

PENGARUH AZADIRACHTIN A TERHADAP SERANGGA *Dolleschalia polibete*

AGUS KARDINAN, IKA MUSTIKA, MOMO ISKANDAR, dan CUCU SUKMANA

Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat, Bogor

RINGKASAN

Penelitian mengenai pengaruh azadirachtin A yang diisolasi dari biji mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) pada serangga uji *Dolleschalia polibete* yang merupakan hama utama tanaman daun wungu (*Graptophyllum pictum*) telah dilakukan di laboratorium dan rumah kaca Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat, Bogor, dari bulan November 1997 sampai dengan Mei 1998. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh azadirachtin A terhadap beberapa aspek biologi serangga uji *D. polibete*. Formulasi mimba berasal dari EID Parry Ltd. (India) dengan kandungan azadirachtin A sebesar 1%. Konsentrasi anjuran adalah 2-4 ml ekstrak/liter air atau setara dengan 20-40 ppm azadirachtin A. Larva serangga uji diperoleh dari hasil pemeliharaan di rumah kaca. Penelitian dirancang dalam acak lengkap dan acak kelompok (untuk penetasan telur), dengan 6 perlakuan dan ulangan antara 4-6 kali. Perlakuan terdiri atas konsentrasi azadirachtin A (1) 80 ppm, (2) 40 ppm, (3) 20 ppm, (4) 10 ppm, (5) 5 ppm, dan (6) 0 ppm/kontrol. Penelitian terdiri atas 3 kegiatan, yaitu pengaruh azadirachtin A terhadap (1) mortalitas serangga uji dan keberhasilan larva menjadi pupa dan pupa menjadi imago, (2) penolak makan, dan (3) penghambat penetasan telur. Hasil penelitian menunjukkan, bahwa azadirachtin A mampu membunuh serangga uji dengan lambat, yaitu memerlukan waktu 3-10 hari. Azadirachtin A berperan sebagai penghambat tumbuh dengan menunjukkan bahwa sebagian imago yang terbentuk tidak normal dan beberapa mati karena gagal sewaktu keluar dari pupa untuk menjadi imago. Azadirachtin A berperan sebagai penolak makan dengan menunjukkan penolakan sebesar 40%. Azadirachtin A juga berpengaruh sebagai penghambat penetasan telur dengan menghambat penetasan sebesar 50%.

Kata kunci : *Azadirachtin A*, *Azadirachta indica*, *Dolleschalia polibete*, racun

ABSTRACT

Research on the effect of azadirachtin A isolated from neem tree (*Azadirachta indica* A. Juss) on insect *Dolleschalia polibete*, the most potential insect destroying *Graptophyllum pictum* crop was carried out at the Entomological laboratory during November 1997 to May 1998. The objective of the research was to evaluate the effect of azadirachtin A on some biological aspects of *D. polibete*. The formulation was obtained from EID Parry Ltd. (India), containing 1% azadirachtin A. The concentration recommended was 2-4 ml of formulation/lit of water or equal to 20-40 ppm of azadirachtin A. The insects tested were obtained by rearing them in a screen house. Research was arranged in a completely randomized design, and randomized block design (for ovicidal), 6 treatments and 4-6 replications. The treatments were concentrations of azadirachtin A (1) 80 ppm (2) 40 ppm (3) 20 ppm, (4) 10 ppm, (5) 5 ppm and (6) 0 ppm. Research consisted of three activities, i.e. effect of neem extract on (1) insect mortality and the survival rate, (2) as antifeedant, and (3) as ovicidal on the insect. Results showed that azadirachtin A killed the insect slowly, it needed 3-10 days. Azadirachtin A acted as a growth inhibitor shown by the fact that at 5 and 10 ppm azadirachtin A, some pupae became malformed adults and other pupae died in a failed molt attempt. Azadirachtin functioned as an antifeedant on some adult insects where the pupae were malformed and died on antifeedant and inhibit about 40% of feeding deterrence. Azadirachtin A also acted as an ovicidal inhibited about 50% egg-hatching.

Key words : *Azadirachtin A*, *Azadirachta indica*, *Dolleschalia polibete*, toxin

PENDAHULUAN

Hingga saat ini, insektisida sintetis masih diperlukan oleh petani di Indonesia dalam pengendalian hama tanaman, walaupun dampak negatifnya sudah banyak diketahui. Menurut ANON. (1997), terdapat sekitar 90 kasus keracunan pestisida dalam kurun waktu 27 Maret 1995 sampai 31 Juli 1997. Oleh karena itu diperlukan suatu alternatif pengendalian hama yang ramah lingkungan. Salah satu alternatifnya adalah penggunaan pestisida nabati seperti produk dari pohon mimba (*Azadirachta indica*) (ERMEL, 1995). Pestisida nabati bersifat mudah terurai di alam sehingga relatif tidak mencemari lingkungan dan tidak berbahaya bagi manusia dan hewan peliharaan. Selain dapat dibuat di laboratorium oleh tenaga ahli untuk keperluan industri pestisida nabati juga dapat disiapkan oleh petani karena bahannya banyak tersedia.

Mimba berasal dari India dan Myanmar, merupakan tanaman tahunan yang dapat tumbuh baik hampir di semua tempat dan tidak memerlukan pemeliharaan yang khusus. Mimba mengandung azadirachtin (C₃₅H₄₄O₁₆), *meliantriol*, *salanin*, *nimbin*, dan lainnya yang mampu mengendalikan sekitar 127 jenis hama (GRAINGE dan AHMED, 1987). Azadirachtin sendiri mengandung sekitar 17 komponen, salah satunya adalah azadirachtin A (REMBOLD, 1989), sehingga sulit untuk menentukan komponen mana yang paling berperan sebagai pestisida (REJESUS, 1995). Bahan aktif ini terdapat di semua bagian tanaman, tetapi yang paling tinggi terdapat pada bijinya. Bijinya mengandung minyak sebesar 35-45% (STOLL, 1986). Mimba selain sebagai bahan pestisida juga berguna sebagai bahan sabun mandi, pasta gigi, obat-obatan, sayuran, pengganti pakan ternak, bahan bakar, tanaman hias, dan lainnya (SENRAYAN, 1997; SOMBATSIRI, 1997; ZELEDON, 1997).

Beberapa kali konferensi internasional telah diselenggarakan untuk membahas masalah mimba, di antaranya yang diadakan di Jerman, India, Filipina, Kenya, Australia, Thailand, dan Indonesia. Semua konferensi menempatkan mimba sebagai prioritas pertama untuk bahan pestisida nabati. Di negara-negara tersebut, mimba telah terdaftar sebagai pestisida. Di India misalnya, telah terdaftar sekitar 200 formula pestisida yang berasal dari mimba. Oleh karena itu perlu untuk segera menggalakkan penggunaan pestisida nabati ini di Indonesia.

Beberapa hasil penelitian mengenai mimba di negara tetangga antara lain menurut hasil penelitian CHIU (1988) yang mengatakan bahwa mimba berpengaruh sebagai penghambat tumbuh (growth inhibitor) terhadap serangga. Kutikula

serangga menjadi mengerut dengan struktur yang tidak teratur. Kematian serangga terjadi pada penggantian instar atau pada proses metamorfosa. Selanjutnya SENRAYAN (1997) menyatakan bahwa mimba tidak membunuh hama secara langsung, tetapi mempengaruhi serangga dalam aktivitas makan, reproduksi, dan pertumbuhan. STOLL (1986) membuktikan bahwa mimba tidak hanya berperan sebagai insektisida, tetapi juga dapat berperan sebagai fungisida dan nematisida. SCHMUTTERER (1980) mengatakan, bahwa ekstraksi sederhana daun mimba dengan metanol yang diaplikasikan secara topikal terhadap serangga menyebabkan gangguan pertumbuhan terhadap serangga. GAAGOUN dan HAYES (1984) mengemukakan bahwa mimba berperan sebagai insektisida, menghambat pembentukan imago, mengurangi produksi telur dan menekan penetasan telur serangga. SAXENA (1989) menyatakan, bahwa mimba dapat bekerja secara sistemik serta berpengaruh sangat luas terhadap serangga, meliputi tingkah laku dan fisiologi serangga, seperti penolak makan, memandulkan, mengganggu proses perkawinan, menghambat peneluran, dan lainnya. Mimba dapat mempengaruhi hampir 200 spesies serangga yang termasuk ke dalam ordo Koleoptera, Diptera, Heteroptera, Homoptera, Himenoptera, Lepidoptera, dan Orthoptera. CHAMPAGNE et al. (1989) mengatakan bahwa Azadirachtin yang terkandung dalam ekstrak biji mimba dapat meresap dengan baik melalui integumen serangga, oleh karena itu pengaplikasian secara topikal lebih beracun (3 kali lipat) dibandingkan secara oral. LD₅₀ Azadirachtin secara topikal adalah 4.5 ppm, sedangkan secara oral adalah 11.3 ppm ARNASON, et al. (1985) menyatakan bahwa Azadirachtin pada konsentrasi 10 ppm menyebabkan 100% kematian pada larva serangga *Ostrinia nubilalis* dan pada konsentrasi 1 ppm menyebabkan kematian 90%. Selanjutnya BALFAS (1994) mengemukakan bahwa ekstrak mimba dengan etanol pada konsentrasi 2.5% sampai 10% larutan mengakibatkan kematian ulat *D. polibete* sebanyak 100%, sedangkan perlakuan mimba dengan ekstrak air tidak mengakibatkan kematian ulat. Hasil penelitian WIKARDI dan KARDINAN (1994) menyatakan bahwa ekstrak daun mimba dengan air yang diaplikasikan secara oral terhadap ulat kipat *Cricula trifenestrata* berpengaruh terhadap pertumbuhan dan produksi telur.

Daun wungu merupakan tanaman bahan obat, di antaranya untuk ambeien, panas perut, hepatitis dan lainnya. Hama utama tanaman ini adalah serangga *D. polibete*. Larva serangga ini sangat rakus dan dapat menimbulkan kerusakan daun tanaman mendekati 100% di Instalasi Penelitian Cimanggu, Bogor. Telurnya menetas antara 4-5 hari, larvanya terdiri dari 5 instar yang berumur 11-12 hari, pupanya berumur sekitar 7 hari, sedangkan imagonya berumur antara 5-7 hari. Seekor betina mampu bertelur antara 83-134 butir (BARIYAH dan KARMAWATI, 1992).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh azadirachtin A yang berasal dari biji mimba terhadap mortalitas serangga uji, keberhasilan larva menjadi pupa serta pupa

menjadi imago, penolakan makan dan penghambat penetasan telur.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium dan Rumah Kaca Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat, Bogor, dari bulan Nopember 1997 sampai dengan Mei 1998. Formulasi mimba yang mengandung 1% azadirachtin A berasal dari mimba yang diperoleh dari EID Parry Ltd. India yang masih layak pakai (belum kadaluwarsa). Konsentrasi yang dianjurkan adalah 2 sampai 4 ml formulasi/liter air atau setara dengan kandungan 20-40 ppm azadirachtin A. Serangga uji diperoleh dari Instalasi Penelitian Cimanggu, Bogor. Penelitian terdiri atas 3 kegiatan, yaitu :

Pengaruh Azadirachtin A Terhadap Mortalitas Larva dan Keberhasilan (Survival Rate) Larva Menjadi Pupa dan Pupa Menjadi Imago

Penelitian dirancang dalam acak lengkap, 6 perlakuan dan 6 ulangan. Perlakuan terdiri atas konsentrasi azadirachtin A ; 1) 80 ppm, 2) 40 ppm, 3) 20 ppm, 4) 10 ppm, 5) 5 ppm dan 6) 0 ppm/kontrol (air). Perlakuan diberikan dengan cara mencelupkan daun wungu (*Graphotophyllum pictum*) ke dalam setiap konsentrasi yang diuji, kemudian dikeringanginkan dan diberikan sebagai makanan larva *D. polibete* instar 3. Setiap perlakuan diberikan 5 ekor larva yang ditempatkan dalam kotak berukuran 13 cm x 11 cm x 7 cm. Larva yang seragam diperoleh dengan cara memelihara di rumah kaca. Pengamatan terhadap mortalitas larva, jumlah larva yang menjadi pupa dan jumlah pupa yang menjadi imago, serta keadaan masing-masing stadia (normal atau tidak normal) dilakukan setiap hari.

Pengaruh Azadirachtin A Sebagai Penolak Makan (Anti-feedant)

Penelitian dirancang seperti pada kegiatan penelitian sebelumnya. Larva *D. polibete* yang digunakan adalah instar 4. Perlakuan diberikan dengan cara mencelupkan potongan daun berukuran 4 x 4 cm ke dalam setiap larutan konsentrasi yang diuji, kemudian dikeringanginkan. Setiap potongan daun diberikan kepada seekor larva yang disimpan dalam cawan petri. Pengamatan dilakukan terhadap luas daun yang tersisa, setelah terlihat bahwa daun mulai dimakan (hari ke 1 atau ke 2). Pengukuran luas daun tersisa dilakukan dengan menggunakan leaf area meter.

Pengaruh Azadirachtin A Terhadap Penetasan Telur (Ovicidal)

Penelitian dirancang dalam acak kelompok dengan 6 perlakuan dan 4 ulangan. Perlakuan terdiri 6 konsentrasi azadirachtin A seperti pada kegiatan penelitian sebelumnya. Telur yang digunakan adalah telur yang berumur 1 hari. Telur diperoleh dengan cara meletakkan tanaman daun wungu sehat yang belum ada telurnya di lapangan, kemudian keesokan harinya telur yang terdapat pada tanaman diambil. Setiap perlakuan diberikan dengan cara mencelupkan telur serangga selama sekitar 5 detik ke dalam larutan yang diuji, kemudian disimpan di dalam cawan petri. Setiap perlakuan diaplikasikan terhadap 10 butir telur. Berhubung jumlah telur yang diperlukan tidak dapat terpenuhi sekaligus, maka setiap ulangan dilakukan dalam waktu yang berbeda (waktu merupakan ulangan). Pengamatan dilakukan setiap hari secara kumulatif terhadap jumlah telur yang menetas.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Azadirachtin A Terhadap Mortalitas Larva Tingkat Keberhasilan (Survival Rate) Larva Menjadi Pupa dan Pupa Menjadi Imago

Hasil penelitian menunjukkan, bahwa azadirachtin A bereaksi relatif lambat dan tidak bersifat membunuh secara cepat (knock down). Hal ini terlihat bahwa dengan konsentrasi paling tinggi (80 ppm) reaksinya baru terlihat pada hari ke 3 setelah aplikasi, sedangkan dengan konsentrasi anjuran (40 ppm) reaksinya baru menunjukkan pada hari ke 5 setelah aplikasi (Tabel 1). Hal ini sesuai dengan pendapat ZELEDON (1997) yang menyatakan bahwa mimba tidak dapat membunuh serangga secara cepat karena tidak memiliki sifat "knock down". Biasanya, bahan aktif yang memiliki sifat knock down adalah bahan aktif yang menyerang sistem syaraf, seperti pyrethrin dari bunga piretrum. Namun demikian Tabel 1 menunjukkan bahwa mimba bersifat "toxicant" yaitu beracun bagi serangga. Hal ini sesuai dengan pendapat JACOBSON (1989) yang mengatakan bahwa salah satu sifat mimba adalah sebagai insektisida.

Pengaruh maksimal azadirachtin A dengan konsentrasi anjuran terlihat pada hari ke 9, dapat mengakibatkan 100% kematian serangga uji. Pengamatan terhadap mortalitas larva dihentikan pada hari ke 10, karena semua larva pada perlakuan kontrol dan sebagian besar pada konsentrasi 5 dan 10 ppm sudah menjadi pupa. Selanjutnya pengamatan dilanjutkan terhadap jumlah pupa yang terjadi dan keberhasilan pupa menjadi imago.

Hasil pengamatan terhadap jumlah larva menjadi pupa dan jumlah pupa menjadi imago, menunjukkan bahwa pada

Tabel 1. Pengaruh azadirachtin A terhadap mortalitas larva *D. polibete*
Table 1. Effect of azadirachtin A on the mortality of *D. polibete*

Perlakuan Azadirachtin A Treatments Azadirachtin A	Persentase mortalitas pada hari ke Percentage of mortality at days			
	1	2	3	4
80 ppm	0	7	20 a	33 a
40 ppm	0	0	3 b	7 b
20 ppm	0	0	3 b	7 b
10 ppm	0	0	0 b	3 b
5 ppm	0	0	0 b	0 b
Kontrol	0	0	0 b	0 b

Keterangan : Angka yang diikuti huruf sama pada kolom yang sama, tidak berbeda nyata pada taraf 5% DMRT

Note : Numbers followed by the same letter at the same column are not significantly different at 5% DMRT

konsentrasi 80, 40, dan 20 ppm azadirachtin A tidak terdapat larva yang menjadi pupa (Tabel 2). Hal ini berarti bahwa konsentrasi 20 ppm ke atas bersifat racun atau toksik terhadap serangga.

Keberhasilan larva menjadi pupa pada konsentrasi 10 dan 5 ppm azadirachtin A tidak berbeda nyata, yaitu sekitar 30%. Pupa yang telah terbentuk hampir semuanya berhasil menjadi imago, namun tidak semua imago yang terbentuk normal, sebagian besar imago yang terbentuk merupakan imago yang tidak normal, terutama pada konsentrasi 10 ppm azadirachtin A. Kebanyakan imago yang tidak normal adalah pada bagian sayap yang tidak beraturan, sehingga tidak memungkinkan terbang dengan sempurna. Sebagian pupa mati pada perlakuan 5 ppm azadirachtin A sebab imago tidak berhasil keluar dari pupa dan hanya berhasil keluar setengah badan. Dengan demikian mimba dapat mengganggu proses metamorfosa atau mengganggu keseimbangan fisiologis serangga (*growth inhibitor*). Hal ini sesuai dengan pendapat beberapa ahli yang menyatakan bahwa mimba berperan mengganggu pembentukan imago (molting) (CHIU, 1988; STOLL, 1986; SCHMUTTERER, 1980 dan GAAGOUPI and HAYES, 1984). Sifat ini sangat ideal sebagai bahan pestisida, karena SATRODIHARDJO *et al.* (1992) menyatakan bahwa untuk mengendalikan hama diperlukan senyawa yang dapat mengganggu keseimbangan proses fisiologis serangga, karena pada proses ini sangat kritis dan peka untuk dimanipulasi pada siklus hidupnya.

Pengaruh Azadirachtin A Sebagai Penolak Makan (Antifeedant)

Hasil pengamatan menunjukkan, bahwa daun baru dapat diamati pada hari ke dua setelah aplikasi, karena pada hari pertama setelah aplikasi luas daun yang termakan baru sedikit. Hal ini terjadi, mungkin karena pada waktu larva dipindahkan ke cawan petri dan diberi makan daun yang sudah diberi perlakuan, larva masih shock dan perlu beradaptasi. Selain itu mungkin juga terdapat pengaruh makanan sebelum larva

Tabel 2. Pengaruh azadirachtin A terhadap persentase keberhasilan larva menjadi pupa dan pupa menjadi imago serangga *D. polibete*
Table 2. Effect of azadirachtin A on the survival rate of larvae and pupae *D. polibete* insect

Perlakuan azadirachtin A Azadirachtin A treatments	Jumlah larva Number of larvae	Jumlah pupa Number of pupae	Jumlah imago Number of adult
80 ppm	30	0a	0a
40 ppm	30	0a	0a
20 ppm	30	0a	0a
10 ppm	30	11b	11b *
5 ppm	30	9b	8b **
Kontrol	30	30c	30c

Keterangan : Angka yang diikuti huruf sama pada kolom yang sama, tidak berbeda nyata pada taraf 5% DMRT

Note : Numbers followed by the same letter at the same column are not significantly different at 5% DMRT

*) 8 imago tidak normal 8 adults are malformed

**) 1 imago tidak normal 1 adult is malformed

dipindah, karena sebelumnya larva diberi makanan yang cukup dengan daun tanpa perlakuan, walaupun 6 jam sebelum diberi perlakuan semua larva dipuasakan dahulu.

Pengamatan pada hari ke dua setelah aplikasi menunjukkan bahwa perlakuan azadirachtin A dengan konsentrasi 10 ppm ke atas memberikan dampak penghambatan makan (antifeedant) terhadap larva. Azadirachtin A mampu menghambat 40% daun termakan (Tabel 3). Hal ini sesuai dengan pendapat SAXENA (1989) yang menyatakan bahwa ekstrak dari mimba mempengaruhi tingkah laku dan fisiologis serangga, salah satunya berpengaruh terhadap aktivitas makan, sehingga zat ini bersifat sebagai penghambat makan atau penolak makan (antifeedant). Ekstrak mimba mempunyai bau yang khas, yaitu seperti bau bawang putih sebagai akibat dari kandungan sulfur moiety yang tinggi (SAXENA, 1989), dan mungkin hal ini yang berpengaruh terhadap penolakan makan.

Pengaruh azadirachtin A terhadap penetasan telur (ovicidal)

Hasil pengamatan yang dilakukan terhadap jumlah telur yang menetas dan dihitung secara kumulatif menunjukkan bahwa konsentrasi azadirachtin A - 10 ppm mampu menghambat penetasan telur serangga *D. polibete* 50% (Tabel 4). Dengan demikian azadirachtin A mampu berperan sebagai ovisidal atau menghambat penetasan telur. Hal ini sesuai dengan pendapat REMBOLD (1989) yang menyatakan bahwa mimba mengandung beberapa produksi metabolit sekunder, salah satunya adalah azadirachtin. Azadirachtin sendiri mengandung sekitar 17 komponen, salah satunya azadirachtin A yang berpengaruh terhadap beberapa aspek biologi serangga, seperti menghambat penetasan telur.

Tabel 3. Pengaruh azadirachtin A sebagai penolak makan (antifeedant)

Table 3. Effect of azadirachtin A as antifeedant

Perlakuan azadirachtin A Azadirachtin A treatments	Luas sisa daun (cm ²) Leaves area left (cm ²)
80 ppm	2.8 a
40 ppm	3.0 a
20 ppm	2.8 a
10 ppm	2.3 ab
5 ppm	2.1 bc
Kontrol	1.7 c

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama, tidak berbeda nyata pada taraf 5% DMRT

Note : Numbers followed by the same letter are not significantly different at 5% DMRT

Tabel 4. Pengaruh azadirachtin A terhadap penetasan telur *D. polibete*

Table 4. Effect of azadirachtin A on egg-hatchability of *D. polibete*

Perlakuan azadirachtin A Azadirachtin A treatments	Penetasan telur Egg-hatching (%)
80 ppm	45 a
40 ppm	45 a
20 ppm	50 a
10 ppm	52.5 a
5 ppm	72.5 ab
Kontrol	92.5 b

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama, tidak berbeda nyata pada taraf 5% DMRT

Note : Numbers followed by the same letter are not significantly different at 5% DMRT

Hasil-hasil penelitian di atas menunjukkan bahwa azadirachtin A mampu berperan sebagai racun terhadap serangga (toxicant), penghambat tumbuh (growth inhibitor), penghambat aktivitas makan (antifeedant) dan penghambat penetasan telur (ovicidal).

KESIMPULAN

Pengaruh azadirachtin A terhadap serangga uji *D. polibete* antara lain sebagai racun serangga (toxicant), dengan daya bunuh yang relatif lambat, yaitu mulai bereaksi antara 3-5 hari setelah aplikasi. sebagai penghambat tumbuh (growth inhibitor), terbukti dengan banyaknya pupa yang gagal atau cacat menjadi imago, serta berpengaruh juga sebagai penghambat aktivitas makan (antifeedant) sebesar 40% dan penghambat penetasan telur (ovicidal) sebesar 50%.

DAFTAR PUSTAKA

- ANONYMOUS. 1997. Human health problems related to the use of pesticide in Indonesia. National Poison Information Centre. Directorate General of Drug and Food Control, Ministry of Health. Paper was Presented at National Conference on Biopesticides with Emphasis on Neem, Surabaya-Indonesia, 11-13 August 1997. 11pp
- AHMED, S. 1995. Overview of the current status and future prospects of botanical pesticides in Asia and the Pacific. Proc. Report of the FAO Expert Consultation on Regional Perspectives for Use of Botanical Pesticides in Asia and the Pacific, Bangkok-Thailand, 28 Oct. 1995. p.2-12.
- ARNASON, J.T., B.J.R. PHILOGENE, N. DONSKOV and M. HUDON. 1985. Antifeedant and insecticidal properties of azadirachtin to the European corn borer *Ostrinia nubilalis*. Ottawa Carleton Institute for Research and Graduate Studies in Biology and Chemistry, Ottawa, Canada. 6 pp.
- BALFAS, R. 1994. Pengaruh ekstrak air dan etanol biji mimba terhadap mortalitas dan pertumbuhan ulat pemakan daun handeuleum *Dolleschalia polibete*. Pros. Sem. Hasil Penelitian dalam Rangka Pemanfaatan Pestisida Nabati. Balitro, p. 203-207.
- BARİYAH, B. dan E. KARMAWATI. 1992. Biologi dan pengenalan hama daun handeuleum (*Graphotophylum pictum* (L.) Griff). Media Komunikasi Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri, No. 1 : 69-73.
- CHIU, S.F. 1988. Recent advances in research on botanical insecticides in China. South China Agricultural University, Guangzhou, China. p.69-77.
- CHAMPAGNE, D.E., M.B. ISMAN and G.H.N. TOWER. 1989. Insecticidal activity of phytochemicals and extracts of Meliaceae. University of British Columbia, Vancouver, Canada. p.95-109.
- ERMEL, K. 1995. Azadirachtin content of neem seed kernels from different regions of the world, In SCHMUTTERER, ed. 1995. The Neem Tree. VHC, Federal Republic of Germany. p.89-92.
- GAAGOU, I.A. and D.K. HAYES. 1984. Effect of larvae treatment with azadirachtin, a molting inhibitory component of the neem tree, on reproductive capacity of the face fly *Musca autumnalis* (Diptera : Muscidae), Env. Ento. 13:1639-1643.
- GRAINGE M. and S. AHMED. 1987. Handbook of plants with pest-control properties. A-Wiley-Interscience Publication. New York. p. 43-45.
- JACOBSON, M. 1989. Botanical pesticides, past, present and future. In Arnason, J.T., B.J.R. Philogete and P. Morald. 1989. Insecticides of plant origin. American Chemical Society Symposium, Series 387, Canada, June 5-11, 1988. p.1-10.
- REJESUS, B.M. 1995. Research and policy action needed to promote botanical pesticides used in Asia and the Pacific. Proc. Rep. of the FAO Expert Consultation on Regional Perspectives for Use of Botanical Pesticides in Asia and the Pacific. p.13-17.
- REMBOLD, T. 1989. Azadirachtin, their structure and mode of action. Federal Republic of Germany. 15 pp.
- SOMBATSIRI, K. 1997. Commercialization of neem-based insecticide in Thailand. Proc. National Conference in Biopesticides with Emphasis on Neem. Surabaya-Indonesia, 11-13 August 1997. 4 pp.
- SENRAYAN, R. 1997. Prospects and challenges in production and use of neem pesticides. Presented at National Conference on Pesticides with Emphasis on Neem, Surabaya-Indonesia, 11-13 August 1997. 6 pp.
- STOLL, G. 1986. Natural crop protection, based on local farm resources in the tropics and sub tropics. Margra Publishers Scientific Books, F.R. Germany. 187 pp.
- SASTRODIHARDJO, S., I. AHMAD, TRIKOSUMANINGTYAS dan S.MANAF. 1992. Penggunaan produk alami dalam PHT. PAU Ilmu Hayati, ITB, Bandung. 23p.
- SCHMUTTERER, H. 1980. Ten years of neem research in the federal republic of Germany. In SCHMUTTERER *et.al.* Natural pesticides from the neem tree. Proc. of the First International Neem Conference. Federal Republic of Germany, p. 21-31.
- SAXENA, R.C. 1989. Insecticides from neem. Entomology Departement, IRRI. Manila, Philippines. 25 pp.
- WIKARDI, E.A. and A. KARDINAN. 1994. Effect of bitung fruit extract (*Barringtonia acutangula*) and neem leaves extract (*Azadirachta indica*) on the biology of *Cricula trifenestrata* on cashew. Industrial Crops Res. Journal. VII(1):15-19.
- ZELEDON, L.H. 1997. Alternatives to synthetic pesticides with emphasis on neem. Proc. National Conference on Biopesticide, Surabaya, 11-13 August 1997. 10pp.