangan acak lengkap dengan lima perlakuan dan lima ulangan ditambah kontrol. Pengaruh penghambatan makan tanpa pilihan (PM) dihitung dengan rumus:

$$PM = [1 - (Lp/Lk)] \times 100\%, \text{ dengan}$$

Lk: luas daun kontrol yang dimakan; Lp: luas daun perlakuan yang dimakan.

Perbedaan antara luas daun perlakuan dan luas daun kontrol yang dimakan dianalisis dengan sidik ragam yang dilanjutkan dengan uji selang berganda Duncan pada taraf nyata 5% (Steel et al. 1997).

Percobaan pengaruh ekstrak campuran *T. vogelii* : *P. aduncum* (1 : 5) terhadap asimilasi makanan larva *C. pavonana*

Pengaruh ekstrak campuran *T. vogelii* : *P. aduncum* (1 : 5) terhadap efisiensi asimilasi makanan larva *C. pavonana* instar ke-3 diuji pada

konsentrasi LC₂₅ dan LC₅₀. Larva yang digunakan dalam percobaan ditimbang satu per satu, kemudian dimasukkan ke dalam cawan petri yang di dalamnya telah berisi daun perlakuan (4 cm x 4 cm) yang telah diketahui bobotnya. Perlakuan ini menggunakan 15 ekor larva *C. pavonana* instar ke-3. Pengamatan dilakukan 48 jam setelah perlakuan, kemudian larva uji, pakan yang tersisa, dan fesesnya dikeringkan di dalam oven secara terpisah pada suhu 100 °C sampai bobotnya konstan. Untuk memperkirakan bobot kering awal, 10 larva dan 10 daun contoh (dengan ukuran yang sama seperti yang digunakan dalam perlakuan) ditimbang secara terpisah kemudian langsung dikeringkan sampai bobotnya konstan dan ditimbang lagi. Perbandingan bobot larva atau pakan sesudah dan sebelum pengeringan merupakan proporsi bobot kering terhadap bobot basah.

$$\text{Bobot kering (BK)} = \text{bobot basah} \times \frac{\text{BK contoh}}{\text{BB contoh}}$$

Data yang diperoleh digunakan untuk menentukan nilai parameter efisiensi pemanfaatan makanan. Parameter yang diukur dalam percobaan ini ialah laju konsumsi (LK), laju konsumsi relatif (LKR), laju pertumbuhan (LP), laju pertumbuhan relatif (LPR), daya cerna (DC), efisiensi konversi makanan dikonsumsi (EMK), dan efisiensi konversi makanan dicerna (EMC), yang dihitung berdasarkan gravimetrik (Waldbauer 1968). Data setiap parameter tersebut diolah dengan sidik ragam dan perbandingan nilai tengah antardosis dilakukan dengan uji Duncan pada taraf nyata 5% (Steel et al. 1997).

Percobaan pengaruh ekstrak *P. aduncum* terhadap aktivitas enzim detoksifikasi sitokrom b5 dan sitokrom P450

Analisis enzim sitokrom P450 dan sitokrom b5 dilakukan secara *in vivo* dan *in vitro*. Pengujian secara *in vivo* diawali dengan memberi larva *C. pavonana* instar 3 perlakuan ekstrak hasil destilasi *P. aduncum* 0,24% (LC₅₀) dengan metode residu pada daun. Larva dibiarkan memakan daun perlakuan selama dua hari, setelah ganti kulit menjadi instar 4 larva kemudian dibedah dan diambil saluran pencernaan bagian tengah sebagai sumber enzim (Kranthi 2005). Pada pengujian *in vitro* sebanyak 100 µl minyak *P. aduncum* hasil destilasi

yang telah diencerkan dengan buffer sebanyak 100 kali dimasukkan ke dalam kuvet yang berisi enzim. Prosedur lainnya tidak berbeda dengan perlakuan *in vivo* seperti metode yang dikemukakan oleh Omura & Sato (1964) dan Kranthi (2005).

Data hasil pengukuran sampel pada absorbansi (ABS) tertentu menggunakan spektrofotometer digunakan untuk menghitung aktivitas sitokrom b5 dan sitokrom P450 per mg protein dengan rumus yang dikemukakan oleh Kranthi (2005) berikut ini.

$$\text{Sitokrom b5 } (\mu\text{M}) = \frac{(\text{ABS pada 424} - \text{ABS pada 409}) \times 1000}{184}$$

$$\text{Sitokrom 450 } (\mu\text{M}) = \frac{(\text{ABS pada 450} - \text{ABS pada 490}) \times 1000}{91}$$

HASIL

Pengaruh ekstrak campuran *T. vogelii* : *P. aduncum* (1 : 5) terhadap aktivitas penghambat makan larva *C. pavonana*

Hasil pengujian ekstrak campuran *T. vogelii* : *P. aduncum* (1 : 5) menunjukkan persentase penghambatan makan yang semakin meningkat dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak yang

diaplikasikan. Penghambatan pada konsentrasi 0,004% mencapai 16,21%. Pada dua konsentrasi tertinggi, yaitu 0,03% dan 0,06%, penghambatan makan yang terjadi mencapai 72,07% dan 94,82% (Tabel 1). Laju pertumbuhan larva uji tidak berbeda nyata dengan kontrol sedangkan laju pertumbuhan relatif larva perlakuan mengalami penurunan yang signifikan (Tabel 2).

Pengaruh ekstrak campuran *T. vogelii* : *P. aduncum* (1 : 5) terhadap asimilasi makanan larva *C. pavonana*

Hasil pengujian efisiensi makanan oleh larva *C. pavonana* yang diberi perlakuan ekstrak campuran *T. vogelii* : *P. aduncum* (1 : 5) tampak pada Tabel 2. Laju konsumsi dan laju konsumsi relatif larva *C. pavonana* yang diberi perlakuan tidak berbeda nyata dengan kontrol. Larva uji memakan daun perlakuan seperti biasa tanpa terganggu oleh adanya komponen aktif yang berasal dari *T. vogelii* dan *P. aduncum*. Hal ini konsisten dengan pengujian efek *antifeedant*, yaitu efek penghambatan tidak terjadi pada konsentrasi rendah. Pada konsentrasi 0,007% atau setara LC_{25} laju konsumsi sebesar 0,005 mg/hari, begitu juga pada konsentrasi 0,014% yang setara LC_{50} laju konsumsi tidak berkurang tetap sebesar 0,005 mg/hari.

Tabel 1. Efek *antifeedant* ekstrak campuran *Tephrosia vogelii* : *Piper aduncum* (1 : 5) terhadap *Crocidolomia pavonana*

Perlakuan (%)	Daun dikonsumsi (%)*	Penghambatan (%)*
Kontrol (0)	8,88 a	-
C5 (0,004)	7,44 ab	16,21 ab
C4 (0,008)	6,55 ab	26,24 ab
C3 (0,015)	5,91 b	33,45 b
C2 (0,030)	2,48 c	72,07 c
C1 (0,060)	0,46 c	94,82 c

*Angka selajur yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata (uji Duncan, $\alpha = 0,05$).

Tabel 2. Pengaruh ekstrak campuran *Tephrosia vogelii* : *Piper aduncum* (1 : 5) terhadap indeks efisiensi pemanfaatan makanan larva *Crocidolomia pavonana*

Konsentrasi (%)	Laju konsumsi (mg/hari)*		Laju pertumbuhan (mg/hari)*		Efisiensi pemanfaatan makanan (%)*		
	LK	LKR	LP	LPR	DC	EMK	EMC
Kontrol	0,008 a	1,49 a	0,0022 a	0,421 a	0,008 a	8,65 a	11,02 a
0,007/ LC_{25}	0,005 a	1,33 a	0,0019 a	0,390 b	0,009 b	10,37 a	10,78 a
0,014/ LC_{50}	0,005 a	1,22 a	0,0016 a	0,399 b	0,009 b	4,13 a	4,61 a

*Angka selajur yang diikuti dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata (uji Duncan, $\alpha = 0,05$).

Pengaruh ekstrak *P. aduncum* terhadap aktivitas enzim detoksifikasi sitokrom b5 dan sitokrom P450

Hasil analisis enzim secara keseluruhan dapat dilihat pada Tabel 3. Aktivitas spesifik sitokrom b5 pada perlakuan *in vitro* memberikan hasil paling tinggi, yaitu sebesar 0,931 nmol/mg protein, kemudian diikuti oleh perlakuan *in vivo* dan yang terakhir kontrol dengan nilai berturut-turut 0,378 dan 0,047 nmol/mg protein. Pola yang sama juga tampak pada sitokrom P450, aktivitas spesifik sampel pada perlakuan *in vitro* memiliki nilai tertinggi, yaitu 0,736 nmol/mg protein. Nilai perlakuan *in vivo* sebesar 0,347 nmol/mg protein dan kontrol 0,238 nmol/mg protein.

Pada pengujian ini sifat bahan aktif utama *P. aduncum*, yaitu dilapiol, sebagai penghambat enzim polisubstrat monooksigenase (PSMO) atau sitokrom b5 dan sitokrom P450 tidak tampak dengan nyata (Tabel 3). Pada kontrol aktivitas sitokrom P450 lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan *in vitro* dan *in vivo*. Efek sinergis tampak nyata jika pada perlakuan *in vivo* dan *in vitro* aktivitas sitokrom P450 lebih rendah dibandingkan dengan kontrol.

PEMBAHASAN

Ekstrak campuran *T. vogelii* : *P. aduncum* (1 : 5) memiliki efek *antifeedant*. Efek *antifeedant* ini ikut menyumbang terhadap kematian serangga uji *C. pavonana*. Jika dibandingkan dengan kontrol, persen daun perlakuan yang dikonsumsi menurun secara signifikan. Serangga tetap mengkonsumsi daun yang diberi perlakuan ekstrak campuran meskipun sangat sedikit terutama pada konsentrasi tinggi. Perilaku makan daun berperlakuan kemudian berhenti setelah makan beberapa saat menunjukkan efek *antifeedant* sekunder. Miller & Stricler (1984)

menjelaskan bahwa sifat toksik senyawa tanaman terhadap serangga dapat berupa gangguan terhadap perkembangan serangga secara langsung (intrinsik) maupun tidak langsung (ekstrinsik). Efek *antifeedant* yang dikandung tanaman dapat dideteksi serangga melalui sistem indera (efek *antifeedant* primer), atau mempengaruhi syaraf pusat serangga yang mengatur proses makan (efek *antifeedant* sekunder). Penghambatan makan ekstrak campuran ini berasal dari ekstrak *P. aduncum* dan *T. vogelii* secara tunggal. Pada penelitian sebelumnya Scott et al. (2004) menjelaskan bahwa senyawa sekunder yang berasal dari spesies Piperaceae bersifat *antifeedant* terhadap serangga. Morallo-Rejesus (1986) juga melaporkan bahwa ekstrak daun *T. vogelii* bersifat insektisida, *antifeedant*, dan *repellent*, terhadap larva *Plutella xylostella* (Linnaeus). Begitu juga penelitian Wulan (2008) menunjukkan fraksi n-heksana daun *T. vogelii* juga memiliki efek *antifeedant* (penghambat makan) terhadap larva *C. pavonana* instar ke-2 sebesar 32,7–79,6%. Abizar & Prijono (2010) menjelaskan ekstrak *T. vogelii* bunga ungu menghambat makan *C. pavonana* sehingga menghambat perkembangan larva *C. pavonana*.

Pada konsentrasi rendah efek penghambatan makan larva *C. pavonana* tidak berbeda jika dibandingkan dengan kontrol. Hal ini karena ekstrak campuran *T. vogelii* : *P. aduncum* (1 : 5) tidak memiliki sifat *antifeedant* primer, dan pada konsentrasi rendah jumlah bahan aktif yang masuk ke dalam tubuh serangga tidak cukup untuk mempengaruhi syaraf pusat untuk memberi sinyal penghentian proses makan.

Penurunan laju pertumbuhan relatif menunjukkan adanya toksisitas intrinsik yang masuk ke dalam tubuh larva, mempengaruhi metabolisme tubuh larva *C. pavonana* dan berdampak pada pertumbuhannya. Meskipun pada konsentrasi rendah, bahan aktif yang masuk saat larva tetap

Tabel 3. Aktivitas enzim sitokrom b5 dan sitokrom P450 pada larva *Crocidolomia pavonana*

Perlakuan	Aktivitas enzim (µM)		Kadar protein (mg/ml)		Aktivitas spesifik (nmol/mg protein)	
	b5	P450	b5	P450	b5	P450
Kontrol	0,011	0,055	4,61	4,61	0,047	0,238
<i>In vivo</i>	0,059	0,055	3,16	3,16	0,378	0,347
<i>In vitro</i>	0,25	0,197	5,37	5,37	0,931	0,736

memakan daun perlakuan akan mencapai titik akumulasi toksik dan dapat menyebabkan kematian. Bahan aktif yang masuk kemungkinan besar rotenon dan senyawa rotenoid lain yang bersifat insektisida seperti deguelin dan tefrosin (Delfel et al. 1970; Gaskins et al. 1972; Lambert et al. 1993) yang berasal dari *T. vogelii*. Selain itu, bahan aktif yang terkandung dalam *P. aduncum* yang bersifat racun syaraf dan senyawa sinergis turut mengganggu aktivitas fisiologi serangga (Perry et al. 1998; Scoot et al. 2007). Penghambatan aktivitas enzim dan pengaruh bahan aktif yang bersifat insektisida dari kedua ekstrak mengganggu pertumbuhan relatif larva uji secara keseluruhan.

Efisiensi makanan yang dikonsumsi (EMK) dan efisiensi makanan yang dicerna (EMC) mengalami penurunan pada perlakuan LC₅₀ meskipun hasil analisis statistika tidak menunjukkan perbedaan yang nyata dibandingkan dengan kontrol (Tabel 2). Hal menarik adalah daya cerna larva yang diberi perlakuan lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol. Seperti yang dijelaskan oleh Schoonhoven et al. (2005) mekanisme untuk mengganti makanan suboptimal salah satunya adalah dengan meningkatkan daya cerna terhadap makanan dengan menyimpannya di dalam saluran pencernaan, hal ini dilakukan sebagai bentuk optimalisasi absorpsi nutrisi yang ada. Selain itu, serangga juga bisa mengambil strategi dengan meningkatkan laju konsumsi. Meningkatnya laju konsumsi, maka makanan harus segera diproses dan tidak bisa disimpan di pencernaan, akibatnya efisiensi makanan di konsumsi dan efisiensi makanan dicerna bisa mengalami penurunan. Strategi *O. nubilalis* adalah dengan meningkatkan jumlah yang dimakan dan menurunkan laju efisiensi makanan yang dikonsumsi. Penelitian yang dilakukan Bernard et al. (1995) menunjukkan bahwa ekstrak kasar *P. aduncum* pada konsentrasi 0,4% dapat menghambat pertumbuhan *O. nubilalis* hingga lebih dari 80%. Laju konsumsi larva (LK) tidak mengalami gangguan, menunjukkan penghambatan makan yang rendah bahkan cenderung meningkatkan konsumsi makan 3 sampai 8 kali lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol. Daya cerna serangga juga tidak terlalu terpengaruh oleh alelokimia ekstrak, tetapi terjadi penurunan nilai EMC, menunjukkan adanya toksisitas komponen makanan yang di cerna.

Serangga juga dapat menggunakan beberapa strategi sekaligus, misalnya pada *Anacridium melanorhodon* (Walker) yang beradaptasi dengan keberadaan tannin di dalam makanan dengan meningkatkan pencernaan (DC) dan efisiensi makanan dikonsumsi (EMK).

Hasil aktivitas enzim sitokrom b5 dan sitokrom P450 menunjukkan respon serangga terhadap senyawa sekunder tanaman yang dideteksi sebagai senyawa asing. Sistem enzim segera menginduksi enzim detoksifikasi untuk menjalankan fungsinya. Serangga diketahui dapat melakukan metabolisme dan detoksifikasi senyawa sekunder dari famili Piperaceae dengan menginduksi enzim spesifik, yaitu famili Cyp 6 (Scott et al. 2005). Pengujian ekstrak etanol *P. nigrum* terhadap *Drosophila melanogaster* Meigen meningkatkan regulasi gen sitokrom P450 Cyp6a8, Cyp9b2, Cyp12d1, Cyp6d4, Cyp6d5 dan Cyp6wl bersamaan dengan glutathione S-transferase S1 dan glutathione S-transferase E7 (Jensen et al. 2006a).

Mekanisme enzimatik monooksigenase sitokrom P450 di dalam tubuh serangga diawali dengan adanya zat-zat asing yang bersifat lipofilik yang merupakan substrat bagi sitokrom P450. Dalam keadaan teroksidasi, sitokrom P450 berikatan dengan substrat. Sitokrom P450 kemudian berubah menjadi tereduksi dibantu oleh NADPH-sitokrom-c-reduktase yang membantu transfer elektron NADPH ke sitokrom P450. Sitokrom P450 yang telah tereduksi akan mengikat molekul oksigen dan menghasilkan ion oksida yang sangat reaktif. Ion oksida tersebut bereaksi dengan proton membentuk air sedangkan oksigen bereaksi dengan substrat, sehingga substrat yang awalnya lipofilik menjadi bersifat hidrofilik. Substrat hidrofilik ini larut dengan air sehingga lebih mudah masuk ke dalam sistem sekresi serangga (Kranthi 2005). Sitokrom b5 dapat menggantikan enzim NADPH-sitokrom-c-reduktase yang merubah sitokrom P450 teroksidasi menjadi tereduksi. Oleh karena itu, secara umum peningkatan sitokrom b5 sebanding dengan peningkatan sitokrom P450.

Efek penghambatan sitokrom b5 dan sitokrom P450 tidak tampak pada perlakuan *in vivo* dan *in vitro*. Hal ini disebabkan oleh, peningkatan regulasi gen Cyp konsisten dengan efek bifasik komponen yang mengandung metilen dioksifenil (MDP), penghambatan enzim Cyp diikuti dengan

induksi enzim Cyp tersebut (Jensen et al. 2006a). Penghambatan terhadap gen yang diekspresikan kemudian ada kenaikan pada gen yang sama menunjukkan adanya stres dan respons spesifik terhadap toksin (Jensen et al. 2006b). Faktor lain yang juga berperan dalam hasil uji adalah tingkat kemurnian minyak *P. aduncum* yang digunakan. Bahan aktif dillapiol yang terkandung dalam minyak *P. aduncum* pada percobaan ini hanya sebesar 79,35%. Selain dillapiol juga ditemukan senyawa lain yang ada pada minyak *P. aduncum* yang digunakan, yang diduga menginduksi gen enzim detoksifikasi.

Secara umum aktivitas enzim pada kontrol paling rendah, karena tidak ada senyawa asing yang ditemukan pada sampel maka aktivitas spesifik sitokrom b5 dan P450 tidak tinggi. Pada perlakuan *in vivo*, proses deteksi dan detoksifikasi terjadi secara alami di dalam tubuh serangga sehingga aktivitas sitokrom b5 dan sitokrom P450 menunjukkan aktivitas yang setara. Pada perlakuan *in vitro*, senyawa asing ditemukan dalam jumlah besar maka aktivitas kedua enzim secara keseluruhan lebih tinggi dan sitokrom b5 juga lebih tinggi dibandingkan dengan sitokrom P450.

KESIMPULAN

Ekstrak campuran *T. vogelii* : *P. aduncum* (1 : 5) memiliki efek *antifeedant* sekunder terhadap larva *C. pavonana*. Asimilasi makanan *C. pavonana* yang diberi perlakuan ekstrak campuran *T. vogelii* : *P. aduncum* (1 : 5) pada LC₂₅ dan LC₅₀ menyebabkan gangguan pertumbuhan relatif akibat toksisitas intrinsik ekstrak campuran yang masuk ke dalam tubuh serangga. Keberadaan senyawa asing meningkatkan daya cerna serangga sebagai bentuk adaptasi terhadap senyawa asing. Laju konsumsi makanan, efisiensi makanan di konsumsi dan efisiensi makanan dicerna tidak berbeda nyata jika dibandingkan dengan serangga yang tidak diberi perlakuan. Senyawa aktif pada *P. aduncum* menyebabkan aktivitas enzim oksidasi sitokrom b5 dan sitokrom P450 meningkat pada perlakuan *in vivo* dan *in vitro* jika dibandingkan dengan kontrol. Efek sinergis komponen utama *P. aduncum* (dillapiol) tidak tampak pada percobaan

ini. Kemurnian senyawa merupakan salah satu faktor penyebab selain mekanisme kerja dillapiol yang mengalami induksi setelah terjadi penghambatan pada enzim detoksifikasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Abizar M, Priyono D. 2010. Aktivitas insektisida ekstrak daun dan biji *Tephrosia vogelii* J.D. Hooker (Leguminosae) dan ekstrak buah *Piper cubeba* L. (Piperaceae) terhadap larva *Crociodomia pavonana* (F.) (Lepidoptera: Crambidae). *Jurnal HPT Tropika* 10:1–12.
- Bernard CB, Arnason JT, Philogene BJR, Lam J, Waddell T. 1989. Effect of lignans and other secondary metabolites of the asteraceae on the mono-oxygenase activity of the European corn borer. *Phytochemistry* 28:1373–1377. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)97749-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0031-9422(00)97749-5).
- Bernard CB, Krishnamurty HG, Chauret D, Durst T, Philogene BJR et al. 1995. Insecticidal defenses of Piperaceae from the Neotropics. *Journal of Chemical Ecology* 21:801–814. doi: <http://dx.doi.org/10.1007/BF02033462>.
- Bernard CB, Arnason JT, Philogène BJR, Lam J, Waddell T. 1990. In vivo effect of mixtures of allelochemicals on the life cycle of the European corn borer, *Ostrinia nubilalis*. *Entomologia Experimentalis Et Applicata* 57:17–22. doi: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1570-7458.1990.tb01411.x>.
- Delfel NE, Tallent WH, Carlson DG, Wolff IA. 1970. Distribution of rotenone and deguelin in *Tephrosia vogelii* and separation of rotenoid-rich fractions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 188:385–390. doi: <http://dx.doi.org/10.1021/jf60169a053>.
- Dauterman WC, Hodgson E. 1978. Detoxication Mechanism in Insect. In: Rockstein M (Ed.), *Biochemistry of Insect*. pp. 541–577. London: Academic Press. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-591640-0.50018-2>.
- Flores N, Jimenez IA, Gimenez A, Ruiz G, Gutierrez D, Bourdy G, Bazzocchi IL. 2009. Antiparasitic activity of prenylated benzoic acid derivatives from *Piper* species. *Phytochemistry* 70:621–627. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.phytochem.2009.03.010>.
- Fraenkel G. 1969. Evaluation of our thoughts on secondary plant substances. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 12:473–486. doi: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1570-7458.1969.tb02546.x>.

- Gaskins MH, White GA, Martin FW, Delfel NE, Ruppel EG, Barnes DK. 1972. *Tephrosia vogelii: A Source of Rotenoids for Insecticidal and Piscicidal Use*. Washington DC: United States Department of Agriculture.
- Jensen HR, Scoot IM, Sims S, Trudeau VL, Arnason JT. 2006a. Gene expression profiles of *Drosophila melanogaster* exposed to an insecticidal extract of *Piper nigrum*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54:1289–1295. doi: <http://dx.doi.org/10.1021/jf052046n>.
- Jensen HR, Scott IM, Sims SR, Trudeau VL, Arnason JT. 2006b. The effect of a synergistic concentration of a *piper nigrum* extract used in conjunction with pyrethrum upon gene expression in *Drosophila melanogaster*. *Insect Molecular Biology* 15:329–339. doi: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2583.2006.00648.x>.
- Kranthi KR. 2005. *Insecticide Resistance - Monitoring, Mechanisms and Management Manual. No.2*. Nagpur: Central Institute for Cotton Research.
- Kogan M. 1982. Plant resistance in pest management. In: Metcalf RL, Luckman WH (Eds.), *Introduction to Insect Pest Management*. 2nd. pp. 93–134. New York: Jhon Willey & Sons.
- Lago JHG, Chen A, Young MCM, Guimaraes EF, Oliveira A de, Kato MJ. 2009. Prenylated benzoic acid derivatives from *Piper aduncum* L. and *P. hostmannianum* C. DC. (Piperaceae). *Phytochem Lett* 2:96–98. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.phytol.2009.01.001>.
- Lambert N, Trouslot MF, Campa CN, Chrestin H. 1993. Production of rotenoids by heterotrophic and photomixotrophic cell cultures of *Tephrosia vogelii*. *Phytochemistry* 34:1515–1520. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)90838-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0031-9422(00)90838-0).
- Lina EC, Prijono D, Dadang. 2006. Physiological interferences in the soybean armyworms *Spodoptera litura* F. caused by active fractions of *Aglaia harmsiana* extract. *Jurnal Tumbuhan Tropika* 6:1–8.
- Metcalf RL. 1967. Mode of action of insecticide synergists. *Annual Review of Entomology* 12:229–256. doi: <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.en.12.010167.001305>.
- Miller JR, Stricler KL. 1984. Finding and accepting host plants. In: Bell WJ, Carde RT (Ed.), *Chemical Ecology of Insect*. pp. 127–157. Massachusetts: Sinauer, Sunderland. doi: http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4899-3368-3_6.
- Morallo-Rejesus B. 1986. Botanical insecticides against the diamondback moth. Available at: <http://www.avrdc.orgpdf86dbm86DBM23.pdf> [16 Maret 2007].
- Nailufar N. 2011. Aktivitas insektisida ekstrak daun *Tephrosia vogelii* (Leguminosae) dan buah *Piper aduncum* (Piperaceae) terhadap larva *Crocidolomia pavonana*. Skripsi. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Omura T, Sato R. 1964. The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes; solubilization, purification, and properties. *The Journal of Biological Chemistry* 239:2379–2385.
- Perry AS, Yamamoto I, Ishaaya I, Perry RY. 1998. *Insecticides in Agriculture and Environment: Retrospects and Prospects*. Berlin: Springer-Verlag. doi: <http://dx.doi.org/10.1007/978-3-662-03656-3>.
- Schoonhoven LM, Van Loon JJA, Dicke M. 2005. *Insect Plant Biology*. London: Oxford University Press.
- Scott IM, Jensen HR, Philogene BJR, Arnason JT. 2007. A review of *Piper* spp. (Piperaceae): phytochemistry, insecticidal activity, and mode of action. *Phytochemistry Reviews* 7:65–75. doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s11101-006-9058-5>.
- Steel RGD, Torrie JH, Dickey DA. 1997. *Principles and Procedures of Statistics: A Biometrical Approach*. 3rd ed. Boston: McGraw-Hill.
- Waldbauer GP. 1968. The consumption and utilization of food by insect. *Advances in Insect Physiology* 1:229–288. [http://dx.doi.org/10.1016/S0065-2806\(08\)60230-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0065-2806(08)60230-1).
- Wulan RDR. 2008. *Aktivitas Insektisida Ekstrak Daun Tephrosia vogelii Hook. f. (Leguminosae) terhadap Larva Crocidolomia pavonana (F.) (Lepidoptera: Pyralidae)*. Skripsi. Bogor: Institut Pertanian Bogor.