

ISSN : 0215-0824

E-ISSN : 2527-4414

BULETIN PENELITIAN
TANAMAN REMPAH DAN OBAT
Bulletin of Research on Spice and Medicinal Crops

Volume 28, Nomor 1, Mei 2017



Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian
Agency for Agricultural Research and Development
PUSAT PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN PERKEBUNAN
Indonesian Center for Estate Crops Research and Development
Bogor, Indonesia

Bul. Littro	Vol. 28	No. 1	hlm. 1-104	Bogor, Mei 2017	ISSN 0215-0824 E-ISSN : 2527-4414
-------------	---------	-------	------------	--------------------	--------------------------------------

BULETIN PENELITIAN
TANAMAN REMPAH DAN OBAT
Bulletin of Research on Spice and Medicinal Crops

Volume 28, Nomor 1, Mei 2017

Penanggung Jawab

Kepala
Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan
Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian

Dewan Redaksi

Ketua merangkap Anggota

Dr. Oti Rostiana, M.Sc (Pemuliaan dan Genetika
Tanaman)

Anggota

Prof. Dr. Supriadi (Fitopatologi)
Dr. Ir. Ireng Darwati (Fisiologi)
Dr. Ir. Dono Wahyuno (Fitopatologi)
Ir. Ekwasita Rini Pribadi (Sosial Ekonomi)

Redaksi Pelaksana

Dra. Nur Maslahah, M.Si.
Hera Nurhayati, SP.
Eko Hamidi
Efiana, S.Mn
Tini Nurcahaya, S.Kom (IT Support)

Alamat

Jalan Tentara Pelajar No. 3 Cimanggu, Bogor 16111

Telp. (0251) 8321879 - Fax. (0251) 8327010

E-mail : buletintro@gmail.com

Website : <http://balitro.litbang.pertanian.go.id>

URL : <http://ejurnal.litbang.pertanian.go.id/index.php/bultro>

Sumber Dana

DIPA Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat
TA. 2017

ISSN : 0215-0824

E-ISSN : 2527-4414

BULETIN PENELITIAN TANAMAN REMPAH DAN OBAT

terbit dua nomor setiap volume dalam satu tahun (Mei dan Desember) memuat karya tulis ilmiah hasil penelitian tentang tanaman rempah dan obat yang belum pernah dipublikasikan

MITRA BEBESTARI



- Prof. Dr. Ir. Agus Kardinan, M.Sc (*Entomologi-Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat, Indonesia*), (h-index : 6)
- Prof. Dr. Ir. Deciyanto Soetopo (*Entomologi-Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan, Indonesia*), (h-index : 4)
- Prof. Dr. Dwinardi Apriyanto (*Ilmu Hama-University Bengkulu, Indonesia*), (Scopus ID : 6507231035)
- Prof. Dr. Ir. Dyah Iswantini (*Biokimia-Institut Pertanian Bogor, Indonesia*), (ID Scopus : 6505944957)
- Dr. Edi Santoso, SP., MSi (*Ekofisiologi-Departemen Agronomi dan Hortikultura, Faperta IPB, Indonesia*)
- Prof. Dr. Ir. Elna Karmawati (*Entomologi-Center for Estate Crops Research and Development, Indonesia*), (Scopus ID : 26531334600)
- Dr. Hagus Tarno, Agr.Sc (*Entomologi-Universitas Brawijaya, Indonesia*), (Scopus ID : 36163526900; h-index : 2)
- Dr. Ir. I Made Samudera (*Entomologi Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian*)
- Prof. Dr. Ir. I Wayan Laba (*Entomologi-Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat, Indonesia*), (h-index : 6)
- Dr. Lisnawita (*Fitopatologi-Universitas Sumatera Utara, Indonesia*), (Scopus ID : 55780066800)
- Dr. Ir. Muhamad Yunus, M.Si (*Pemulia Tanaman-Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, Indonesia*)
- Prof. Dr. Nanik Setyowati (*Budidaya Tanaman-Universitas Bengkulu, Indonesia*), (ID Scopus : 57189367022)
- Dr. Neni Rostini (*Pemulia Tanaman-Universitas Padjadjaran Bandung, Indonesia*), (h-index : 5)
- Dr. Ir. Nurliani Bermawie (*Pemuliaan-Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat, Indonesia*), (Scopus ID ; 55993158700; h-index : 1)
- Dr. Ratu Safitri, MS (*Mikrobiologi-Universitas Padjadjaran Bandung, Indonesia*), (ID Scopus : 6506729561)
- Prof. Dr. Ir. Risfaheri, M.Si (*Teknologi Pascapanen-Indonesian Center for Agricultural Postharvest Research and Development, Indonesia*)
- Prof. Dr. Ir. Rosihan Rosman, MS (*Ekofisiologi-Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat, Indonesia*)
- Dr. Ir. Siswanto, M.Phil, (*Entomologi-Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan, Indonesia, Indonesia*)
- Dr. Sri Yuliani (*Teknologi pascapanen-Indonesian Center for Agricultural Postharvest Research and Development, Indonesia*), (Scopus ID : 9844293200 / h-Index : 6)
- Prof. Ir. Totok Agung Dwi Haryanto, M.P, Ph.D (*Pemulia Tanaman-Universitas Jenderal Soedirman, Indonesia*), (Scopus ID : 6506751630)
- Ir. Usman Daras, M.Agr.Sc (*Budidaya Tanaman-Balai Penelitian Tanaman Industri, Indonesia*), (Scopus ID : 56429655600; h-index : 2)
- Dr. Yudiwanti (*Pemulia Tanaman-Institut Pertanian Bogor, Indonesia*), (h-index : 2)
- Dr. Yulin Lestari (*Kimia-Institut Pertanian Bogor, Indonesia*), (ID Scopus : 35107494200)
- Dr. Yuyu Suryasari (*Biologi Molekuler-Pusat Penelitian dan Pengembangan Biologi-LIPI, Indonesia*), (Scopus ID : 6503885123)

ISSN : 0215-0824
E-ISSN : 2527-4414

BULETIN PENELITIAN
TANAMAN REMPAH DAN OBAT
Bulletin of Research on Spice and Medicinal Crops

Volume 28, Nomor 1, Mei 2017

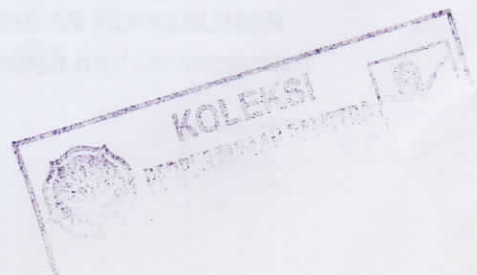
KATA PENGANTAR

Puji syukur kita panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Kuasa, Buletin Penelitian Tanaman Rempah dan Obat Volume 28, Nomor 1, tahun 2017 dapat diselesaikan. Buletin ini berisi 10 artikel yang terdiri atas berbagai bidang masalah dan disiplin ilmu pada Tanaman Rempah dan Obat. Artikel pertama penyebaran benih varietas unggul jambu mete di Kawasan Timur dan Barat Indonesia. Artikel kedua adalah pemupukan nitrogen dan fosfor untuk meningkatkan pertumbuhan, produksi biji dan kandungan *thymoquinone* jintan hitam. Artikel ketiga menyajikan aktivitas penghambatan polimerisasi heme ekstrak daun sembung (*Blumea balsamifera*) sebagai antimalaria. Artikel keempat transformasi gen pada nilam untuk ketahanan terhadap penyakit utama menggunakan *Agrobacterium tumefaciens*. Artikel kelima adalah keefektifan formula nanoemulsi minyak serai wangi terhadap potyvirus penyebab penyakit mosaik pada tanaman nilam. Artikel keenam potensi cendawan endofit asal akar lada untuk meningkatkan pertumbuhan dan menekan *Phytophthora capsici* pada benih lada. Artikel ketujuh struktur dan komposisi gulma pada tanaman lada yang berperan untuk mengkonservasi serangga parasitoid. Artikel kedelapan effect of essential oil combination on mortalities and oviposition deterrents of *Crociodolomia pavonana* and *Helopeltis antonii*. Artikel kesembilan siklus hidup ulat *Nyctemera coleta* dan *Paliga auratalis* pada tanaman daun sambung nyawa (*Gynura procumbens*). Artikel kesepuluh keefektifan *Beauveria bassiana* dan pupuk organik cair terhadap *Nilaparvata lugens*.

Kami mengucapkan terima kasih kepada semua penulis yang sudah mengisi Buletin Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (*Bul. Littro*) para Mitra Bebestari, serta semua pihak yang sudah membantu, sehingga *Bul. Littro* dapat diselesaikan tepat pada waktunya. Akhir kata semoga artikel dalam *Bul. Littro* ini bermanfaat, khususnya bagi yang memerlukan.

Ketua Dewan Redaksi

Dr. Oti Rostiana, M.Sc



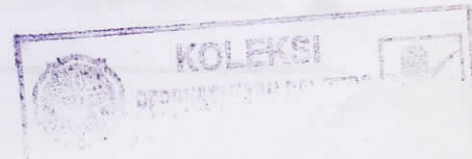
BULETIN PENELITIAN
TANAMAN REMPAH DAN OBAT
Bulletin of Research on Spice and Medicinal Crops

Volume 28, Nomor 1, Mei 2017

DAFTAR ISI

Penyebaran Benih Varietas Unggul Jambu Mete di Kawasan Timur dan Barat Indonesia Oti Rostiana, Wawan Haryudin dan Jajat Darajat	1-14
Pemupukan Nitrogen dan Fosfor untuk Meningkatkan Pertumbuhan, Produksi Biji dan Kandungan <i>Thymoquinone</i> Jintan Hitam Rudi Suryadi, Munif Ghulamahdi dan Ani Kurniawati	15-28
Aktivitas Penghambatan Polimerisasi Heme Ekstrak Daun Sembung (<i>Blumea balsamifera</i>) sebagai Antimalaria Eris Septiana, Aulia Umaroh, Erlindha Gangga dan Partomuan Simanjuntak	29-36
Transformasi Gen pada Nilam untuk Ketahanan terhadap Penyakit Utama Menggunakan <i>Agrobacterium tumefaciens</i> Sukanto, Tri Joko Santoso, Atmitri Siharmuni, Aniversari Apriana, Amalia dan Nursalam Sirait	37-46
Keefektifan Formula Nanoemulsi Minyak Serai Wangi terhadap Potyvirus Penyebab Penyakit Mosaik pada Tanaman Nilam Rita Noveriza, Maya Mariana dan Sri Yuliani	47-56
Potensi Cendawan Endofit Asal Akar Lada untuk Meningkatkan Pertumbuhan dan Menekan <i>Phytophthora capsici</i> pada Benih Lada Dono Wahyuno, Dini Florina dan Dyah Manohara	57-64
Struktur dan Komposisi Gulma pada Tanaman Lada yang Berperan untuk Mengkonservasi Serangga Parasitoid Rismayani dan Andriana Kartikawati	65-74
Effect of Essential Oil Combination on Mortalities and Oviposition Deterrents of <i>Crociodolomia pavonana</i> and <i>Helopeltis antonii</i> Tri Lestari Mardiningsih and Rodiah Balfas	75-88
Siklus Hidup Ulat <i>Nyctemera coleta</i> dan <i>Paliga auratalis</i> pada Tanaman Daun Sambung Nyawa (<i>Gynura procumbens</i>) Rismayani dan Rohimatun	89-96
Keefektifan <i>Beauveria bassiana</i> dan Pupuk Organik Cair terhadap <i>Nilaparvata lugens</i> Molide Rizal, Tri Eko Wahyono dan Cucu Sukmana	97-104

Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian
 Agency for Agricultural Research and Development
PUSAT PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN PERKEBUNAN
Indonesian Center for Estate Crops Research and Development
 Bogor, Indonesia



PENYEBARAN BENIH VARIETAS UNGGUL JAMBU METE DI KAWASAN TIMUR DAN BARAT INDONESIA

The Spreading of Cashew Superior Variety-seeds in the Eastern and Western Regions of Indonesia

Oti Rostiana, Wawan Haryudin dan Jajat Darajat

Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat
Jalan Tentara Pelajar No. 3 Bogor 16111
Telp 0251-8321879 Faks 0251-8327010
otihrostiana@gmail.com

(diterima 08 Maret 2017, direvisi 27 Maret 2017, disetujui 14 April 2017)

ABSTRAK

Rehabilitasi dan ekstensifikasi pertanaman jambu mete di sentra produksi merupakan program strategis untuk meningkatkan produksi nasional. Menteri Pertanian sudah melepas sembilan varietas unggul jambu mete nasional. Dalam pelaksanaannya, program rehabilitasi dan ekstensifikasi masih terkendala oleh terbatasnya jumlah benih unggul karena sistem penyebarannya masih belum tertata secara baik. Tujuan penelitian adalah mengidentifikasi dan mengevaluasi penyebaran benih varietas unggul jambu mete di sentra produksi Kawasan Timur dan Barat Indonesia. Data primer diperoleh melalui survei lapangan secara sengaja (*purposive random sampling*) di beberapa lokasi calon kebun sumber benih, sedangkan data tentang penyebaran, asal-usul populasi dan penciri/karakteristik utama calon sumber benih jambu mete diperoleh berdasarkan *desk study*. Hasil penelitian menunjukkan kesembilan varietas unggul jambu mete nasional, sebagian besar berasal dari hasil seleksi populasi pertanaman jambu mete milik petani di beberapa lokasi pengembangan mete. Penyebaran varietas unggul jambu mete tersebut mengikuti minat petani dan kondisi lingkungan yang sesuai dengan daerah pengembangannya yang baru. Varietas unggul yang banyak dikembangkan di Wilayah Timur Indonesia (NTT, NTB, Sulawesi Tenggara dan Maluku Utara) adalah keturunan dari populasi Muna dan MPF 1, sedangkan di Wilayah Barat Indonesia adalah keturunan varietas Meteor YK. Kemurnian benih dari calon kebun benih jambu mete perlu dimonitor mutunya karena jambu mete sifatnya menyerbuk silang. Selain itu, untuk menjamin ketersediaan benih sumber jambu mete berkelanjutan, setiap sentra produksi harus membangun kebun induk terbarukan karena blok penghasil tinggi jambu mete yang ada saat ini sudah tua dan produksinya akan terus menurun.

Kata kunci: *Anacardium occidentale*, penyebaran benih

ABSTRACT

The rehabilitation and extensification of cashew nut in cashew production centers is the strategic programs to increase national productivity. The Minister of Agriculture has released nine superior varieties of cashew nut. However, the implementation of both rehabilitation and extensification programs are restraint by the limited number of cashew superior variety-seeds because it is not well distributed. The research objective was to identify and evaluate the spread of cashew superior variety-seeds in several production centers in Eastern and Western Indonesia. Primary data were obtained through *purposive random sampling* method in seed orchard candidates at several locations, while the data about distribution, population origin and main characteristic of the source of cashew variety-seeds were obtained from *desk study*. The results indicated the nine superior varieties of cashew nut mostly derived from the selection of existing cashew plantation owned by farmers in several locations. The distribution of the nine superior varieties followed the interests of farmers and environmental conditions in accordance with the new development area. The superior varieties developed in Eastern Indonesia (West and East Nusa Tenggara, Southeast Sulawesi and North Maluku) were the progenies of population from Muna and MPF 1 varieties, whereas in the Western Indonesia was the progenies of Meteor YK variety. The purity of seeds planted in the seed orchard candidates should be monitored regularly because of its cross-pollinated characteristic. Further, to guarantee the availability of sustainable cashew seed sources, each

production center should build a renewable orchard seed, because the high-producing block of existing cashew is old hence its productivity will continue to decline.

Key words: *Anacardium occidentale*, *seeds-spreading*

PENDAHULUAN

Pengembangan jambu mete di Indonesia sudah lama dilakukan, terutama pada lahan marginal beriklim kering di Wilayah Barat dan Timur Indonesia. Kondisi lahan umumnya tanah berbatu dan tingkat kesuburan relatif rendah. Hal ini terjadi karena pada awalnya penanaman jambu mete dimaksudkan untuk penghijauan dan rehabilitasi lahan (Daras dan Pitono 2006). Namun, karena hasil gelondong jambu mete bernilai ekonomi, maka banyak rakyat yang menanam jambu mete secara sukarela.

Total luas areal perkebunan jambu mete di Indonesia pada tahun 2016 mencapai 526.336 ha, dengan produksi gelondong 123.549 ton (Ditjenbun 2016). Luas areal dan produksi jambu mete terus mengalami penurunan dari tahun ke tahun akibat tanaman semakin tua dan kurang pemeliharaan, serta alih fungsi lahan (Sulle 2007). Peningkatan produksi dan produktivitas jambu mete dapat dilakukan melalui peremajaan (rehabilitasi) tanaman dan perluasan areal tanam (ekstensifikasi). Pengembangan jambu mete di sentra produksi, baik untuk rehabilitasi pertanaman yang sudah ada maupun ekstensifikasi penanaman di lahan baru, masih terkendala oleh ketidakmampuan petani dalam menyediakan benih unggul dan sarana produksi lainnya.

Sesuai dengan Peraturan Menteri Pertanian Nomor 50/Permentan/KB.020/9/2015 tentang Pedoman Produksi, Sertifikasi, Peredaran dan Pengawasan Benih Tanaman Perkebunan, benih jambu mete yang dibudidayakan harus berasal dari varietas unggul yang sudah dilepas oleh Menteri Pertanian atau unggul lokal yang ditetapkan oleh Direktur Jenderal Perkebunan atas nama Menteri Pertanian. Sampai saat ini, Kementerian Pertanian telah melepas sembilan varietas unggul jambu mete nasional, sebagian besar berasal dari

hasil seleksi populasi pertanaman jambu mete milik petani di beberapa lokasi pengembangan jambu mete. Namun, penyebaran varietas unggul yang sudah dilepas masih terbatas karena petani mempunyai selera sendiri dalam memilih jenis varietas di kebunnya berdasarkan kondisi lingkungan lahannya (Ferry 2012). Selain itu, keterbatasan benih bina dan jauhnya lokasi penyebaran areal pertanaman jambu mete dari pusat produksi benih bina yang telah dilepas, menyebabkan pengembangan sembilan varietas yang telah dilepas tidak terdata secara baik, padahal informasi tentang sebaran varietas jambu mete tertentu merupakan indikator yang berguna bagi pemulia untuk mengevaluasi keragaan varietas pada kondisi lapangan untuk bahan perbaikan varietas di masa depan. Oleh karena itu, keberadaan varietas yang sudah dilepas dan sumber benih yang tersedia serta status pengembangannya perlu ditelusuri. Penelitian bertujuan untuk mengidentifikasi dan mengevaluasi penyebaran benih varietas unggul jambu mete di beberapa sentra produksi di Indonesia.

BAHAN DAN METODE

Karakterisasi lokasi

Penelitian dilakukan sejak tahun 2014 sampai tahun 2016, di beberapa calon kebun sumber benih di beberapa sentra pengembangan jambu mete. Lokasi penelitian dipilih secara sengaja, berdasarkan data statistik perkebunan komoditi jambu mete yang terdapat di 8 provinsi, yaitu Provinsi Nusa Tenggara Timur (Kabupaten Alor, Manggarai, Timor Tengah Selatan, Negekeo, Sumba Timur, Sumba Barat Daya, Flores Timur dan Ende); Sulawesi Tenggara (Kabupaten Buton dan Muna); Sulawesi Selatan (Kabupaten Pangkep dan Jeneponto); DI. Yogyakarta (Kabupaten Gunung Kidul dan Bantul); Jawa Tengah (Kabu-

paten Wonogiri); Jawa Timur (Kabupaten Bangkalan dan Sumenep); Maluku Utara (Kabupaten Sula); Nusa Tenggara Barat (Kabupaten Lombok Utara, Lombok Barat, Lombok Tengah dan Lombok Timur). Data karakteristik lokasi calon kebun sumber benih jambu mete yang telah dipilih, dikumpulkan melalui *desk study*, berdasarkan data BPS masing-masing provinsi/kabupaten tahun 2014-2016.

Penyebaran, potensi produksi dan karakterisasi benih sumber

Data sekunder tentang penyebaran, asal-usul populasi dan penciri/karakteristik utama calon sumber benih jambu mete diperoleh melalui *desk study* dari Direktorat Jenderal Perkebunan dan SK Menteri Pertanian terkait pelepasan sembilan varietas unggul jambu mete. Data primer (potensi produksi benih) diperoleh melalui survei lapangan menggunakan teknik penarikan contoh secara sengaja (*purposive random sampling*) di beberapa lokasi calon kebun sumber benih yang sudah terdata, berdasarkan laporan dinas terkait di daerah (provinsi). Pengumpulan data primer di lapangan mengacu kepada Pedoman Produksi, Sertifikasi, Peredaran dan Pengawasan Benih Tanaman Jambu Mete (*Anacardium occidentale* L.), yang tertuang di dalam Keputusan Menteri Pertanian Republik Indonesia Nomor 327/Kpts/Kb.020/10/2015, beserta lampirannya, serta Petunjuk Teknis Penilaian dan Penetapan Blok Penghasil Tinggi (BPT) Jambu Mete (Ditjenbun 2013). Parameter yang diamati dan dikumpulkan adalah jenis sumber benih (blok penghasil tinggi/BPT atau kebun induk/KI), tahun tanam, asal-usul benih, luas pertanaman (ha), jumlah total populasi, jumlah pohon induk terpilih/PIT, potensi produksi benih, dan deskripsi karakter utama.

Metode pengambilan pohon contoh

Blok penghasil tinggi (BPT) yang ditentukan, sesuai dengan persyaratan seperti tercantum dalam Petunjuk Teknis Penilaian dan Penetapan Blok Penghasil Tinggi (BPT) Jambu Mete

(Ditjenbun 2013). Pada setiap lokasi BPT diambil minimal seluas 2,5 ha, populasi tanaman berumur > 10 tahun, produksi rata-rata > 10 kg gelondong/pohon/tahun, pertumbuhannya seragam dan baik, sehat, serta jarak tanamnya teratur. Selanjutnya dipilih 10% pohon contoh dari BPT. Setiap pohon contoh dipilih secara sengaja, yaitu pohon contoh pertama diambil dari tanaman pada baris pinggir. Pohon contoh kedua dan seterusnya ditentukan berdasarkan jumlah lompatan, dengan rumus:

$$\text{Jumlah lompatan tanaman} = \frac{\text{jumlah tanaman per blok}}{\text{jumlah pohon contoh}}$$

Metode taksasi benih (Ditjenbun 2013)

Perkiraan jumlah entres dari suatu populasi tanaman jambu mete dihitung berdasarkan rumus:

Taksasi produksi entres per pohon = luas kanopi per pohon x P x Faktor koreksi (40%).

Luas permukaan kanopi tanaman (m^2) berbentuk $\frac{1}{2}$ bola (payung) = $\frac{1}{2} (4 \pi r^2)$;

berupa silinder = $2 \pi r t$ [$\pi = 3,14$; r = Jari-jari ($1/2$ lebar kanopi tanaman); t = tinggi tanaman].

P (jumlah rata-rata pucuk per m^2) = Rata-rata jumlah pucuk dari tiga pengamatan/ulangan (3), dengan arah yang berbeda, dan ukuran luas pengamatan 1×1 m.

Perkiraan jumlah biji (gelondong) dari suatu populasi tanaman jambu mete dihitung berdasarkan rumus:

Taksasi produksi benih (gelondong/pohon) = Luas kanopi x R x Faktor koreksi (40%)

Luas permukaan kanopi tanaman (m^2) berbentuk $\frac{1}{2}$ bola (payung) = $\frac{1}{2} (4 \pi r^2)$;

berupa silinder = $2 \pi r t$ [$\pi = 3,14$; r = Jari-jari ($1/2$ lebar kanopi tanaman); t = tinggi tanaman].

R (jumlah buah per m^2) = $P \times Q$

P (jumlah rata-rata pucuk per m^2) = Rata-rata jumlah pucuk dari tiga pengamatan/ulangan (3), dengan arah yang berbeda, dan ukuran luas pengamatan 1×1 m.

Q (jumlah rata-rata tangkai buah per m^2) = Rata-rata jumlah tangkai buah dari tiga pengamatan/ulangan, dengan arah yang berbeda, dan ukuran luas pengamatan 1×1 m.

Analisis data

Data hasil penelitian (data lapangan hasil inventarisasi) diolah secara deskriptif dengan pembandingan data dasar (data sekunder) Direktorat Jenderal Perkebunan dan SK Menteri Pertanian terkait pelepasan sembilan varietas unggul jambu mete.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik lokasi

Secara umum, kondisi agroekologi semua lokasi penanaman jambu mete di sentra produksi kabupaten/provinsi memiliki karakteristik yang relatif sama, yaitu tempat tumbuh dataran rendah, di lahan marginal beriklim kering, curah hujan dan jumlah hari hujan rendah (Tabel 1). Jumlah curah hujan dan hari hujan, merupakan faktor utama yang berpengaruh terhadap produksi jambu mete di Benin bagian Tengah dan Tenggara, Afrika Barat (Balogoun *et al.* 2016). Jambu mete membutuhkan jumlah curah hujan antara 1.000-2.000 mm per tahun dengan masa pembungaan antara 4-6 bulan (Dadzie *et al.* 2014). Delapan provinsi calon kebun sumber benih jambu mete yang dinilai sudah memenuhi kriteria tersebut, kecuali DI. Yogyakarta dengan jumlah curah hujan 2.226 mm tahun⁻¹.

Tipe lahan tempat tumbuh jambu mete pada setiap lokasi pengembangan umumnya tanah berbatu dengan kandungan bahan organik rendah, jenis tanah seperti lithosol, regosol, grumusol atau latosol. Jambu mete dengan karakteristik perakaran yang ekstensif dapat menjangkau air tanah di lapisan bawah, sehingga tetap dapat memenuhi kebutuhan airnya dengan baik sekalipun pada musim kering. Hal ini menyebabkan tanaman jambu mete sangat toleran terhadap kekeringan dan berkembang baik di lahan kering wilayah Timur Indonesia (Pitono *et al.* 2016). Di Kabupaten Muna, Sulawesi Tenggara, pertanaman jambu mete asal Keca-matan Tongkuno yang ditanam pada tanah merah ultisol atau oxisol berbatu (BPS 2013), menghasilkan kacang mete kualitas prima dengan rasa khas. Walaupun tanaman jambu mete dapat tumbuh pada beberapa tipe tanah berbatu, tetapi sebenarnya tanaman ini lebih menyukai tanah lempung berpasir walaupun memiliki tingkat kesuburan yang rendah, kandungan bahan organik sangat rendah, dan kapasitas tukar kation yang rendah pula. Oleh karena itu, upaya manajemen budidaya yang utama adalah meningkatkan kesuburan lahan dan menanam benih varietas unggul untuk mencapai potensi produksi yang lebih tinggi sampai 3.000 kg gelondong ha⁻¹ (Xavier *et al.* 2013).

Tabel 1. Karakteristik iklim di lokasi calon kebun sumber benih jambu mete di 8 provinsi.

Table 1. Climate characteristics of prospective orchard of cashew seed sources in 8 provinces.

No.	Provinsi	Ketinggian tempat (m dpl)	Suhu udara (°C)	Kelembapan udara (%)	Jumlah curah hujan per tahun (mm)	Jumlah hari hujan per tahun
1	JawaTengah	50-100	28,2	79,0	1.508,0	87
2	Jawa Timur	10	32,9	83,9	1.760,2	*
3	DI. Yogyakarta	60-80	24,2	83,5	2.226,0	161
4	Nusa Tenggara Barat	10-30	32,8	77,0	1.029,0	124
5	Nusa Tenggara Timur	25-100	27,6	77,0	1.261,0	105
6	Sulawesi Tenggara	30-100	27,7	76,0	1.468,7	134
7	Sulawesi Selatan	100	28,6	70,8	1.032,0	*
8	Maluku Utara	30-100	28,0	82,0	1.129,3	108

Keterangan/Note:

Diolah dari data BPS masing-masing provinsi/kabupaten tahun 2014-2016 (Processed from Central Bureau of Statistics data of each province or district of 2014-2016).

* Data tidak tersedia (Data not available).

Penyebaran sumber benih dan potensi produksi benih

Dalam rangka penyediaan benih jambu mete bermutu, inventarisasi sumber benih telah dilakukan oleh Direktorat Jenderal Perkebunan (Tabel 2).

Sampai tahun 2015 sumber benih jambu mete tersedia di 11 provinsi, dari 25 provinsi yang

mengembangkan. Sumber benih tersebut ditetapkan dengan dasar hukum (legalitas) melalui Surat Keputusan Kepala Dinas Provinsi yang memiliki kewenangan sertifikasi benih. Namun legalitas sumber benih tersebut belum sesuai dengan Permentan 50/2015 yang menyatakan bahwa sumber benih harus ditetapkan oleh Direktur Jenderal Perkebunan atas nama Menteri Per-

Tabel 2. Sebaran varietas dan sumber benih, serta populasi pohon induk terpilih tanaman jambu mete di 11 provinsi tahun 2015.

Table 2. The distribution of cashew varieties and seed sources, and the selected mother trees population in 11 provinces in 2015.

No.	Provinsi/ Kabupaten	Varietas/jenis sumber benih	Tahun tanam	Luas (ha)	Jumlah tegakan (pohon)	Pohon induk terpilih (pohon)	Produksi gelondong/ entres per tahun
1	Jawa Tengah/Kab. Wonogiri, Jepara	Unggul Lokal/BPT	1990	14	2.418	1.451	2.176.200
2	Jawa Timur/Kab. Sumenep	Unggul Lokal/BPT	-	100	10.000	6.000	9.000.000
	Kab. Sampang	Unggul Lokal/KI	2007/2008	17	2.431	-	TBM
		GG1/KI	2012	5	1.000	-	TBM
3	Bali (Kab. Buleleng, Karang Asem)	Srilanka/BPT	1980/1982 /1993	79	12.828	7.697	11.545.200
4	DI Yogyakarta/ Kab. Bantul	Meteor YK/BPT	-	15	1.800	1.080	1.620.000
	Kab. G. Kidul	Meteor YK /BPT	1998	25	3.000	1.800	2.700.000
		Unggul lokal/KI	1998	1	167	-	-
		Meteor YK/KI	2009	7,5	1.073	-	-
5	Sulawesi Tengah/ Kab. Banggai	Srilanka/KE	1996	3	345	207	207.000
		Unggul Lokal SulSel/KI	2000	1	140	84	126.000
	Kab. Donggala	Srilanka/KE	1997	20	919	551	551.400
		Srilanka/KI	1996	1	142	85	127.800
	Kab. Poso	Srilanka/KI	2008	7	1.001	-	-
6	Sulawesi Selatan/ Kab. Pangkep,	Unggul lokal/BPT	1970/1988	70,1	2.938	1.762	2.644.200
		Unggul Lokal/KI	2006	2	286	-	-
	Kab. Maros	Unggul Lokal/KI	1996/2006 /2008	24	4.216	-	-
		Unggul Lokal/BPT	1970/1998 /2007	185,14	6.233	2.240	3.359.700
	Kab. Barru	Unggul Lokal/BPT	1970/1988	25,5	1.897	1.138	1.706.500
		Unggul Lokal/KI	2006	2	286	-	-
	Kab. Pinrang dan Gowa	-/KI	2004/2008	27	3.861	-	-
	Kab. Wajo	Unggul lokal/BPT	-	1	88	53	79.200
7	Sulawesi Tenggara Kab. Muna	Populasi Muna/KI	2014	5	500	-	TBM
		Populasi Muna/ BPT	1990-an	27,5	2.114	376	100.350

Tabel 2. Lanjutan...

Table 2. Continued...

No.	Provinsi/ Kabupaten	Varietas/jenis sumber benih	Tahun tanam	Luas (ha)	Jumlah tegakan (pohon)	Pohon induk terpilih (pohon)	Produksi gelondong/ entres per tahun
8	NTB/Kab. Lombok Barat	Unggul Lokal/BPT	1978/1997	81,8	8.142	4.885	7.327.800
		Srilanka/KE	1995	1	209	125	125.400
	Kab. Lombok Tengah	Srilanka/KE	1998	5	968	580	579.600
		-/KI	2009	5	500	-	-
	Kab. Lombok Timur	Srilanka/KE	1994/1995	4	716	430	429.600
		Unggul lokal/KE	1997	2	720	432	432.000
		-/KI	2009	10	1430	-	-
		Unggul lokal/BPT	1990	148,5	19.940	10.764	16.146.000
	Kab. Sumbawa	Unggul lokal/BPT	2007	100	1.500	900	1.350.000
	Kab. Dompu	MPF1/MPE1/ B02-KI	2012	10	1.000	-	-
9	NTT	MPE/Meteor YK/ MPE-KI	2009	5			
	Kab. Sumba Timur	MPF 1/BPT	1978	9,5	950	570	855.000
	Kab. Flores Timur	Unggul lokal/BPT	1987/1988	14	1.568	941	841.200
	Kab. Ende		/1999				
		MPE/BPT	1987/1999	6	637	394	591.300
		MPE/MPF/Meteor YK/KI	2009	5	300	-	-
	Kab. Sikka, Lembata, Belu, TTU, TTS, Alor, Manggarai, Ngada, Sumba Barat Daya, Sumba Tengah	MPF1/MPE1/ Meteor YK/KI	2009/2011 -2013	60	4.815	-	-
	Kab. Sumba Barat	MPE/MPF/Meteor YK/KI	2009/2012	10	1215	729	1.093.500
	Kab. Manggarai Barat	MPE/MPF/Meteor YK/KI	2009	5	715	429	643.500
	10 Maluku/Kab. Buru	Unggul Lokal/BPT	2004	31,5	625	375	562.500
11	Kab. Seram Barat	Unggul lokal/KE	2004	2	238	95	95.200
	11 Maluku Utara /Kab. Sula	Ende/KI	2009	5		715.171	-

Keterangan/Note:

Diolah dari data Sumber Benih Tanaman Jambu Mete Tahun 2015, Direktorat Tanaman Tahunan dan Penyegar (*Processed data from the List of Seed Sources of Cashew Orchards of Year 2015, Directorate of Tree Plantation and Freshener*) (Ditjenbun 2015)).

BPT = Blok Penghasil Tinggi (*High yielding block*); KI= Kebun Induk (*Seeds Orchard*); KE=Kebun Entres (*Scion-seeds Orchard*).

tanian. Sumber benih yang dapat ditetapkan harus berasal dari benih bina sembilan varietas unggul jambu mete yang telah dilepas atau varietas unggul lokal yang tersedia di sekitar lokasi pengembangan. Dalam rangka memenuhi asas legalitas sesuai Permentan 50/2015, maka dilakukan inventarisasi dan penilaian kebun sumber benih jambu mete di beberapa lokasi. Hasil inven-

tarisasi seperti pada Tabel 3.

Berdasarkan data hasil survei lapangan pada kegiatan inventarisasi dan penilaian calon kebun sumber benih tahun 2014-2016 (Tabel 2), populasi jambu mete yang terdapat di 21 kabupaten masih layak digunakan sebagai kebun sumber benih kecuali di Kabupaten Lombok Barat, Lombok Tengah, dan Lombok Timur Nusa Teng-

Tabel 3. Karakteristik calon kebun sumber benih jambu mete dan potensi produksi benih di beberapa kabupaten dari delapan provinsi berdasarkan hasil inventarisasi lapang pada tahun 2014-2016.

Table 3. The characteristics of candidates of cashew seeds source orchard and seeds production potential in several districts of eight provinces based on field inventory results in 2014-2016.

No.	Lokasi (Kabupaten/ Provinsi)	Jenis sumber benih	Tahun tanam	Asal benih	Luas (ha)	Jumlah total populasi (pohon)	Jumlah pohon induk terpilih	Potensi benih tahun ¹ (x1000 gelondong)	Deskripsi utama
1	Flores Timur/ NTT	BPT	1980-an	Bantul-DIY (MPF1)	40,4	4.805	469	29.500	Buah semu merah dan kuning; Gelon- dong besar berwarna abu- abu
2	Ende/NTT	BPT	1980-an	DIY (MPE1)	15,4	1.695	560	18.682	Buah semu merah, gelon- dong agak kecil
3	Timor Tengah Selatan /NTT	BPT	1997	Unggul lokal/ Muna	16,7	922	68	26.687	Buah semu merah keku- ningan; Gelon- dong besar, berwarna abu- abu
4	Alor/NTT	BPT	2002	Unggul lokal/ Tanjung bunga Flotim	10	1.556	156	18.096	Buah semu kecil berwarna merah dan kuning, gelondong agak kecil
5	Nagekeo/ NTT	BPT	1996	Unggul lokal/ Muna	19	2.027	274	27.097	Warna buah semu merah kekuningan; gelondong besar berwarna abu abu
6	Manggarai/NTT	BPT	1980-an	DIY (MPF1)	10,2	1.878	455	25.400	Buah semu merah dan kuning; Gelon- dong besar ber- warna abu-abu
7	Sumba Timur/ NTT	BPT	1995-an	Muna	10.297	5.197	451	12.075	Buah semu merah dan kuning, Gelon- dong besar ber- warna ke abu- abuan
8	Sumba Barat Daya/NTT	BPT	1987	Unggul lokal	2.259	***	***	***	***
9	Sula/Maluku Utara	BPT	1983/1985	Unggul lokal/ Muna	22	2.110	171	388	Buah semu merah dan kuning, gelon- dong agak kecil
10	Muna/Sulawesi Tenggara	KI	2012	Muna	5	-	-	-	Buah semu merah dan kuning; Gelon- dong besar
		BPT	1980-an	Unggul lokal/ Muna	27,5	2.114	376	26.153	Buah semu merah dan kuning, gelon- dong besar
11	Buton/ Sulawesi Tenggara	BPT	1986	Unggul lokal/ Muna	10,45	1.051	247	20.000	Buah semu merah; gelon- dong sedang berwarna abu abu

Tabel 3. Lanjutan ...
Table 3. Continued ...

No.	Lokasi (Kabupaten/ Provinsi)	Jenis sumber benih	Tahun tanam	Asal benih	Luas (ha)	Jumlah total populasi (pohon)	Jumlah pohon induk terpilih	Potensi benih tahun ⁻¹ (x1000 gelondong)	Deskripsi utama
12	Jeneponto/ Sulawesi Selatan	BPT	1987	Unggul lokal/ Muna	6,5	320	54	12.192	Buah semu merah kekuning- an; Gelondong besar berwarna abu abu dan kecokelatan
13	Pangkep/ Sulawesi Selatan	BPT	1996	Unggul lokal/ Muna	6,1	369	52	12.934	Buah semu merah; Gelon- dong besar ber- warna abu abu agak kecokelatan
14	Sumenep/ Jawa Timur	BPT	1977	Unggul lokal	42,08	-	984	50.995	Buah semu besar berwarna kuning dan merah; gelondong besar
15	Bangkalan/ Jawa Timur	BPT	1996	GG1	8,4	849	41	13.094	Buah semu merah; Gelon- dong sedang, berwarna abu- abu
16	Lombok Barat/ NTB	BPT	1997	Unggul lokal	*	*	*	*	*
17	Lombok Timur/ NTB	BPT	1990	Unggul lokal	*	*	*	*	*
18	Lombok Tengah/ NTB	KI	2009	Srilanka	5	500	**	**	**
19	Lombok Utara/ NTB	KI	1994	Unggul lokal/ Muna	2	150	15	10.097	Buah semu merah kekuning- an; Gelondong sedang berwar- na abu abu
20	Gunung Kidul/ DI.Yogyakarta	BPT	1970/ 1980-an	Meteor YK	3.565	3.770	453	15.600	Buah semu merah dan kuning; Bentuk Gelondong ginjal meruncing
21	Wonogiri/Jawa Tengah	BPT	1980/ 1990	Unggul lokal	109	8.550	300	14.500	Buah semu kemerahan; gelondong kecil

Keterangan/Note:

- * Pada saat dilakukan pemeriksaan lapang tahun 2015, lokasi populasi tanaman dimaksud tidak terlacak (*During field visits in 2015, the location of the plant population can not be traced*).
- ** Pada saat dilakukan pemeriksaan lapang pada tahun 2015, tanaman tidak terpelihara dengan baik sehingga potensi benih belum terukur (*During field visits in 2015, crops are poorly maintained so that potential seeds production can not be measured*).
- *** Pada saat dilakukan pemeriksaan lapang pada tahun 2014, hampir seluruh hamparan pertanaman jambu mete terserang ulat dalam frekuensi tinggi (rusak total), sehingga tidak dapat dilakukan pemilihan PIT dan taksasi benih (*At the time of field visits in 2014, almost all cashew plantation areas infected by caterpillars in high frequency (total damage), so that Selection of Parent Tree and the production of potential seeds taxation can not be done*).

gara Barat, serta Sumba Barat Daya di Nusa Tenggara Timur. Namun, lebih dari 40% tanaman sudah tua, sehingga kemampuan penyediaan benih dalam kurun waktu lima tahun ke depan akan terus menurun. Dari data tersebut, terlihat

bahwa sebaran sembilan varietas unggul yang telah dilepas tidak merata (Tabel 4).

Berdasarkan data sebaran varietas sebagai sumber benih pada Tabel 4, varietas unggul yang paling banyak diminati adalah populasi Muna dan

Tabel 4. Sebaran varietas unggul jambu mete sebagai sumber benih di provinsi sentra utama pengembangan.

Table 4. The distribution of cashew high yielding varieties as seed source in the province of major centers of development.

No.	Varietas	Provinsi pengguna sumber benih
1	GG1	Jawa Timur (Kab. Sampang)
2	MR 851	Tidak terekam
3	PK36	Tidak terekam
4	SM9	Tidak terekam
5	B02	Balittro
6	Meteor YK	DI. Yogyakarta, Jawa Tengah, NTT
7	MPF1	NTT
8	MPE1	NTT
9	Muna	Sulawesi Tenggara, Maluku Utara, Maluku, NTT, NTB

Flotim 1, serta Meteor YK. Populasi Muna dan Flotim 1 sebaran utamanya adalah di Wilayah Timur Indonesia seperti NTT, NTB, Sulawesi Tenggara dan Maluku Utara, sedangkan di Wilayah Barat Indonesia adalah keturunan varietas Meteor YK. Namun, beberapa varietas lainnya penyebarannya sangat terbatas di lokasi asalnya. Bahkan, varietas unggul PK 36 dan MR 851 asal Sulawesi Selatan dan SM 9, asal Jawa Timur, tidak dapat ditelusuri penyebarannya. Hal tersebut kemungkinan disebabkan oleh beberapa hal antara lain, kesamaan kondisi sosio-geografi lokasi pengembangan dengan asal benih, kemudahan transportasi dan komunikasi, serta kemampuan produsen benih dalam memproduksi dan menyebarkan benih. Namun, faktor utama yang membuat benih suatu varietas jambu mete menyebar luas adalah keunggulan yang diminati oleh petani. Misalnya, populasi Muna dan Flotim 1 banyak diminati oleh petani karena memiliki karakter gelondong besar, dan rasa kacang gurih-manis. Demikian juga varietas Meteor YK banyak diminati karena bentuknya bulat penuh dan memiliki rasa yang gurih, meskipun ukuran gelondong relatif lebih kecil.

Karakteristik benih sumber

Sejak tahun 2001, Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (Balittro) bekerjasama

dengan pemerintah daerah di sentra produksi jambu mete telah melepas sembilan varietas unggul nasional yang ditetapkan oleh Menteri Pertanian. Karakteristik utama sembilan varietas jambu mete yang telah dilepas seperti pada Tabel 5.

Jambu mete merupakan tanaman penyerbuk silang (tipe bunga *polygamous*) dengan komposisi bunga jantan : hermaprodit (6 : 1) (Purseglove 1982) sehingga penggunaan biji sebagai sumber benih dalam pembudidayaan jambu mete perlu diawasi secara ketat. Seleksi benih dilakukan mulai dari pemilihan blok penghasil tinggi (BPT) dan pohon induk (PIT) telah dilakukan pada beberapa kebun sumber benih, namun belum menjamin kemurnian benih seutuhnya. Oleh karena itu, perlu dilakukan pengujian kemurnian terhadap varietas tersebut untuk menjamin potensi genetiknya sesuai dengan varietas tetuanya. Hal ini didukung fakta bahwa BPT dan PIT pada beberapa kebun sumber benih, dalam satu hamparan belum dipisahkan antara varietas berbuah semu merah atau ber-buah semu kuning (Gambar 1). Bahkan sembilan varietas unggul yang telah dilepas dan berasal dari populasi, memiliki identitas ganda seperti Populasi Muna, MPF1 dan MPE 1 (Tabel 5).

Belum ada penelitian yang membedakan hasil maupun kualitas/mutu antara jambu mete yang berbuah semu kuning dan merah di Indonesia. Berbagai metode dapat diaplikasikan untuk menguji kesamaan antara tetua dengan turunannya, antara lain dengan marka morfologi, biokimia dan marka DNA yang tidak dipengaruhi oleh lingkungan sehingga mampu memberikan gambaran sifat genetik yang riil. Marka DNA yang paling banyak digunakan dan paling efisien adalah *randomly amplified polymorphic DNA* (RAPD) dan *simple sequence repeat* (SSR) PCR. Aplikasi RAPD dan SSR-PCR pada aksesori plasma nutfah jambu mete mampu mendeteksi keragaman dan kesamaan yang berkorelasi dengan sifat morfologi pembeda antar aksesori tersebut dengan tingkat kepercayaan tinggi (Thimmappaiah et al. 2009).

Tabel 5. Karakteristik utama sembilan varietas unggul jambu mete yang telah dilepas.

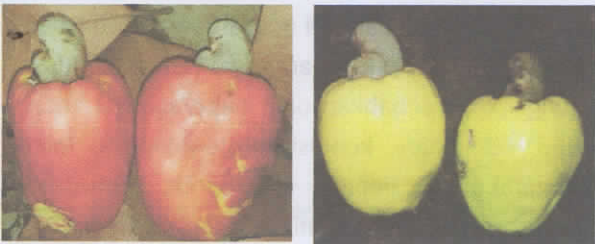
Table 5. The main characteristics of nine superior varieties of cashew that have been released.

No.	Karakter	Varietas								
		GG1	MR 851	PK 36	SM 9	BO2	Meteor YK	Populasi Flotim 1 (MPF1)	Populasi Ende 1 (MPE1)	Populasi Muna
1	Tahun Pelepasan	2001	2004	2004	2007	2007	2008	2008	2008	2012
2	Asal	Pasuruan	Maros	Pangkep	Srilanka	India	Yogya	Flotim	Ende	Muna
3	Produksi gelondong (kg pohon ⁻¹ tahun ⁻¹)	8,59	6,10	5,97	11,76	12,15	15,5	19.80 – 33,50	12,30 – 27,44	15.67-19.20
4	Umur (tahun)	6	5	5	11	11	40	30	30	15-39
5	Berat kacang (g butir ⁻¹)	1.66	2,45	2,35	3,32	3,92	2,3-2,9	2,00 – 4,20	1,60-3,00	1,99-2,73
6	Rasa kacang	Gurih manis	Agak gurih	Agak gurih	Tawar – agak gurih	Tawar	Gurih manis	Gurih manis	Gurih manis	Gurih Manis
7	Rendemen kacang (%)	30-32	33-39	33,40	32,47	31,66	34-37	28-38	28-38	31.40-34.09
8	Berat buah (g butir ⁻¹)	71-120	58, 47	62,92	58,47	130,40	64 - 128	128 - 228	64 - 215	90-210
9	Warna buah semu	Kuning	Kuning	Kuning-kemerahan	Merah-jingga	Kuning-kemerahan	Merah mengkilat	Merah mengkilat dan Kuning mengkilat	Merah dan Kuning	Merah dan Kuning
10	Bentuk buah semu	Lonjong panjang	Lonjong panjang	Lonjong	Lonjong	Lonjong	Lonjong	Lonjong besar di ujung	Lonjong besar di ujung	Bulat-Lonjong
11	Bentuk kacang/ gelondong	Ginjal	Ginjal	Ginjal	Ginjal	Ginjal	Ginjal ujung runcing/Kecil	Ginjal ujung runcing/Besar	Ginjal ujung tumpul	Ginjal terbuka
12	Jumlah buah/tros	19,70	11	10	25	11	9	15	26	13-22
13	Hama penyakit	Rentan	Rentan	Rentan	Toleran Helopeltis	Toleran Helopeltis	Rentan	Rentan	Rentan	Rentan

Data diolah dari SK Mentan tentang pelepasan varietas unggul jambu mete sesuai tahun pelepasan (*Processed from the data of the Minister of Agriculture Decree on the release of improved varieties of cashew nuts according to the released year*).

Buah semu jambu mete merupakan salah satu buah tropika favorit dan dikonsumsi oleh masyarakat di Brazil bagian Utara. Buah semu jambu mete dikelompokkan ke dalam tiga warna yaitu merah, kuning dan oranye. Namun yang paling banyak dikomersialkan adalah yang berwarna merah dan kuning, dengan empat bentuk berbeda, yaitu (1) Silindris, dengan diameter atas dan bawah hampir sama; (2) Conical hampir obovatus; (3) Bulat; dan (4) Piriformis, dengan bentuk leher jelas (IBPGR 1986). Selain dikonsumsi dalam bentuk segar, 10% produksi buah semu jambu mete di Brazil merupakan bahan baku industri jus, pulp, jam/selai, minuman beralkohol, kembang gula, madu (Dionísio *et al.* 2015). Penemuan terkini menyatakan bahwa ekstrak buah semu jambu mete terbukti memiliki aktivitas antimikroba, antibiofilm dan antioksidan (Dias-Souza *et al.* 2016).

Buah semu jambu mete mengandung beta karoten (*lutein*, *zeinoxanthin*, *cis-* dan *trans-b-*



Gambar 1. Jambu mete varietas MPE 1 asal Kabupaten Ende, Nusa Tenggara Timur dengan buah semu berwarna merah dan kuning.

Figure 1. MPE 1 variety of Ende, East Nusa Tenggara with red and yellow cashew apple.

cryptoxanthin, *a-carotene* dan *b-carotene* (*cis* dan *trans*), serta vitamin C yang berbeda-beda berdasarkan warna dan lokasi penanaman (Assunc dan Mercadante 2003). Buah semu berwarna merah, mengandung karotenoid 1,8 lebih tinggi dari buah semu kuning ketika ditanam di Brazil bagian Utara yang beriklim sedang dan 1,3 lebih tinggi ketika ditanam di Brazil Selatan yang beriklim panas. Sebaliknya, pro-vitamin A buah

semu kuning lebih tinggi daripada buah semu merah. Bentuk buah juga berpengaruh terhadap kandungan pro-vitamin A, dimana buah berbentuk silindris (baik merah maupun kuning) lebih tinggi daripada yang berbuah bulat (Assunção dan Mercadante 2003). Menurut Schweiggert *et al.* (2016) perbedaan warna antara buah semu berwarna merah dan kuning yang sama-sama kaya akan karotenoid, mengindikasikan adanya pigmen lain (non karotenoid) pada buah semu yang berwarna merah. Diantara empat antosianin, kelompok utama yang terdeteksi menggunakan spektroskopi NMR adalah *7-O-methylcyanidin 3-O-b-D-galactopyranoside*. Perbedaan kandungan buah semu berwarna merah dan kuning terutama ditentukan oleh ada atau tidaknya antosinin, sedangkan buah semu berwarna oranye merupakan akibat dari peningkatan konsentrasi karotenoid. Temperatur udara yang tinggi di bagian Utara Brazil merupakan areal ideal untuk menghasilkan buah semu dengan kandungan beta karoten tinggi karena biosintesis karotenoid relatif rendah pada suhu rendah (Assunc dan Mercadante 2003). Potensi pengembangan buah semu jambu mete di Indonesia masih terbuka lebar dengan sumberdaya yang tinggi, mengingat hampir semua areal pengembangan jambu mete di Indonesia merupakan daerah beriklim kering dengan suhu relatif tinggi (Tabel 1).

Nilai ekonomi utama jambu mete adalah gelondong (kernel). Bentuk gelondong jambu mete secara garis besar dibagi dua yaitu berbentuk ginjal atau oblong-elips, namun bervariasi dalam posisi relatif lekukan dengan ujung kacang, yaitu (1) Lekukan di depan ujung kacang; (2) Lekukan agak sejajar dengan ujung kacang; (3) Lekukan di belakang ujung kacang (IBPGR 1986). Sebagian besar varietas jambu mete di Indonesia berbentuk ginjal dengan jarak lekukan dan punggung kacang yang berbeda (rata, membulat atau menonjol), seperti pada Gambar 2, serta

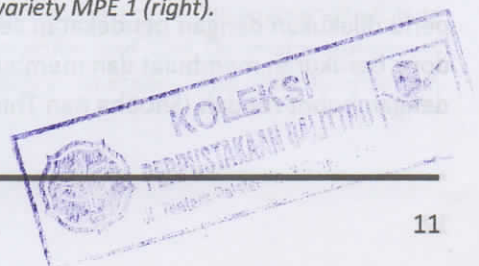
ukuran gelondong yang beragam. Gelondong dikategorikan kecil apabila bobot per butir 5-7 g, jumlah gelondong per kg 120-140 butir, sedangkan besar, >7 g butir⁻¹, dengan jumlah gelondong per kg >140 butir (Ditjenbun 2013). Salah satu unsur hara yang memegang peran penting dalam produksi gelondong jambu mete adalah nitrogen. Aplikasi pupuk nitrogen 170 kg ha⁻¹ pada saat pertumbuhan vegetatif (periode Desember-April) berpengaruh terhadap keterlambatan pembungaan dan gugur buah, namun produksi dipengaruhi secara signifikan oleh diameter kanopi, kerapatan pembungaan dan jumlah gelondong per pembungaan (O'Farrell *et al.* 2010).

Berdasarkan hasil inventarisasi di beberapa daerah pengembangan jambu mete, ukuran gelondong di setiap lokasi berbeda-beda. Ada indikasi, ukuran gelondong berkorelasi dengan bentuk dan ukuran buah semu. Pada beberapa varietas, gelondong besar apabila buah semu berbentuk lonjong seperti pada varietas Muna (Gambar 3), dan gelondong kecil apabila buah semu bentuknya membulat, seperti pada varietas MPE 1 (Gambar 2).



Gambar 2. Gelondong berbentuk ginjal dengan bentuk punggung membulat pada varietas berukuran besar MPF 1 (kiri) dan berukuran lebih kecil var. MPE 1 (kanan).

Figure 2. Kidney-shaped kernels with rounded forms at the back of the kernels from the larger variety MPF 1 (left) and smaller variety MPE 1 (right).





Gambar 3. Variasi ukuran gelondong dan warna serta bentuk buah semu pada beberapa varietas unggul dan varetas lokal jambu mete asal Sumenep (kiri dan tengah-atas), Lombok Utara (kanan-atas); Alor (kiri-bawah), Muna (tengah-bawah) dan Meteor YK (kanan-bawah).

Figure 3. The variations of kernels size, colors and forms of cashew apple from some superior varieties and local varieties of Sumenep (left and middle-upper), North Lombok (top-right); Alor (bottom-left), Muna (middle-bottom) and Meteor YK (bottom-right).

Sejalan dengan kebutuhan konsumen dalam negeri dan internasional, pengembangan varietas jambu mete perlu diarahkan untuk meningkatkan daya saing, seperti memiliki karakteristik ukuran kernel kelas pertama, yaitu U180 yang mengandung 187-219 buah biji per 500 g kernelnya (SNI 01-2906-1992). Untuk mencapai tujuan tersebut, dapat dilakukan dengan cara menggali potensi genetik lokal jambu mete di wilayah Indonesia lainnya dan program hibridisasi. Jambu mete bukan tanaman asli Indonesia, namun keragaman yang ditunjukkan dalam warna, bentuk dan ukuran buah semu dan gelondong, menunjukkan adanya adaptasi varietas terhadap lingkungan tumbuhnya yang baru, selain akibat segregasi karena jambu mete diperbanyak secara generatif dengan biji. Bobot gelondong dan bobot kacang premium merupakan standar yang diacu di pasar internasional sehingga program pemuliaan perlu dilakukan dengan pendekatan seleksi gelondong berukuran membulat dan membuang kacang dengan bobot rendah (Shobha dan Thimmappaiah

2011). (Cavalcanti *et al.* 2012), mengidentifikasi 11 lokus gen kuantitatif terkait sifat bobot gelondong (tiga lokus), tipe bunga jantan (empat lokus) dan bunga hermaprodit (empat lokus), yang secara signifikan mampu menjelaskan pengaruhnya terhadap fenotip.

Selain kernel/gelondong dan buah semu, bagian lain yang belum termanfaatkan secara maksimal adalah kulit kernel. Sembilan varietas jambu mete yang sudah dilepas juga belum teridentifikasi ketebalan kulit kernelnya. *Neat CNSO* (cashew nut shell oil) atau sering juga disebut *Neat CNSL* (cashew nut shell liquid) yang diolah dari kulit kernel mampu meningkatkan kapasitas kerja mesin dengan viskositas dan densitas yang tinggi, dan terbukti bahwa *Neat CNSO* mampu menampilkan performa viskositas sangat rendah dibandingkan dengan *CNSO methyl ester* (Kasiraman *et al.* 2016). Keragaman pada buah semu, bentuk dan ukuran serta bobot gelondong jambu mete, termasuk kulit kernel, yang tersebar di Indonesia merupakan aset yang dapat digunakan dalam

program perbaikan varietas jambu mete, namun belum dimanfaatkan secara optimal.

Berdasarkan hasil pengamatan lapang di delapan provinsi sentra produksi jambu mete, benih yang digunakan sebagian besar berasal dari program bantuan pemerintah c.q. Direktorat Jenderal Perkebunan melalui dinas terkait di daerah sehingga benih yang beredar sudah bersertifikat. Namun karena sumber benih (varietas unggul yang telah dilepas) berasal dari seleksi populasi dan ada beberapa varietas dengan identitas ganda, berbuah semu merah dan kuning, dalam penetapan kebun sumber benih harus dipisahkan menjadi identitas yang berbeda. Dengan demikian penyimpangan jenis (*off type*) dapat dikurangi dan kemurnian varietas terjamin sehingga upaya menjaga kualitas benih sebar untuk menjamin peningkatan produktivitas dan mutu jambu mete tercapai.

Produksi gelondong pada BPT jambu mete yang diinventarisasi tahun 2014-2016 tersebut masih memenuhi syarat sebagai sumber benih. Namun dalam lima tahun ke depan, tanpa pemeliharaan yang optimal kemampuan BPT jambu mete dalam menghasilkan benih akan terus menurun. Oleh karena itu perlu upaya pembaharuan dan/atau pembangunan kebun induk di setiap sentra pengembangan, agar ketersediaan benih bina terjamin dan berkesinambungan.

KESIMPULAN

Sebaran sembilan varietas unggul jambu mete yang telah dilepas tidak merata. Tiga varietas dengan sebaran paling banyak adalah varietas Muna dan Flotim1 di Wilayah Timur Indonesia (NTT, NTB, Sulawesi Tenggara dan Maluku Utara) dan keturunan Meteor YK di Wilayah Barat Indonesia. Tiga varietas (PK 36, MR 851 dan SM9) sebarannya tidak terekam. Pengujian kemurnian varietas yang telah tersebar perlu dilakukan untuk menjamin potensi genetik benih yang beredar sesuai dengan varietas tetuanya karena jambu mete menyerbuk silang dan diperbanyak dengan biji. Untuk menjamin ketersediaan benih bina

jambu mete yang berkesinambungan, daerah sentra produksi perlu membangun kebun induk yang terbarukan mengingat umur tanaman pada BPT jambu mete yang tersedia saat ini sudah tua dan produksinya akan terus menurun.

DAFTAR PUSTAKA

- Assunc, R.B. & Mercadante, A.Z. (2003) Carotenoids and Ascorbic Acid from Cashew Apple (*Anacardium occidentale* L.): Variety and Geographic Effects. *Food Chemistry*. 81, 495–502.
- Assunção, R.B. & Mercadante, A.Z. (2003) Carotenoids and Ascorbic Acid Composition from Commercial Products of Cashew Apple (*Anacardium occidentale* L.). *Journal of Food Composition and Analysis*. 16 (6), 647–657. doi:10.1016/S0889-1575(03)00098-X.
- Balogoun, I., Ahoton, L.E., Saidou, A., Bello, D.O., Ezin, V., Amadji, G.L., Ahohuendo, B.C., Babatounde, S., Chougourou, D.C. & Ahanchede, A. (2016) Effect of Climatic Factors on Cashew (*Anacardium occidentale* L.) Productivity in Benin (West Africa). *Journal of Earth Science & Climatic Change*. 7 (1), 1–10. doi:10.4172/2157-7617.1000329.
- BPS (2013) *Kabupaten Muna dalam Angka*. Seksi Integrasi Pengolahan dan Diseminasi Statistik (ed.) Muna, Badan Pusat Statistik Kabupaten Muna.
- Cavalcanti, J.J. V, dos Santos, F.H.C., da Silva, F.P. & Pinheiro, C.R. (2012) QTL Detection of Yield-related Traits of Cashew. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*. 12 (1), 60–66.
- Dadzie, A.M., Adu-gyamfi, P.K.K., Opoku, S.Y., Yeboah, J., Akpertey, A., Opoku-ameyaw, K., Assuah, M., Gyedu-akoto, E. & Danquah, W.B. (2014) Evaluation of Potential Cashew Clones for Utilization in Ghana. *Advances in Biological Chemistry*. 4, 232–239.
- Daras, U. & Pitono, J. (2006) Pengaruh Pemupukan terhadap Pertumbuhan dan Produksi Jambu Mete di Lombok. *Jurnal Littri*. 12 (1), 20–26.
- Dias-Souza, M. V., dos Santos, R.M., de Siqueira, E.P. & Ferreira-Marçal, P.H. (2016) Antibiofilm Activity of Cashew Juice Pulp against *Staphylococcus aureus*, High Performance Liquid Chromatography/Diode Array Detection and Gas Chromatography-mass Spectrometry Analyses, and Interference on

- Antimicrobial Drugs. *Journal of Food and Drug Analysis*. 1–8. doi:10.1016/j.jfda.2016.07.009.
- Dionísio, A.P., Carvalho-Silva, L.B. de, Vieira, N.M., Goes, T. de S., Wurlitzer, N.J., Borges, M. de F., Brito, E.S. de, Ionta, M. & Figueiredo, R.W. de (2015) Cashew-apple (*Anacardium occidentale* L.) and Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) Functional Beverage Improve the Diabetic State in Rats. *Food Research International*. 77, 171–176. doi:10.1016/j.foodres.2015.07.020.
- Ditjenbun (2013) *Petunjuk Teknis Penilaian dan Penetapan Blok Penghasil Tinggi Jambu Mete*. Jakarta, Direktorat Jenderal Perkebunan.
- Ditjenbun (2016) *Statistik Perkebunan Indonesia 2014-2016: Jambu Mete*. Jakarta, Direktorat Jenderal Perkebunan.
- Ferry, Y. (2012) Pengembangan Industri Perbenihan Jambu Mete. *Perspektif*. 11 (1), 33–44.
- IBPGR (1986) *Cashew Descriptors*. Rome, International Board for Plant Genetic Resources.
- Kasiraman, G., Edwin Geo, V. & Nagalingam, B. (2016) Assessment of Cashew Nut Shell Oil as An Alternate Fuel for CI (Compression Ignition) Engines. *Energy*. 101, 402–410. doi:10.1016/j.energy.2016.01.086.
- O'Farrell, P.J., Armour, J.D. & Reid, D.J. (2010) Nitrogen Use for High Productivity and Sustainability in Cashew. *Scientia Horticulturae*. 124 (1), 19–28. doi:10.1016/j.scienta.2009.11.016.
- Pitono, J, Maslahah, N., Setiawan, Permadi, R., Suciantini, Nandar, T. (2016) Hydraulic Lift dan Dinamika Lengas Tanah Harian pada Pertanaman Jambu Mete. *Bul. Littro*. 27 (2), 104–114. doi : 10.21082/bullittro.v27n2.2016.105–114.
- Purseglove, J.W. (1982) *Tropical Crops. Dicotyledons*. Reprinted. London, Longmans Groups Ltd.
- Schweiggert, R.M., Vargas, E., Conrad, J., Hempel, J., Gras, C.C., Ziegler, J.U., Mayer, A., Jiménez, V., Esquivel, P. & Carle, R. (2016) Carotenoids, Carotenoid Esters, and Anthocyanins of Yellow-, Orange-, and Red-peeled Cashew Apples (*Anacardium occidentale* L.). *Food Chemistry*. 200, 274–282. doi:10.1016/j.foodchem.2016.01.038.
- Shobha, D. & Thimmappaiah (2011) Identification of RAPD Markers Linked to Nut Weight and Plant Statue in Cashew. *Scientia Horticulturae*. 129 (4), 637–641. doi:10.1016/j.scienta.2011.05.006.
- Sulle, A. (2007) Pengelolaan Plasma Nutfah Jambu Mete dan Kakao di Sulawesi Tenggara. *Buletin Plasma Nutfah*. 13 (1), 19–26.
- Thimmappaiah, Santhosh, W.G., Shobha, D. & Melwyn, G.S. (2009) Assessment of Genetic Diversity in Cashew Germplasm Using RAPD and ISSR Markers. *Scientia Horticulturae*. 120 (3), 411–417. doi:10.1016/j.scienta.2008.11.022.
- Xavier, F.A.S., Maia, S.M.F., Ribeiro, K.A., Mendonca, E.D.S. & Oliveira, T.S. (2013) Agriculture, Ecosystems and Environment Effect of Cover Plants on Soil C and N Dynamics in Different Soil Management Systems in Dwarf Cashew Culture. *Agriculture Ecosystems & Environment*. 165, 173–183. doi:10.1016/j.agee.2012.12.003.

PEMUPUKAN NITROGEN DAN FOSFOR UNTUK MENINGKATKAN PERTUMBUHAN, PRODUKSI BIJI DAN KANDUNGAN THYMOQUINONE JINTAN HITAM

Nitrogen and phosphorus fertilization to improve growth, seed production and thymoquinone content of black cumin

Rudi Suryadi¹⁾, Munif Ghulamahdi²⁾ dan Ani Kurniawati²⁾

Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat¹⁾

Jalan Tentara Pelajar No. 3 Bogor 16111

Telp 0251-8321879 Faks 0251-8327010

balittro@litbang.pertanian.go.id

rudisuryadi69@yahoo.co.id

Departemen Agronomi dan Hortikultura, Faperta IPB²⁾

Jalan Meranti, Kampus IPB Darmaga 16680

(diterima 16 Maret 2017, direvisi 24 Maret 2017, disetujui 5 Mei 2017)

ABSTRAK

Nigella sativa L. yang dikenal dengan jintan hitam merupakan tanaman asli daerah Asia Barat dan kawasan Mediterania yang beriklim sub tropis. Bijinya yang berkhasiat sebagai obat dan rempah sudah dimanfaatkan sejak ribuan tahun lalu terutama oleh umat Muslim di Timur Tengah dan Asia Selatan. Penelitian tanaman jintan hitam di daerah tropis sampai saat ini masih terbatas. Tujuan penelitian adalah untuk meningkatkan pertumbuhan, produksi biji dan kandungan bioaktif *thymoquinone* tanaman jintan hitam. Penelitian dilakukan di Kebun Percobaan Manoko, Lembang menggunakan benih berasal dari Arab Saudi. Rancangan yang digunakan adalah petak terbagi, dengan petak utama dua taraf dosis pupuk N (0 dan 120 kg N ha⁻¹) dan anak petak empat taraf dosis pupuk P (0, 60, 120, dan 180 kg P₂O₅ ha⁻¹) diulang tiga kali. Parameter yang diamati meliputi pertumbuhan, produksi biji dan kandungan *thymoquinone*. Hasil penelitian menunjukkan pemupukan N dan P masing-masing nyata meningkatkan pertumbuhan dan produksi biji jintan hitam. Pemupukan dengan dosis 120 kg N ha⁻¹ dan 180 kg P₂O₅ ha⁻¹ mampu meningkatkan produksi biji sebesar 477,48 kg ha⁻¹ dengan kadar *thymoquinone* 0,0625% dan produksi *thymoquinone* 29,84 kg ha⁻¹.

Kata kunci: *Nigella sativa* L., tropis

ABSTRACT

Nigella sativa L., known as black cumin is native to Western Asia and the Mediterranean region which have sub-tropical climates. The seeds are commonly used as medicine and spices mainly by Muslims in the Middle East and South Asia for thousands of years. However, research of black cumin in the tropics regions is still limited. The research aimed to improve growth, seed production, and bioactive compounds of black cumin. The seeds from Saudi Arabia were used as plant material and planted at Manoko Research Installation, Lembang. The study was arranged in split plot design and repeated three times. The main plot was two level dosages of N fertilizer (0 and 120 kg N ha⁻¹) and the subplot was four levels dosages of P fertilizer (0, 60, 120, and 180 kg P₂O₅ ha⁻¹). The results showed that the fertilization of N and P significantly increase the growth and production of black cumin seeds. Fertilization at 120 kg N ha⁻¹ and 180 kg P₂O₅ ha⁻¹ was able to increase seed production to 477.48 kg ha⁻¹ with the content and yield of thymoquinone of 0.0625% and 29.84 kg ha⁻¹, respectively.

Keywords: *Nigella sativa*, tropical

PENDAHULUAN

Jintan hitam (*Nigella sativa* L.) termasuk famili Ranunculaceae merupakan tanaman obat

yang berasal dari daerah Asia Barat dan kawasan Mediterania yang beriklim subtropis. Tanaman jintan hitam tumbuh pada ketinggian 530-1.725 m dpl, suhu rata-rata 6,9-17,4°C, kelembaban udara

45,4-61,7%, curah hujan 140-462,5 mm/tahun, dan kemasaman tanah 7,7-8,1 (Talafih *et al.* 2007; Tuncturk *et al.* 2005; Tuncturk *et al.* 2011; Khoulenjani dan Salamati 2011). Budidaya jintan hitam sudah banyak dilakukan di Suriah, Turki, Iran, Arab Saudi, Pakistan, Yordania, dan India (Rajsekhar dan Kuldeep 2011). Bagian tanaman yang dimanfaatkan adalah bijinya dengan kandungan utama minyak atsiri seperti *p-symena*, *thymoquinone*, asam palmitat, asam linoleat, asam oleat (Rizvi *et al.* 2012), asam lemak, *tocopherol*, sterol (Matthaus dan Ozcan 2011), *dithymoquinone*, *thymohydroquinone*, dan *thymol* (Ghosheh *et al.* 1999), serta senyawa alkaloid seperti *nigellidine* (Rahman *et al.* 1995) dan *nigellimine* (Rahman *et al.* 1992).

Thymoquinone adalah senyawa bioaktif dari golongan terpenoid yaitu monoterpen yang paling banyak terdapat pada biji jintan hitam sekitar 7,8-13,7% (Botnick *et al.* 2012). *Thymoquinone* berfungsi sebagai antimikroba, antiparasit, antikanker, antiinflamasi, imunomodulator, antioksidan dan hepatoprotektor (Gali-Muhtasib *et al.* 2006; Chaieb *et al.* 2011). Selain itu, *thymoquinone* berfungsi untuk mencegah penyakit kanker usus dan leukeimia (Norsharina *et al.* 2011) dan mencegah kerusakan eritrosit yang disebabkan oleh *1,2-dimethylhydrazine* (Harzallah *et al.* 2012). Beberapa hasil penelitian efek farmakologis lainnya antara lain sebagai antiiskemia (Hosseinzadeh *et al.* 2006), antitumor (Mbarek *et al.* 2007), memberikan efek estrogenik (Parhizkar *et al.* 2011), dan menurunkan kadar gula darah (Mohtashami *et al.* 2011).

Selain untuk bahan baku dalam industri jamu/obat tradisional, biji jintan hitam juga digunakan dalam industri bumbu masak. Biji jintan hitam yang digunakan sebagai bahan baku industri farmasi dan industri obat tradisional dalam negeri masih diimpor dari India dan Mesir serta negara Timur Tengah lainnya, dengan total impor 510.003 kg/tahun senilai US\$ 364.394 (Wahyuni 2009). Produk jintan hitam banyak dijual dalam bentuk serbuk dan minyak yang dikemas dalam kapsul

dan dikenal dengan nama "Habbatussauda". Apabila tanaman jintan hitam dapat dibudidayakan di Indonesia, maka kebutuhan bahan baku industri farmasi dan industri obat tradisional dapat dipenuhi di dalam negeri, sehingga dapat menghemat devisa negara.

Pemupukan berfungsi untuk menambah kekurangan unsur hara ke dalam tanah agar pertumbuhan dan perkembangan tanaman menjadi optimal. Unsur hara esensial mempunyai sifat spesifik yaitu 1) tidak adanya unsur tersebut akan mengakibatkan pertumbuhan tanaman tidak normal dan atau kematian prematur, 2) fungsi unsur tersebut spesifik dan tidak dapat digantikan oleh unsur yang lain, dan 3) unsur tersebut berpengaruh langsung terhadap pertumbuhan atau metabolisme tanaman (Munawar 2011). Nitrogen dan fosfor merupakan hara esensial yang banyak dibutuhkan untuk pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Hasil penelitian di India menunjukkan peningkatan pertumbuhan dan produksi biji jintan hitam dengan pemberian pupuk N sampai dosis 100 kg N.ha⁻¹ (45% N) (Shah 2007; Shah dan Samiullah 2007). Selain itu, pemberian pupuk P dosis 40 kg P₂O₅.ha⁻¹ (46% P₂O₅) pada tanah dengan karakteristik tekstur liat berlempung, pH 7,8, kandungan bahan organik dan nitrogen rendah (1,39% dan 0,071%), fosfor tersedia sangat rendah (563,2 ppm), dan kalium cukup (560,1 ppm), dapat meningkatkan pertumbuhan dan produksi biji jintan hitam (Tuncturk *et al.* 2011). Khalid dan Shedeed (2015) juga melaporkan bahwa pemupukan NPK (3:3:3) dengan kandungan N (20,5%), P₂O₅ (15,5%), dan K₂O (48%), disertai aplikasi pupuk daun yang mengandung N (120 mg.l⁻¹) – P₂O₅ (40 mg.l⁻¹) – K₂O (40 mg.l⁻¹) – Mg (2 mg.l⁻¹) – S (2 mg.l⁻¹) – Fe (1.200 mg.l⁻¹) – Zn (1.200 mg.l⁻¹) – Mn (1.000 mg.l⁻¹) – Cu (500 mg.l⁻¹) – Ni (1 mg.l⁻¹) – CO (1 mg.l⁻¹), mampu meningkatkan pertumbuhan, produksi biji dan kandungan minyak pada biji jintan hitam. Pada tanaman sambiloto, pemupukan 200 kg N.ha⁻¹ dan 100 kg.P₂O₅.ha⁻¹ dapat meningkatkan kandungan andrografolid (17,01 mg.g⁻¹ simplisia) dan produksi andrografolid

(511,75 mg/tanaman) (Mariani 2009). Penelitian bertujuan untuk menganalisis respons pertumbuhan, produksi biji, dan kandungan bioaktif *thymoquinone* dengan pemupukan N dan P pada tanaman jintan hitam di daerah tropis.

BAHAN DAN METODE

Percobaan dilaksanakan di Kebun Percobaan Manoko, Lembang, Jawa Barat sejak September 2013 sampai Maret 2014, dengan ketinggian tempat 1.301,5 m dpl, jenis tanah andisol, suhu 15-27°C dan kelembaban rata-rata 71-96%, dengan curah hujan 2.616 mm/tahun. Analisis kadar hara tanah dan pupuk kandang sapi dilakukan di Laboratorium Uji Balitro sedangkan analisis kandungan klorofil dilakukan berdasarkan metode Sims dan Gamon (2002). Pengukuran kadar hara N dan P daun jintan hitam menggunakan metoda Kjeldahl dan spektrofotometer yang dilakukan di Laboratorium Pengujian Departemen Agronomi dan Hortikultura IPB. Analisis kandungan bioaktif *thymoquinone* menggunakan HPLC (High Performance Liquid Chromatography) sesuai dengan prosedur analisis Al-Saleh et al. (2006) dilakukan di Laboratorium Pusat Studi Biofarmaka LPPM IPB.

Pengambilan contoh tanah di lokasi penelitian dilakukan sebelum penelitian. Hasil analisis tanah berdasarkan kriteria penilaian dari Balai Penelitian Tanah (Eviati dan Sulaeman 2009) menunjukkan bahwa kemasaman tanah (pH) agak masam (6,19), C-organik sedang (2,17%), N-total

dan P_2O_5 tersedia rendah (0,20% dan 7,09 ppm), K tinggi (1,03 me/100 g), dan Kapasitas Tukar Kation (KTK) sedang (24,29 me/100 g). Hasil analisis pupuk kandang sapi menunjukkan kandungan N (1,52%), P (0,64%), K (0,56%), dan C/N rasio (17).

Percobaan menggunakan rancangan petak terbagi dengan tiga ulangan. Petak utama adalah perlakuan dua taraf dosis pupuk N (0 dan 120 kg N.ha⁻¹) dan anak petak adalah perlakuan empat taraf dosis pupuk P (0, 60, 120, 180 kg P₂O₅. ha⁻¹). Sumber N yang digunakan adalah pupuk urea (45% N) sedangkan sumber P adalah pupuk SP-36 (36% P₂O₅).

Persiapan benih

Benih jintan hitam yang digunakan berasal dari Arab Saudi. Penyemaian benih dilakukan dengan cara merendam benih dalam air selama 12 jam, ditiriskan kemudian disemai di bak penyemaian yang berisi media tanam terdiri dari campuran tanah dan pupuk kandang sapi (1:1) (v/v). Benih ditaburkan secara merata dalam larikan yang telah dibuat, kemudian ditutup tipis dengan media tanam. Benih mulai berkecambah umur 21 hari setelah semai (HSS), kemudian dipindahkan ke dalam polibag berukuran 10 cm x 10 cm berisi media tanam campuran tanah : pupuk kandang sapi (2:1) (v/v). Benih dipelihara di polibag selama 14 hari (35 HSS) sampai memiliki dua daun sempurna yang bertujuan agar perakaran benih tidak banyak yang rusak saat ditanam di lapang sehingga benih tidak mudah stres (Gambar 1).



Gambar 1. (a) Benih jintan hitam, (b) benih mulai berkecambah umur 21 HSS, dan (c) benih siap ditanam di lapang umur 35 HSS.

Figure 1. (a) Black cumin seeds, (b) germinated seeds at 21 days after sowing (DAS), and (c) seedlings were ready to be transplanted into the field at 35 DAS.

Penanaman di lapang

Persiapan lahan dilakukan dengan membersihkan lahan dari gulma kemudian dibuat petakan dengan ukuran panjang 1,5 m x 1 m x 30 cm sebanyak 48 petak dengan jarak antar petak 30 cm. Pupuk kandang sapi diberikan ke dalam lubang tanam dengan dosis 10 ton.ha⁻¹ (Tuncturk *et al.* 2012) atau 45 g/tanaman dengan populasi 220.000 tanaman/ha. Benih jintan hitam ditanam di petak percobaan dengan jarak tanam 30 cm x 15 cm, sehingga terdapat 30 tanaman dalam satu petak percobaan.

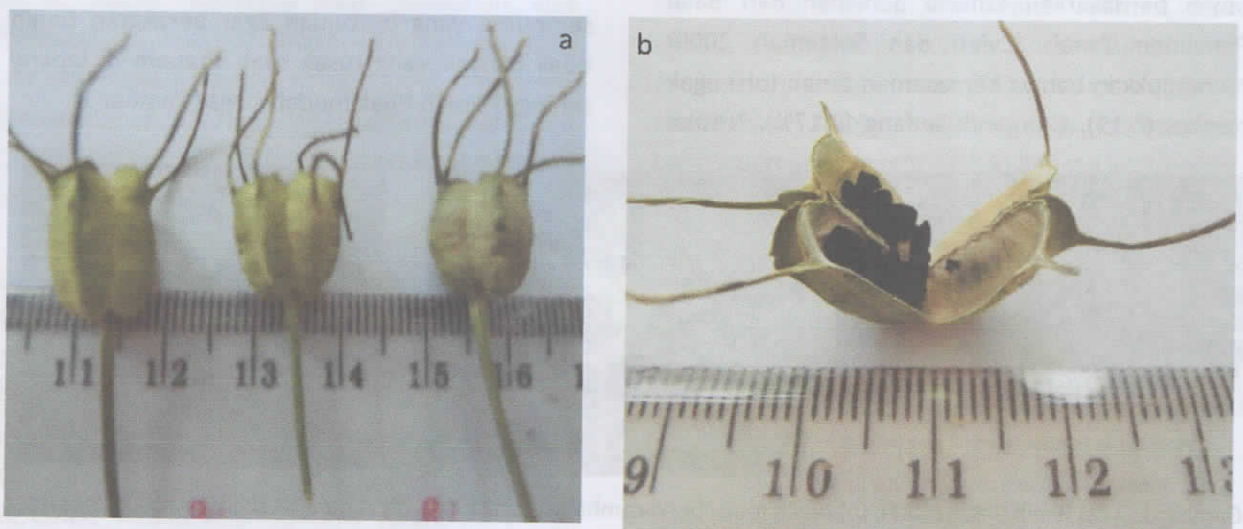
Pemupukan N dilakukan dua kali yaitu pada saat tanam dan satu bulan setelah tanam, sedangkan pupuk P diberikan satu kali pada saat tanam sesuai dengan perlakuan yang diuji. Pemberian pupuk dilakukan dengan cara dilarik di sekeliling tanaman dengan jarak $\pm$ 10 cm dari pangkal batang tanaman. Pemeliharaan tanaman meliputi penyiraman, pengendalian gulma dengan cara manual, pengendalian hama dan penyakit tanaman.

Pengamatan

Karakter morfologi yang diamati adalah tinggi tanaman, jumlah daun dan jumlah cabang diamati mulai umur 7 minggu setelah semai (MSS) sampai 17 MSS dengan interval pengamatan 2

minggu, sedangkan bobot basah dan kering tanaman diamati pada umur 19 MSS. Jumlah tanaman yang diamati adalah 10 tanaman/perlakuan. Panen dilakukan umur 19 MSS setelah kulit kapsul berwarna hijau kekuningan (Gambar 2). Kapsul dipanen dengan cara dipetik kemudian dijemur sampai kulit kapsul berwarna kuning kecoklatan. Kapsul dipecah, bijinya dibersihkan dan dipisahkan dari cangkang kapsul atau kotoran lain.

Komponen hasil yang diamati adalah jumlah kapsul per tanaman, jumlah biji per kapsul, bobot biji per tanaman, bobot 1.000 biji, dan produksi biji per ha. Karakter fisiologi yang diamati adalah kandungan klorofil daun. Analisis kadar hara N dan P dalam daun, serta kandungan klorofil dilakukan dengan cara mengambil sampel daun ke tiga dari pucuk pada pukul 10-11 WIB, pada tanaman berumur 11 MSS. Sampel daun diambil dari daun ke tiga dari pucuk karena daun sudah terbentuk sempurna dan berukuran maksimal. Pengambilan sampel dilakukan pada pukul 10-11 siang karena fotosintesis optimal pada waktu tersebut, sedangkan umur 11 MSS merupakan puncak pertumbuhan vegetatif tanaman jintan hitam berdasarkan hasil analisis laju tumbuh relatif (LTR).



Gambar 2. Kapsul siap panen (a), kapsul yang berisi biji jintan hitam (b).
Figure 2. (a) Mature pod of black cumin, (b) pod contained black cumin seeds.

Analisis data

Data pengamatan pertumbuhan dan produksi dianalisis statistik ANOVA dan diuji lanjut dengan *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf 5%. Kandungan klorofil, kadar dan serapan hara N dan P, serta kandungan bioaktif *thymoquinone* dianalisis secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pertumbuhan dan produksi

Pertumbuhan dan produksi jintan hitam dipengaruhi oleh faktor tunggal pemberian pupuk N dan P. Pemupukan N nyata meningkatkan tinggi tanaman dan jumlah daun mulai 9-17 MSS, pengaruh P terlihat nyata mulai 11-17 MSS (Tabel 1), sedangkan jumlah cabang 11-19 MSS (Tabel 2).

Pemupukan N belum berpengaruh nyata sampai tanaman berumur 7 MSS, diduga karena unsur N dari pupuk kandang sapi sebagai pupuk dasar masih cukup tersedia untuk dimanfaatkan tanaman. Perlakuan 120 kg N.ha⁻¹ nyata meningkatkan tinggi tanaman 34,63% (31,41 cm), jumlah daun 34,57% (38,45), dan jumlah cabang 42,94% (6,79) dibandingkan kontrol pada umur 17 MSS (Tabel 1).

Pemupukan N berpengaruh pada semua parameter pertumbuhan. Nitrogen merupakan prekursor asam amino yang sangat penting, terutama untuk menstimulasi pertumbuhan. Asam amino berfungsi sebagai buffer untuk mempertahankan nilai pH yang sesuai dalam sel tanaman, melindungi tanaman dari ammonia yang bersifat racun serta berperan sebagai sumber karbon dan energi. Asam amino dapat membentuk protein,

Tabel 1. Tinggi tanaman dan jumlah daun jintan hitam pada beberapa dosis pemupukan N dan P.

Table 1. Plant height and leaf number of black cumin at several N and P fertilizer dosages.

Perlakuan	Umur (MSS)					
	7	9	11	13	15	17
tinggi tanaman (cm)						
Pupuk N (kg N.ha ⁻¹)						
0	3,71	8,93b	12,32b	15,83b	22,06b	23,33b
120	4,41	10,55a	15,85a	20,77a	28,16a	31,41a
Pupuk P (kg P ₂ O ₅ .ha ⁻¹)						
0	3,79	8,80	11,55c	15,20c	20,58b	22,25b
60	3,96	9,48	13,50b	17,52bc	24,08ab	26,33ab
120	4,18	10,36	16,22a	20,75a	28,37a	30,91a
180	4,32	10,31	5,08ab	9,75ab	27,41a	30,00a
Interaksi	tn	tn	tn	tn	tn	tn
KK (%)	16,94	14,84	10,37	11,81	16,67	19,15
jumlah daun						
Pupuk N (kg N.ha ⁻¹)						
0	4,90	8,61b	12,61b	19,53b	23,54b	28,58b
120	5,83	11,10a	16,91a	26,58a	30,45a	38,45a
Pupuk P (kg P ₂ O ₅ .ha ⁻¹)						
0	5,10	8,61	12,85b	18,25b	22,08b	27,33b
60	5,33	10,13	13,96ab	22,50ab	26,66ab	32,83ab
120	5,46	10,41	16,16a	26,40a	30,33a	37,66a
180	5,56	10,26	16,06a	25,08ab	28,91a	36,25a
Interaksi	tn	tn	tn	tn	tn	tn
KK (%)	13,70	15,06	14,60	16,00	17,07	15,02

Keterangan : Angka-angka yang diikuti huruf yang sama dalam kolom dan perlakuan yang sama tidak berbeda nyata menurut uji DMRT 5%.

Note : Numbers followed by the same letter in the same column and treatment were not significantly different at 5% DMR.

MSS = minggu setelah semai/weeks after sowing.

tn = tidak nyata/not significant.

Tabel 2. Jumlah cabang jantan hitam pada beberapa taraf dosis pemupukan N dan P.
Table 2. Branch number of black cumin at several N and P fertilizer dosages.

Perlakuan	Umur (MSS)				
	9	11	13	15	17
Pupuk Nitrogen (kg N.ha ⁻¹)					
0	1,68b	2,42b	3,33b	3,91b	4,75b
120	2,54a	3,25a	4,75a	5,75a	6,79a
Pupuk Fosfor (P ₂ O ₅ .ha ⁻¹)					
0	1,85	2,50b	3,41	3,66b	5,00b
60	2,10	2,76ab	3,91	4,83a	5,50ab
120	2,21	3,01ab	4,41	5,50a	6,33a
180	2,27	3,06a	4,41	5,33a	6,25a
Interaksi	tn	tn	tn	tn	tn/
KK (%)	20,30	14,50	19,28	19,12	14,29

Keterangan : Angka-angka yang diikuti huruf yang sama dalam kolom dan perlakuan yang sama tidak berbeda nyata menurut uji DMRT 5%.

Note : Numbers followed by the same letter in the same column and treatment were not significantly different at 5% DMRT.

MSS = minggu setelah semai/weeks after sowing. tn = tidak nyata/not significant.

amin, purin, pirimidin, alkaloid, vitamin, enzim dan terpenoid (Nahed *et al.* 2010).

Selain itu, pemberian N akan meningkatkan asam amino antara lain triptofan yang merupakan prekursor dari auksin yaitu Asam Indol Asetat (IAA). IAA sebagai zat pengatur tumbuh dalam tanaman berfungsi mengendalikan berbagai proses fisiologis yang penting termasuk pembesaran dan pembelahan sel serta diferensiasi jaringan (Leveau dan Lindow 2005). Peningkatan pembesaran dan pembelahan serta diferensiasi sel akan memacu pertumbuhan tanaman. Asam amino juga membentuk purin dan menjadi adenosin (purin nukleosida) yang merupakan prekursor sitokinin dalam jaringan tanaman. Sitokinin berfungsi dalam mengatur pembelahan sel, diferensiasi jaringan tanaman dan berpartisipasi pada proses perkembangan tanaman (Zahir *et al.* 2001). Penelitian pada tanaman nilam menunjukkan tingginya kadar hara N pada kompos limbah nilam (3,59%) sangat efektif dalam meningkatkan kesuburan tanah dan memperbaiki pertumbuhan tanaman nilam (Djazuli 2013).

Pemupukan P berpengaruh nyata pada pertumbuhan tanaman pada umur 7-9 MSS, diduga karena pupuk P lambat tersedia untuk dimanfaatkan oleh tanaman. Fosfor merupakan

salah satu unsur hara esensial yang memiliki reaktivitas tinggi terhadap partikel tanah, sehingga jika pupuk P diberikan ke dalam tanah, maka P cepat diikat oleh partikel liat dan senyawa Fe dan Al, sehingga menjadi bentuk yang kurang larut dan tidak mudah tersedia bagi tanaman (Munawar 2011). Perlakuan 120 kg P₂O₅.ha⁻¹ mampu meningkatkan tinggi tanaman 38,92% (30,91 cm), jumlah daun 37,79% (37,66), dan jumlah cabang 26,60% (6,33) dibandingkan kontrol pada umur 17 MSS, tetapi tidak berbeda nyata dengan perlakuan 60 dan 180 kg P₂O₅.ha⁻¹ (Tabel 1).

Fosfor merupakan salah satu unsur utama sebagai nutrisi tanaman yang dapat mempengaruhi pertumbuhan tanaman. Unsur P pada tanaman berpengaruh pada berbagai proses metabolik seperti pembelahan dan perkembangan sel, transpor energi, biosintesis makromolekul, fotosintesis dan respirasi (Ahemad *et al.* 2009).

Pemupukan N dan P nyata meningkatkan semua komponen hasil (Tabel 3). Perkiraan produksi biji per ha dapat ditingkatkan sampai 94,37% (388,74 kg.ha⁻¹) dengan pemupukan 120 kg N.ha⁻¹ dibandingkan kontrol, sedangkan dengan pemupukan 180 kg P₂O₅.ha⁻¹ dapat meningkatkan hasil sampai 87,92% (363,05 kg.ha⁻¹) dibandingkan kontrol. Pemupukan 180 kg P₂O₅.ha⁻¹ meng-

hasilkan komponen hasil tertinggi tetapi tidak berbeda nyata dengan perlakuan 120 kg P₂O₅.ha⁻¹. Walaupun persentase peningkatan produksi biji per hektar cukup tinggi (87,92-94,37%) tetapi produksinya masih rendah apabila dibandingkan dengan negara penghasil biji jintan hitam seperti Turki dan Yordania yang produksi biji per hektarnya berkisar 493-706 kg.ha⁻¹ (Talafih *et al.* 2007; Tunc Turk *et al.* 2012). Tanaman jintan hitam termasuk tanaman berbunga banyak (*planta multiflora*), yang tumbuh di ujung cabang (*flos terminalis*), dan mulai berbunga umur 11 MSS

(Gambar 3). Pembungaan jintan hitam di daerah beriklim tropis terjadi lebih cepat dibandingkan dengan di habitat aslinya yang beriklim subtropis, sehingga produksi bijinya lebih rendah.

Pertumbuhan dan produksi jintan hitam dari hasil penelitian ini masih rendah dibandingkan dengan pertumbuhan dan produksi jintan hitam di habitat aslinya seperti di India, Turki, dan Pakistan (Shah dan Samiullah 2007; Rana *et al.* 2012; Iqbal *et al.* 2010; Tunc Turk *et al.* 2012). Beberapa faktor yang diduga sebagai penyebab rendahnya pertumbuhan dan produksi jintan

Tabel 3. Produksi jintan hitam pada beberapa dosis pemupukan N dan P.

Table 3. Yields of black cumin at several N and P fertilizer dosages.

Perlakuan	Jumlah kapsul per tanaman	Jumlah biji per kapsul	Bobot biji per tanaman (g)	Bobot 1.000 biji (g)	Perkiraan produksi biji (kg ha ⁻¹)
Pupuk Nitrogen (kg N.ha ⁻¹)					
0	7,5b	40,5b	0,90b	2,14b	200,04b
120	10,4a	56,1a	1,72a	2,21a	388,74a
Pupuk Fosfor (kg P ₂ O ₅ .ha ⁻¹)					
0	7,4b	39,8c	0,87c	2,12b	193,19c
60	8,4b	46,5b	1,17b	2,15b	261,11b
120	10,0a	53,2a	1,55a	2,20a	360,22a
180	10,2a	53,6a	1,63a	2,23a	363,05a
Interaksi	tn	tn	tn	tn	tn
KK (%)	10,53	3,84	7,02	1,06	9,19

Keterangan : Angka-angka yang diikuti huruf yang sama dalam kolom yang sama tidak berbeda nyata menurut uji DMRT 5%.

Note : Numbers followed by the same letter in the same column were not significantly different at 5% DMRT.
MSS = minggu setelah semai/ weeks after sowing. tn = tidak nyata/not significant.



Gambar 3. (a) Tanaman jintan hitam berumur 11 MSS, (b) 13 MSS, dan (c) 15 MSS.

Figure 3. The performances of black cumin plants at (a) 11 weeks after sowing (WAS), (b) 13 WAS and (c) 15 WAS.

hitam yang ditanam di daerah tropis adalah adanya perbedaan suhu, kelembaban, curah hujan, dan fotoperiodisitas. Kebun Percobaan Manoko Lembang, mempunyai suhu dan kelembaban yang lebih tinggi (15-27°C dan 71-96%) dibandingkan dengan tempat asal jintan hitam seperti Yordania, Turki, dan Iran yang mempunyai suhu dan kelembaban yang lebih rendah (6,9-17,4°C dan 45,4-61,7%) (Talafih *et al.* 2007; Khoulenjani dan Salamati 2011). Suhu dan kelembaban yang lebih tinggi akan menurunkan kadar klorofil dan akan mempercepat masa generatif (pembungaan). Kadar klorofil total yang lebih rendah (2,30 mg.g⁻¹) akan menyebabkan proses fotosintesis kurang optimal dibandingkan dengan di daerah asal jintan hitam yang mempunyai kadar klorofil yang lebih tinggi (2,26-6,04 mg.g⁻¹) (Cheikh-Rouhou *et al.* 2007).

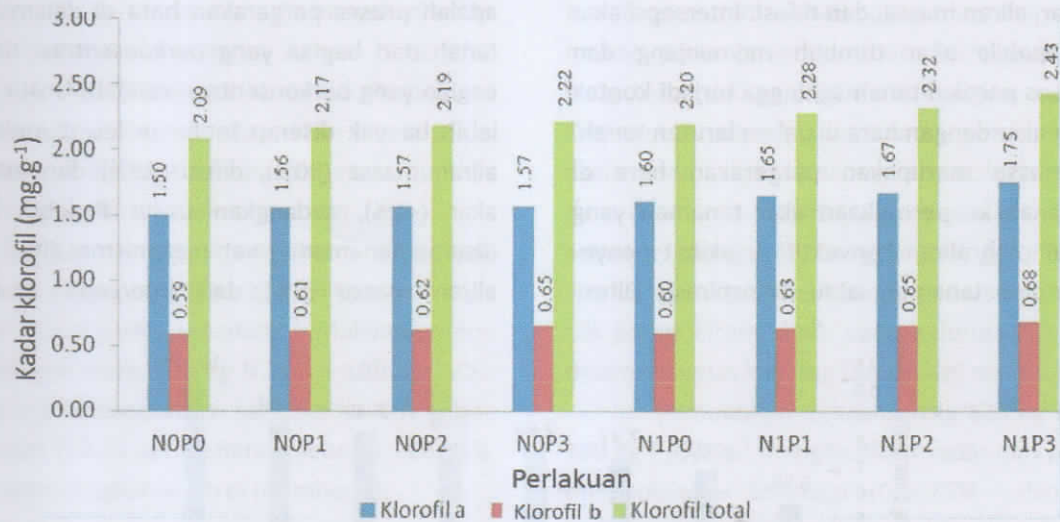
Curah hujan yang lebih tinggi (2.616 mm/tahun) dibandingkan tempat asal jintan hitam (140-462,5 mm/tahun) menyebabkan intensitas sinar matahari yang dimanfaatkan tanaman dalam proses fotosintesis tidak maksimal, sehingga asimilat hasil fotosintesis yang dimanfaatkan tanaman untuk pertumbuhan dan perkembangan tanaman pun menjadi rendah dan berpengaruh terhadap rendahnya produksi biji. Selain itu, tingginya curah hujan juga menyebabkan tingginya pencucian unsur hara di dalam tanah terutama unsur N, sehingga ketersediaannya rendah dan juga berdampak terhadap penurunan kemasaman tanah. Tanah dengan pH agak masam (6,19) diduga menyebabkan ketersediaan P di dalam tanah rendah karena terjadi pengikatan P oleh Al atau Fe. Tanah dengan tingkat kemasaman kurang dari 6,5 akan menyebabkan meningkatnya muatan positif dari permukaan mineral liat kristalin yang akan menyerap anion P sehingga unsur P tidak tersedia untuk tanaman (Munawar 2011). Purnomo *et al.* (2007), melaporkan bahwa pada tanah yang masam akan terjadi oksidasi Al yang memfiksasi ion-ion P sehingga menurunkan ketersediaan hara P dan menyebabkan penurunan hasil pada cabai.

Suhu dan curah hujan yang tinggi akan meningkatkan jumlah oksida-oksida Al dan Fe yang memberikan sumbangan besar terhadap fiksasi P (Munawar 2011). Oleh sebab itu, pada penelitian ini penambahan pupuk N dan P dosisnya lebih tinggi dibandingkan dengan penelitian di India dan Turki yang mempunyai curah hujan yang lebih rendah (140-462,5 mm/tahun) dengan kemasaman tanah antara netral sampai agak alkalis (pH 7,7-8,1) (Shah dan Samiullah 2007; Kizil *et al.* 2008; Tuncturk *et al.* 2011).

Selain itu, produksi jintan hitam juga dipengaruhi oleh fotoperiodisitas yaitu rasio relatif antara panjang waktu penyinaran matahari pada siang dan malam hari (Sutoyo 2011). Di daerah beriklim tropis perbandingan panjang waktu siang dan malam hari relatif sama yaitu sekitar 12 jam, sedangkan di daerah subtropis panjang waktu siang lebih dari 12 jam. Panjang waktu siang hari yang lebih lama berkaitan dengan lebih lamanya cahaya matahari yang dapat dimanfaatkan oleh tanaman untuk proses fotosintesis. Fotosintesis yang lebih intensif akan menghasilkan asimilat yang lebih banyak yang dapat dimanfaatkan tanaman untuk pertumbuhan dan perkembangannya sehingga menghasilkan pertumbuhan yang lebih baik dan produksi yang tinggi.

Kandungan klorofil

Analisis deskriptif menunjukkan adanya kecenderungan peningkatan kandungan klorofil a, klorofil b, dan klorofil total pada daun jintan hitam dengan penambahan pupuk N dan P (Gambar 4). Pemupukan dosis 120 kg N.ha⁻¹ + 180 kg P₂O₅.ha⁻¹ mampu meningkatkan kandungan klorofil a sebesar 16,67% (1,75 mg.g⁻¹), klorofil b sebesar 15,25% (0,68 mg.g⁻¹), dan klorofil total sebesar 16,27% (2,33 mg.g⁻¹) dibandingkan kontrol. Unsur N di dalam tanaman berfungsi sebagai penyusun asam-asam amino, protein, klorofil, asam-asam nukleat, dan koenzim, sedangkan unsur P berfungsi sebagai penyusun banyak protein, fosfolipida, koenzim, asam nukleat, substrat metabolisme dan berperan penting dalam transfer energi



Keterangan/Note: NOP0 = Kontrol/Control
NOP1 = 0 kg N.ha⁻¹ + 60 kg P₂O₅.ha⁻¹
NOP2 = 0 kg N ha⁻¹ + 120 kg P₂O₅.ha⁻¹
NOP3 = 0 kg N ha⁻¹ + 180 kg P₂O₅.ha⁻¹
N1P0 = 120 kg N.ha⁻¹ + 0 kg P₂O₅.ha⁻¹
N1P1 = 120 kg N/ha⁻¹ + 60 kg P₂O₅.ha⁻¹
N1P2 = 120 kg N ha⁻¹ + 120 kg P₂O₅.ha⁻¹
N1P3 = 120 kg N ha⁻¹ + 180 kg P₂O₅.ha⁻¹

Gambar 4. Kandungan klorofil jintan hitam pada beberapa dosis pupuk N dan P.
Figure 4. Chlorophyll content of black cumin at several N and P fertilizer dosages.

(Munawar 2011).

Klorofil adalah kelompok pigmen fotosintesis yang berperan dalam menangkap cahaya untuk dimanfaatkan sebagai energi dalam reaksi reaksi cahaya pada proses fotosintesis. Pada tanaman tingkat tinggi terdapat dua macam klorofil, yaitu klorofil a dan klorofil b. Klorofil b berfungsi sebagai antena untuk mengumpulkan cahaya untuk diteruskan ke klorofil a yang berfungsi sebagai pusat reaksi. Di pusat reaksi, energi cahaya akan diubah menjadi energi kimia yang selanjutnya digunakan untuk proses reduksi dalam fotosintesis (Sevik *et al.* 2012). Peningkatan kandungan klorofil a, b, dan total a+b akan mengintensifkan proses fotosintesis sehingga asimilat yang dihasilkan dapat meningkatkan pertumbuhan dan perkembangan tanaman.

Kadar dan serapan hara N dan P

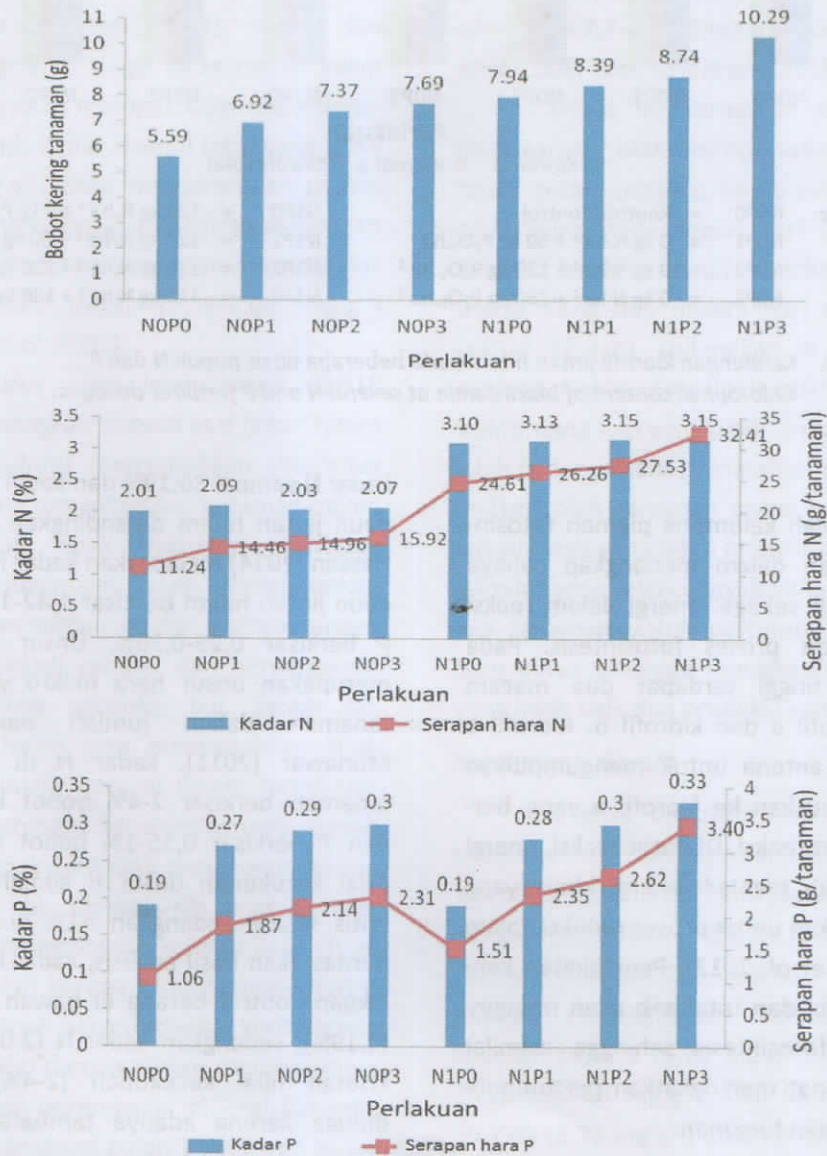
Hasil analisis jaringan pada daun jintan hitam menunjukkan bahwa kadar N berkisar 2,01-3,15% dan P berkisar 0,19-0,33% (Gambar 5). Analisis deskriptif menunjukkan pemupukan 120 kg N.ha⁻¹ + 180 kg P₂O₅.ha⁻¹ dapat meningkatkan

kadar N sampai 36,19% dan kadar P 42,42% dalam daun jintan hitam dibandingkan kontrol. Ali dan Hassan (2014) melaporkan kadar N dalam jaringan daun jintan hitam berkisar 1,42-1,94%, dan kadar P berkisar 0,23-0,36%. Unsur hara N dan P merupakan unsur hara makro yang dibutuhkan tanaman dalam jumlah banyak. Menurut Munawar (2011), kadar N di dalam jaringan tanaman berkisar 2-4% bobot kering tanaman, dan P berkisar 0,15-1% bobot kering tanaman. Nilai kecukupan unsur P adalah 0,2-0,4%, nilai kritis <0,2% sedangkan >1% dianggap berlebih. Berdasarkan hasil analisis, kadar hara P pada perlakuan kontrol berada di bawah nilai kecukupan (0,19%), sedangkan kadar N (2,01%) masih pada kisaran nilai kecukupan (2-4%). Hal tersebut diduga karena adanya tambahan hara N dari pemberian pupuk kandang sapi sebesar 0,68 g N/tanaman yang didapatkan dari hasil perhitungan (10 ton.ha⁻¹ pupuk kandang sapi/220.000 tanaman/ha) x 1,52% (kadar N pupuk kandang sapi).

Penyerapan unsur hara oleh tanaman dikelompokkan dalam tiga mekanisme yaitu inter-

sepsi akar, aliran massa, dan difusi. Intersepsi akar terjadi apabila akar tumbuh memanjang dan menerobos partikel tanah sehingga terjadi kontak langsung akar dengan hara di dalam larutan tanah. Aliran massa merupakan pergerakan hara di dalam tanah ke permukaan akar tanaman yang terangkut oleh aliran konvektif air akibat penyerapan air oleh tanaman atau transpirasi. Difusi

adalah proses pergerakan hara di dalam larutan tanah dari bagian yang berkonsentrasi tinggi ke bagian yang berkonsentrasi rendah. Unsur hara N lebih banyak diserap tanaman lewat mekanisme aliran massa (80%), difusi (19%) dan intersepsi akar (<1%), sedangkan unsur P lebih banyak diserap tanaman lewat mekanisme difusi (93%), aliran massa (5%) dan intersepsi akar (2%)



Keterangan/Note: NOP0 = Kontrol/Control N1P0 = 120 kg N.ha⁻¹ + 0 kg P₂O₅.ha⁻¹
NOP1 = 0 kg N.ha⁻¹ + 60 kg P₂O₅.ha⁻¹ N1P1 = 120 kg N/ha⁻¹ + 60 kg P₂O₅.ha⁻¹
NOP2 = 0 kg N ha⁻¹ + 120 kg P₂O₅.ha⁻¹ N1P2 = 120 kg N ha⁻¹ + 120 kg P₂O₅.ha⁻¹
NOP3 = 0 kg N ha⁻¹ + 180 kg P₂O₅.ha⁻¹ N1P3 = 120 kg N ha⁻¹ + 180 kg P₂O₅.ha⁻¹

Gambar 5. Bobot kering tanaman, kadar N dan P serta serapan hara N dan P tanaman jintan hitam.
Figure 5. Plant dry weight, N and P contents, and the uptake of N and P of black cumin.

(Munawar 2011). Unsur hara N banyak diserap lewat mekanisme aliran massa karena N bersifat *mobile*, sedangkan P bersifat *immobile*. Perbedaan akar tanaman dalam menggunakan mekanisme penyerapan hara akan mempengaruhi jumlah unsur hara yang diserap oleh tanaman.

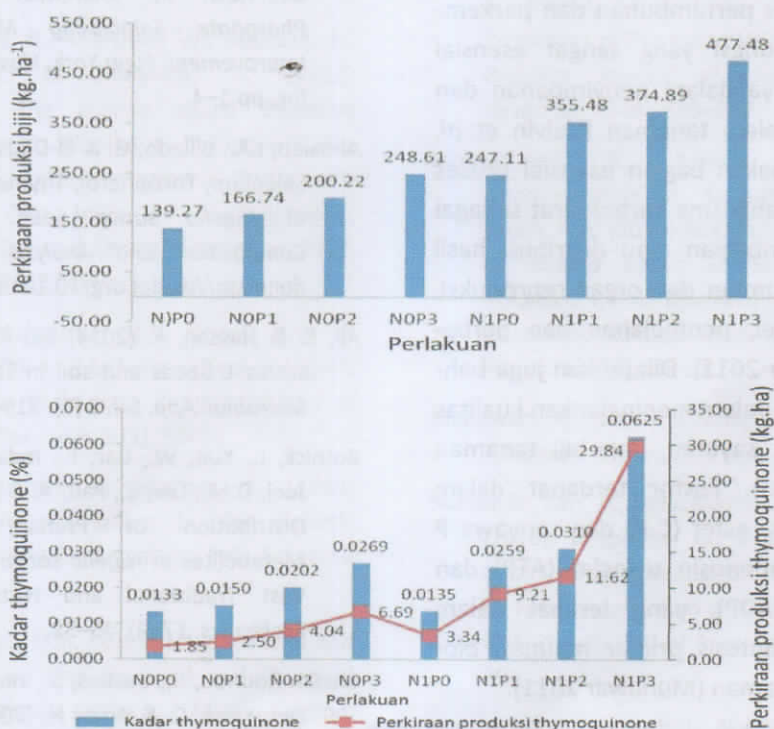
Serapan hara merupakan aktualisasi jumlah unsur hara yang diserap oleh tanaman berdasarkan bobot kering tanaman. Perlakuan pemupukan dengan dosis 120 kg N.ha⁻¹ + 180 kg P₂O₅.ha⁻¹ mampu meningkatkan serapan hara N sebesar 188,35% (32,41 g) dan hara P sebesar 220,75% (3,40 g) dibandingkan kontrol (Gambar 5).

Kandungan bioaktif thymoquinone

Thymoquinone merupakan senyawa bioaktif dari golongan terpenoid yaitu monoterpen yang diproduksi melalui lintasan asam mevalonat. Monoterpen adalah produk alami yang merupa-

kan bagian dari minyak atsiri dan banyak ditemukan pada tanaman obat. Komponen utama yang termasuk golongan monoterpen adalah α -thujene, *p*-cymene, γ -terpinene, *fenchone*, *dihydrocarvone*, *thymoquinone*, *thymohydroquinone*, dan *carvacrol*. *Thymoquinone* adalah senyawa sekunder dengan kandungan tertinggi dibandingkan dengan senyawa lainnya pada semua bagian biji jintan hitam, baik pada seluruh biji, bagian dalam maupun kulit biji (Botnick et al. 2012).

Pemupukan dengan dosis 120 kg N.ha⁻¹ + 180 kg P₂O₅.ha⁻¹ menghasilkan kadar dan produksi *thymoquinone* tertinggi (0,0625% dan 29,84 kg.ha⁻¹) dibandingkan kontrol (Gambar 6). Peran pupuk N dan P dalam meningkatkan kandungan senyawa bioaktif juga dilaporkan oleh Mariani (2009) pada tanaman sambiloto, dimana pemupukan 200 kg N.ha⁻¹ dan 100 kg P₂O₅.ha⁻¹ dapat meningkatkan kandungan bioaktif andrografolid



Keterangan/Note :	N0P0	=	Kontrol/Control	N1P0	=	120 kg N.ha ⁻¹ + 0 kg P ₂ O ₅ .ha ⁻¹
	N0P1	=	0 kg N.ha ⁻¹ + 60 kg P ₂ O ₅ .ha ⁻¹	N1P1	=	120 kg N/ha ⁻¹ + 60 kg P ₂ O ₅ .ha ⁻¹
	N0P2	=	0 kg N ha ⁻¹ + 120 kg P ₂ O ₅ .ha ⁻¹	N1P2	=	120 kg N ha ⁻¹ + 120 kg P ₂ O ₅ .ha ⁻¹
	N0P3	=	0 kg N ha ⁻¹ + 180 kg P ₂ O ₅ .ha ⁻¹	N1P3	=	120 kg N ha ⁻¹ + 180 kg P ₂ O ₅ .ha ⁻¹

Gambar 6. Perkiraan produksi biji, kadar dan produksi *thymoquinone* jintan hitam.

Figure 6. Seed yield estimation, the content and yield of thymoquinone of black cumin.

(17,01 mg.g⁻¹ simplisia).

Meningkatnya kadar *thymoquinone* dengan pemupukan N dan P, tidak terlepas dari peran unsur tersebut dalam proses biosintesis primer maupun biosintesis sekunder. Peran unsur N dalam tanaman sebagai penyusun senyawa organik seperti asam amino, protein, dan asam nukleat merupakan bagian dari proses dalam sintesis dan transfer energi. Pada tanaman budidaya, sebagian besar N digunakan untuk menghasilkan protein tanaman. Pada fase vegetatif, fraksi utama protein berupa protein enzim, sedangkan di dalam biji fraksi utama terdiri dari protein tersimpan. Nitrogen juga merupakan bagian integral klorofil yang mampu mengubah sinar matahari menjadi energi kimia yang diperlukan untuk fotosintesis dalam biosintesis primer (Munawar 2011).

Fungsi unsur P dalam tanaman sangat penting dalam proses pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Fungsi yang sangat esensial adalah keterlibatannya dalam penyimpanan dan transfer energi di dalam tanaman (Halvin *et al.* 2005). Fosfor merupakan bagian esensial proses fotosintesis dan metabolisme karbohidrat sebagai fungsi regulator pembagian atau distribusi hasil fotosintesis antara sumber dan organ reproduksi, pembentukan inti sel, pembelahan dan perbanyakan sel (Munawar 2011). Dilaporkan juga bahwa unsur P berperan dalam meningkatkan kualitas buah, pakan ternak, sayuran, dan biji tanaman (Halvin *et al.* 2005). Fosfor terdapat dalam struktur dua senyawa ester (C-P) dan senyawa P kaya energi, yaitu adenosin trifosfat (ATP) dan adenosin difosfat (ADP), yang terlibat dalam berbagai reaksi biosintesis primer maupun biosintesis sekunder tanaman (Munawar 2011).

KESIMPULAN

Jintan hitam dapat beradaptasi di daerah beriklim tropis karena dapat tumbuh dan berproduksi di Kebun Percobaan Manoko, Lembang, Jawa Barat yang terletak pada ketinggian tempat 1.301,5 m dpl, jenis tanah andisol, suhu 15-27°C,

kelembaban rata-rata 71-96%, dengan curah hujan 2.616 mm/tahun. Pemupukan N dan P mampu meningkatkan pertumbuhan, produksi biji, dan kadar bioaktif *thymoquinone* jintan hitam. Pemupukan dosis 120 kg N ha⁻¹ dan 180 kg P₂O₅ ha⁻¹ menghasilkan produksi biji (477,48 kg ha⁻¹), kadar *thymoquinone* (0,0625%) dan produksi *thymoquinone* (29,84 kg ha⁻¹) tertinggi. Karakter iklim dataran tinggi Lembang yang mempunyai suhu, kelembaban, dan curah hujan yang lebih tinggi, jauh berbeda dengan karakter iklim daerah asal jintan hitam sehingga menyebabkan rendahnya pertumbuhan dan produksi jintan hitam dibanding daerah asalnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahemad, M., Zaidi, A., Khan, M.S. & Oves, M. (2009) Biological Importance of Phosphorus and Phosphate Solubilizing Microorganisms—an Overview. In: Khan, M.S. & Zaidi, A. (eds.) *Phosphate Solubilising Microbes for Crop Improvement*. New York, Nova Science Publishers, Inc, pp.1–4.
- Al-Saleh, I.A., Billedo, G. & El-Doush, I.I. (2006) Level of Selenium, Tocopherol, Thymoquinone and Thymol of *Nigella sativa* Seed. *Journal of Food Composition and Analysis*. 19 (2), 167–175. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2005.04.011>.
- Ali, E. & Hassan, F. (2014) Bio Production of *Nigella sativa* L Seeds and soil in Taif Area. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci*. 3 (1), 315–328.
- Botnick, I., Xue, W., Bar, E., Ibdah, M., Schwartz, A., Joel, D.M., Lev, E., Fait, A. & Lewinsohn, E. (2012) Distribution of Primary and Specialized Metabolites in *Nigella sativa* Seeds, A Spice with Vast Traditional and Historical Uses. *Jurnal Molecules*. 17 (9), 45–52.
- Cheikh-Rouhou, S., Besbes, S., Hentati, B., Blecker, C., Deroanne, C. & Attia, H. (2007) *Nigella sativa* L.: Chemical Composition and Physicochemical Characteristics of Lipid Fraction. *Food Chemistry*. 101 (2), 673–682.
- Djazuli, M. (2013) Pengaruh Pemupukan Kompos Limbah Nilam dan NPK terhadap Pertumbuhan dan Produksi Nilam. *Bul Littro*. 24 (2), 87–92.

- Eviati & Sulaeman (2009) *Analisis Kimia Tanah, Tanaman, dan Pupuk*. Prasetyo, B.H. et al. (eds.) Balai Penelitian Tanah. Bogor, Balai Penelitian Tanah.
- Gali-Muhtasib, H., El-Najjar, N. & Schneider, S.R. (2006) The Medicinal Potential of Black Cumin Seed (*Nigella sativa*) and Its Components. Khan, M.T. & Ather, A. (eds.) *Lead Molecules from Natural Products: Discovery and New Trends*. Elsevier, 133–153.
- Ghosheh, O.A., Houdi, A.A. & Crooks, P.A. (1999) High Performance Liquid Chromatographic Analysis of the Pharmacologically Active Quinones and Related Compounds in the Oil of the Black Seed (*Nigella sativa* L.). *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 19 (5), 757–762. doi:10.1016/S0731-7085(98)00300-8.
- Halvin, J., Beaton, J.D., Tisdale, S.L. & Nelson, W.L. (2005) *Soil Fertility and Fertilizers: An Introduction to Nutrient Management*. New Jersey, Pearson Prentice Hall.
- Harzallah, H., Grayaa, R., Kharoubi, W., Maaloul, A., Hammami, M. & Mahjoub, T. (2012) Thymoquinone, The *Nigella sativa* Bioactive Compound, Prevents Circulatory Oxidative Stress Caused by 1,2-Dimethylhydrazine in Erythrocyte during Colon Post Initiation Carcinogenesis. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2012, 6p. doi:10.1155/2012/854065.
- Hosseinzadeh, H., Mahmoud, R.J., Khoei, A.R. & Rahmani, M. (2006) Anti-ischemic Effect of *Nigella sativa* L. Seed in Male Rats. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 5 (1), 53–58.
- Iqbal, M.S., Qureshi, A.S. & Ghafoor, A. (2010) Evaluation of *Nigella sativa* L. for Genetic Variation and Ex-Situ Conservation. *Pak. J. Bot.* 42 (4), 2489–2495.
- Khalid, K.A. & Shedeed, M.R. (2015) Effect of NPK and Foliar Nutrition on Growth, Yield and Chemical Constituents in *Nigella sativa* L. *J. Mater. Environ. Sci.* 6 (6), 1709–1714.
- Khoulenjani, M.B. & Salamati, M.S. (2011) Morphological Reaction and Yield of *Nigella sativa* L. to Fe and Zn. *African Journal of Agricultural Research*. 7 (15), 2359–2362.
- Kizil, S., Kirici, S., Çakmak, Ö. & Khawar, K.M. (2008) Effect of Sowing Periods and P Application Rates on Yield and Oil Composition of Black Cumin (*Nigella sativa* L.). *Journal of Food, Agriculture and Environment*. 6 (2), 242–246.
- Leveau, J.H.J. & Lindow, S.E. (2005) Utilization of the Plant Hormone Indole-3-Acetic Acid for Growth by *Pseudomonas putida* Strain 1290. *Applied and Environmental Microbiology*. 71 (5), 2365–2371. doi:10.1128/AEM.71.5.2365.
- Mariani, S.M. (2009) *Pengaruh Intensitas Naungan dan Kombinasi Pemupukan N dan P terhadap Pertumbuhan, Produksi Simplisia serta Kandungan Andrographolida pada Sambiloto (Andrographis paniculata)*. Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian. Institut Pertanian Bogor.
- Matthaus, B. & Ozcan, M.M. (2011) Fatty Acids, Tocopherol and Sterol Contents of Some *Nigella* species Seed Oil. *J. Food Sci.* 29 (2), 145–150.
- Mbarek, L.A., Mouse, H.A., Elabbadi, N., Bensalah, M., Gamouh, A., Aboufatima, R., Benharref, A., Chait, A., Kamal, M. & Dalal, A. (2007) Anti-Tumor Properties of Blackseed (*Nigella sativa* L.) Extracts. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 40 (6), 839–847.
- Mohtashami, R., Amini, M., Fallah, H.H., Ghamarchehre, M., Sadeqhi, Z., Hajiagaei, R. & Fallah, H.A. (2011) Blood Glucose Lowering Effects of *Nigella sativa* L. Seeds Oil in Healthy Volunteers: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Clinical Trial. *Journal of Medicinal Plants*. 10 (39), 90–94.
- Munawar, A. (2011) *Kesuburan Tanah dan Nutrisi Tanaman*. Bogor, IPB Press.
- Nahed, G., Aziz, A., Azza, Mazher, A.M. & Farahat, M.M. (2010) Response of Vegetative Growth and Chemical Constituents of *Thuja orientalis* L. Plant to Foliar Application of Different Amino Acids at Nubaria. *Journal of American Science*. 6 (3), 295–301.
- Norsharina, I., Maznah, I., Al-Absi, A. & Al-Naqeeb, G. (2011) Thymoquinone Rich Fraction from *Nigella sativa* and Thymoquinone are Cytotoxic Towards Colon and Leukemic Carcinoma Cell Lines. *Journal of Medicinal Plants Research*. 5 (15), 3359–3366.
- Parhizkar, S., Latiff, L.A., Rahman, S.A., Dollah, M.A. & Parichehr, H. (2011) Assessing Estrogenic Activity of *Nigella sativa* L. in Ovariectomized Rats Using

- Vaginal Cornification Assay. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 5 (2), 137–142.
- Purnomo, D.W., Purwoko, B.S., Yahya, S., Sujiprihati, S. & Mansur, I. (2007) Evaluasi Pertumbuhan dan Hasil Beberapa Genotipe Cabai (*Capsicum annum* L.) untuk Toleransi terhadap Aluminium. *Jurnal Agronomi Indonesia*. 35 (3), 183–190.
- Rahman, A., Malik, S., Hasan, S.S., Choudhary, M.I., Ni, C.-Z. & Clardy, J. (1995) Nigellidine, A New Indazole Alkaloid from the Seeds of *Nigella sativa*. *Tetrahedron Letters*. 36 (12), 1993–1996.
- Rahman, A., Malik, S. & Zaman, K. (1992) Nigellimine: a new isoquinoline alkaloid from the seeds of *Nigella sativa*. *Journal of Natural Products*. 55 (5), 676–678.
- Rajsekhar, S. & Kuldeep, B. (2011) Pharmacognosy and Pharmacology of *Nigella sativa*. *International Research Journal of Pharmacy*. 2 (11), 36–39.
- Rana, S., Singh, P.P., Naruka, I.S. & Rathore, S.S. (2012) Effect of Nitrogen and Phosphorus on Growth, Yield and Quality of Black Cumin (*Nigella sativa* L.). *Inter. J. Seed Spices*. 2, 5–8.
- Rizvi, A.H., Khan, M.M.A.A., Saxena, G. & Naqvi, A.A. (2012) A Comparative Study on the Chemical Composition of Oil Obtained from Whole Seeds and Crushed Seeds of *Nigella sativa* L. from India. *J. Biol.Chem.Research*. 29 (1), 44–51.
- Sevik, H., Guney, D., Karakas, H. & Aktar, G. (2012) Change to Amount of Chlorophyll on Leaves Depend on Insolation in Some Landscape Plants. *International Journal of Environmental Sciences*. 3 (3), 1057–1064. doi:10.6088/ijes.2012030133013.
- Shah, S.H. (2007) Influence of Nitrogen and Phytohormone Spray on Seed, Inorganic Protein and Oil Yields and Oil Properties of *Nigella sativa* L. *Asian Journal of Plant Sciences*. 6, 364–368.
- Shah, S.H. & Samiullah, H. (2007) Response of Black Cumin (*Nigella sativa* L.) to Applied Nitrogen With Or Without Gibberelic Acid Spray. *World J. Agric. Sci*. 3, 153–158.
- Sims, D.A. & Gamon, J.A. (2002) Relationship between Leaf Pigment Content and Spectral Reflectance across A Wide Range of Species, Leaf Structure and Development Stages. *Remote Sensing of Environment*. 81 (2), 337–354.
- Sutoyo (2011) Fotoperiode dan Pembungaan Tanaman. *Buana Sains*. 11 (2), 137–144.
- Talafih, K.A., Haddad, N.I., Hattar, B.I. & Kharallah, K. (2007) Effect of Some Agricultural Practices on the Productivity of Black Cumin (*Nigella sativa* L.) Grown under Rainfed Semi-Arid Conditions. *Jordan Journal of Agricultural Sciences*. 3 (4), 385–397.
- Tunçturk, M., Ekin, Z. & Turkozu, D. (2005) Response of Black Cumin (*Nigella sativa* L.) to Different Seed Rates Growth Yield Components and Essential Oil Content. *Journal of Agronomy*. 4 (3), 216–219.
- Tunçturk, M., Tunçturk, R. & Yildirim, B. (2011) The Effects of Varying Phosphorus Doses on Yield and Some Yield Components of Black Cumin (*Nigella sativa* L.). *Advances in Environmental Biology*. 5 (2), 371–374.
- Tunçturk, R., Tunçturk, M. & Ciftci, V. (2012) The Effects of Varying Nitrogen Doses on Yield and Some Yield Components of Black Cumin (*Nigella sativa* L.). *Advances in Environmental Biology*. 6 (2), 855–858.
- Wahyuni, S. (2009) Peluang Budidaya dan Manfaat Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.). *Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri*. 15, 23–25.
- Zahir, Z.A., Asghar, H.N. & Arshad, M. (2001) Cytokinin and Its Precursors for Improving Growth and Yield of Rice. *Soil Biology and Biochemistry*. 33, 405–408. doi:10.1016/S0038-0717(00)00145-0.

AKTIVITAS PENGHAMBATAN POLIMERISASI HEME EKSTRAK DAUN SEMBUNG (*Blumea balsamifera*) SEBAGAI ANTIMALARIA

Haem polymerization inhibitory activity of Blumea balsamifera leaves extract as antimalarial

Eris Septiana¹⁾, Aulia Umaroh²⁾, Erlindha Gangga²⁾ dan Partomuan Simanjuntak^{1,2)}

Pusat Penelitian Bioteknologi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia¹⁾

Jalan Raya Bogor KM 46 Cibinong, Bogor 16911

Fakultas Farmasi, Universitas Pancasila²⁾

Srengseng Sawah, Jagakarsa, Jakarta Selatan 12640

septiana.eris@gmail.com

(diterima 28 September 2016, direvisi 26 Maret 2017, disetujui 10 April 2017)

ABSTRAK

Penyakit malaria disebabkan oleh parasit *Plasmodium* yang dalam siklusnya akan mendegradasi hemeoglobin menjadi asam amino dan heme bebas yang toksik untuk parasit. Untuk menetralkan toksisitas heme bebas, parasit akan mengubahnya menjadi hemozoin melalui proses polimerisasi heme. Proses ini sangat penting dalam siklus hidup parasit sehingga dapat dijadikan sebagai target obat antimalaria. Daun sembung dilaporkan mempunyai aktivitas antimalaria baik secara *in vitro* maupun *in vivo*, tetapi mekanismenya belum pernah dilaporkan. Penelitian bertujuan untuk mengetahui aktivitas penghambatan polimerisasi heme ekstrak daun sembung dan golongan senyawa yang terdapat pada ekstrak dengan aktivitas penghambatan terbaik. Daun sembung diekstrak dengan pelarut n-heksan, etil asetat, dan etanol 70%. Uji antimalaria *in vitro* dilakukan dengan menggunakan metode penghambatan polimerisasi heme. Ekstrak dengan aktivitas penghambatan terbaik diukur nilai IC_{50} dan dilanjutkan dengan skrining fitokimia. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak n-heksan, etil asetat, dan etanol 70% mempunyai aktivitas penghambatan polimerisasi heme pada konsentrasi 1 mg ml⁻¹ masing-masing sebesar 11,28; 26,26; dan 56,88%. Nilai IC_{50} ekstrak etanol 70% sebesar 0,978 mg ml⁻¹. Ketiga ekstrak memiliki aktivitas penghambatan polimerisasi heme dan ekstrak etanol 70% memiliki aktivitas tertinggi. Skrining fitokimia menunjukkan daun sembung yang diekstrak dengan etanol 70% mengandung golongan senyawa flavonoid, triterpenoid, kuinon, tanin, dan saponin.

Kata kunci: *Blumea balsamifera*, antimalaria, *in vitro*, polimerisasi heme, skrining fitokimia

ABSTRACT

Malaria disease is caused by *Plasmodium* parasite which will degrade haemoglobin into amino acid and free haem, that is toxic for the parasite, as part of their life cycle. To neutralize its toxicity, the parasite will convert free haem into hemozoin through haem polymerization process. This process is important for the parasite, hence it can be targetted by antimalarial drugs. *Blumea balsamifera* leaf was reported to have antimalarial activity both *in vitro* and *in vivo*. However, there was no report about its mechanisms. The aim of this study was to study the haem polymerization inhibitory activity of *B. balsamifera* leaf extracts and its chemical compounds from the extract with the highest inhibitory activity. *N*-hexane, ethyl acetate, and 70% ethanol were used as extractor. Haem polymerization inhibitory was used as *in vitro* antimalarial assay. IC_{50} value and phytochemical screening were performed for the extract with the highest inhibitory activity. The results showed that 1 mg ml⁻¹ of *n*-hexane, ethyl acetate, and 70% ethanol had haem polymerization inhibitory activity at 11.28, 26.26 and 56.88% respectively. The IC_{50} value of 70% ethanol extract was 0.978 mg ml⁻¹. All extracts treatments had haem polymerization inhibitory activity with 70% ethanol extract gave the highest inhibitory activity. Phytochemical screening showed that *B. balsamifera* leaf extracted with 70% ethanol contained flavonoids, triterpenoids, quinones, tannins, and saponins.

Key words: *Blumea balsamifera*, antimalarial, *in vitro*, haem polymerization, phytochemical screening

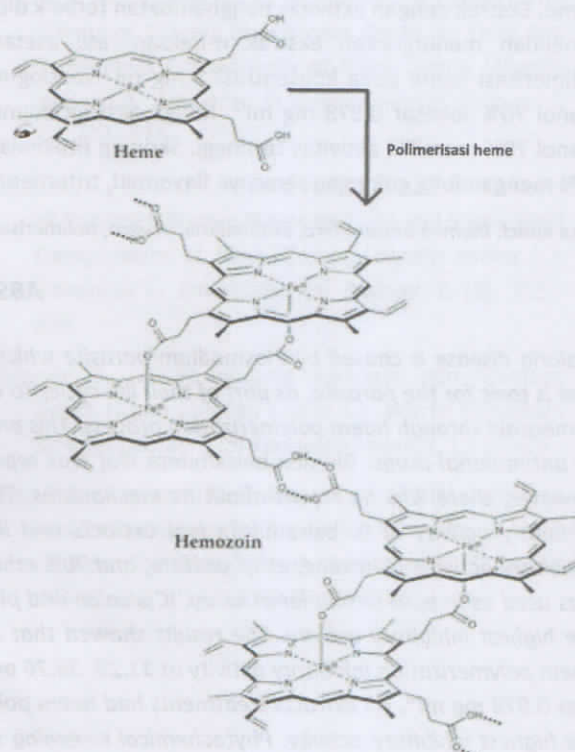
PENDAHULUAN

Penyakit malaria merupakan penyakit yang disebabkan oleh parasit *Plasmodium* melalui vektor nyamuk *Anopheles* betina. Malaria masih merupakan penyebab utama kematian di seluruh dunia dengan hampir separuh populasi dunia yang beresiko terjangkit penyakit ini. Sekitar 300-500 juta kasus malaria telah dilaporkan di seluruh dunia dan lebih dari 1 juta orang meninggal tiap tahunnya (Murray *et al.* 2012). Parasit *Plasmodium* akan menyerang sel darah merah inangnya dan mendegradasi hemeoglobin dalam vakuola makanannya untuk mendapatkan senyawa-senyawa yang dibutuhkan selama fase hidupnya. Hasil degradasi hemeoglobin ini akan menghasilkan produk samping yaitu heme bebas yang toksik terhadap parasit maupun inangnya. Untuk mempertahankan hidupnya, parasit akan mengubah heme bebas tersebut menjadi hemozoin yang tidak toksik (Huy *et al.* 2007). Proses perubahan heme bebas menjadi hemozoin ini dikenal sebagai reaksi polimerisasi heme (Gambar 1). Perubahan heme menjadi hemozoin ini merupakan proses metabolisme yang eksklusif bagi parasit (Nagaraj *et al.* 2013). Oleh karena itu, penghambatan proses polimerisasi heme dapat dijadikan target kandidat obat antimalaria baru.

Sembung (*Blumea balsamifera*) adalah salah satu jenis tanaman obat yang umum digunakan oleh masyarakat di kawasan Asia Tenggara untuk mengobati batuk, demam dan influenza (daun), dan antiplasmodium (akar) (Noor Rain *et al.* 2007). Masyarakat Indonesia seperti di daerah Sei Kepayang, Sumatera Utara menggunakan rebusan daun sembung sebagai obat antimalaria (Abdillah *et al.* 2014). Abdillah *et al.* (2015) juga melaporkan bahwa ekstrak metanol daun sembung efektif membunuh parasit *Plasmodium falciparum* strain 3D7 penyebab penyakit malaria yang sensitif terhadap obat antimalaria klorokuin. Pengujian lanjutan secara *in vivo* terhadap mencit yang diinfeksi dengan parasit *P. falciparum* strain NK 65 memberikan hasil positif ekstrak daun

sembung sebagai obat antimalaria.

Penggunaan secara tradisional dan didukung oleh data ilmiah baik secara *in vitro* maupun *in vivo* menunjukkan bahwa daun sembung aktif sebagai obat antimalaria. Oleh karena itu, penelitian mengenai mekanisme aksi antimalaria terhadap parasit *Plasmodium* cukup penting untuk diteliti lebih lanjut. Beberapa pengujian mekanisme aksi antimalaria secara *in vitro* telah dilakukan diantaranya adalah metode penghambatan polimerisasi heme. Metode ini relatif mudah dilakukan dan memberikan hasil yang dapat dipertanggungjawabkan secara ilmiah (Saritha *et al.* 2015), walaupun pengujian penghambatan polimerisasi heme belum pernah dilakukan pada daun sembung. Oleh sebab itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan ekstrak daun sembung dalam menghambat polimerisasi heme dan golongan senyawa kimia yang terkandung di dalamnya.



Gambar 1. Proses perubahan heme bebas menjadi hemozoin (polimerisasi heme).

Figure 1. The conversion process of free haem into hemozoin (haem polymerization).

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan di Pusat Penelitian Bioteknologi, LIPI tahun 2016. Percobaan meliputi ekstraksi daun sembung (*Blumea balsamifera*), skrining fitokimia ekstrak, dan uji *in vitro* anti-malaria dengan metode penghambatan polimerisasi heme.

Ekstraksi daun sembung

Daun sembung yang digunakan berasal dari tanaman yang sama berumur tujuh bulan yang dikeringkan di bawah sinar matahari. Setelah kering, sebanyak 500 g daun sembung diekstraksi bertingkat dengan cara dimaserasi menggunakan pelarut n-heksan, etil asetat dan etanol 70% (Gambar 2). Maserasi dengan masing-masing pelarut dilakukan sampai diperoleh filtrat hasil ekstraksi berwarna bening. Masing-masing ekstrak cair kemudian dipekatkan dengan penguap putar hampa udara (*rotary vacuum evaporator*) sampai didapatkan ekstrak kental, kemudian ditimbang untuk selanjutnya digunakan pada uji aktivitas antimalaria.



Gambar 2. Tanaman sembung yang digunakan sebagai bahan ekstraksi.

Figure 2. *B. balsamifera* leaves to be extracted.

Uji aktivitas antimalaria

Uji aktivitas antimalaria mengikuti metode Huy et al. (2007) yang dimodifikasi. Sebanyak 16,3 mg hemein klorida (SIGMA) dilarutkan dalam 1 ml dimetil sulfoksida (DMSO) lalu disaring dengan membran filter berdiameter 0,2 μm . Sebanyak 22,2 μl larutan hemein klorida dalam DMSO dilarutkan dengan buffer asetat 1 M (pH 4,8) sampai 5 ml. Larutan ini dipakai sebagai hemein uji. Sebanyak 20 μl larutan sampel berupa ekstrak n-heksan, etil asetat, dan etanol 70% dengan masing-masing konsentrasi akhir sebesar 1 mg ml^{-1} dimasukkan ke dalam *plate* 96 sumuran. Kemudian ditambahkan sebanyak masing-masing 90 μl larutan hemein uji dan reaksi polimerisasi heme dimulai dengan menambahkan larutan Tween-20 (konsentrasi akhir 0,02 mg ml^{-1}). *Plate* kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 250 menit untuk selanjutnya dibaca serapannya pada panjang gelombang 415 dan 630 nm menggunakan *microplate reader* (THERMO). Fraksi heme yang diubah menjadi β -hemeatin dihitung berdasarkan persamaan:

$$f = (A_{\text{kontrol}} - A_{\text{sampel}}) / (A_{\text{kontrol}} - A_{\text{min}})$$

Keterangan/Note:

- A_{kontrol} = nilai serapan heme tanpa Tween-20 atau ekstrak daun sembung (*haem uptake value without Tween-20 or extract B. balsamifera*).
- A_{sampel} = serapan heme dengan penambahan Tween-20 dan ekstrak daun sembung (*haem uptake by the addition of Tween-20 and extract B. balsamifera*).
- A_{min} = serapan heme dengan penambahan Tween-20 tanpa ekstrak daun sembung (*haem uptake by the addition of Tween-20 without extract B. balsamifera*).

Persentase penghambatan pembentukan β -hemeatin oleh ekstrak daun sembung ataupun kontrol positif klorokuin sulfat dihitung berdasarkan persamaan:

$$\text{Penghambatan} = (1 - f) \times 100\%$$

Keterangan/Note:

f = fraksi heme yang diubah menjadi β -hemeatin (f = *haem fraction converted into β -hemeatin*).

Ekstrak dengan uji penghambatan terbaik pada konsentrasi bahan uji 1 mg ml^{-1} selanjutnya

diukur nilai IC_{50} (kadar senyawa yang mampu menghambat polimerisasi heme hingga 50%) dengan seri konsentrasi akhir sebesar 0,25; 0,5; 1; 2; dan 4 mg ml^{-1} serta seri konsentrasi akhir klorokuin sulfat sebesar 0,0625; 0,125; 0,25; 0,5; dan 1 mg ml^{-1} . Nilai IC_{50} kemudian dihitung menggunakan analisis regresi linier.

Skrining fitokimia

Ekstrak yang mempunyai aktivitas penghambatan polimerisasi heme terbaik dilakukan skrining fitokimia secara kualitatif dengan metode Harborne (1998). Uji alkaloid dilakukan dengan menambahkan NH_4OH 25% dan kloroform ke dalam sampel. Filtrat berupa larutan organik diekstraksi dengan HCl pekat. Lapisan asam kemudian ditambah beberapa tetes pereaksi *Dragendorff*. Terbentuknya endapan merah bata dengan pereaksi *Dragendorff* menunjukkan adanya alkaloid.

Uji steroid/triterpenoid dilakukan dengan memaserasi sampel dengan eter selama dua jam, lalu disaring. Filtrat kemudian diuapkan dalam cawan penguap, kemudian ditambahkan asam asetat glasial dan satu tetes asam sulfat pekat pada residu. Terbentuknya warna merah, hijau ungu dan biru menunjukkan adanya kandungan steroid/triterpenoid.

Uji kumarin dilakukan dengan menambahkan eter pada sampel, kemudian disaring dan filtrat diuapkan. Setelah filtrat kering, ditambahkan air panas dan didinginkan, kemudian ditambahkan larutan amoniak 10%. Adanya fluoresensi hijau atau biru pada sinar UV menunjukkan adanya kumarin.

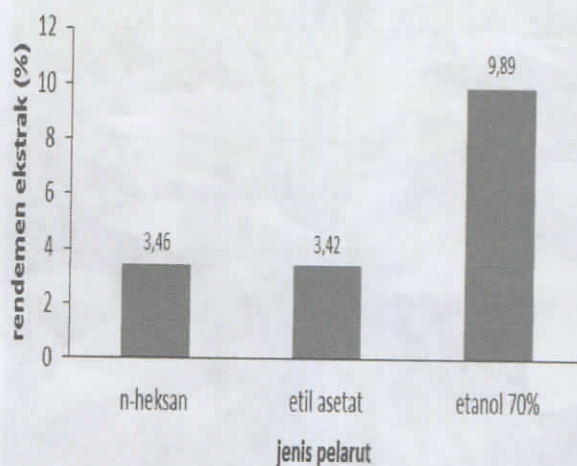
Pada uji flavonoid, saponin, tanin dan kuinon, sampel dididihkan dalam air panas selama lima menit, kemudian dibagi ke dalam empat tabung reaksi. Tabung pertama ditambahkan dengan serbuk magnesium, HCl pekat dan amil alkohol kemudian dikocok dengan kuat dan larutan dibiarkan memisah sesuai dengan pelarutnya. Adanya flavonoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga

pada lapisan alkohol. Tabung kedua dikocok dengan kuat secara vertikal. Larutan didiamkan selama 10 menit sampai terbentuk busa. Busa yang terbentuk dan tidak hilang setelah penambahan HCl 2N menunjukkan adanya kandungan saponin. Tabung ketiga ditambahkan larutan $FeCl_3$ 1%. Warna biru yang dihasilkan menunjukkan adanya kandungan tanin. Tabung keempat ditambahkan dengan NaOH 1N dan warna merah yang terbentuk menunjukkan adanya kuinon.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rendemen ekstrak

Rendemen ekstrak etanol 70% daun sembung memiliki persentase tertinggi yaitu sebesar 9,89% dibandingkan dengan ekstrak n-heksan (3,46%) maupun etil asetat (3,42 %) (Gambar 3). Tingginya rendemen yang didapatkan dari ekstrak etanol 70% disebabkan pelarut tersebut memiliki polaritas yang mirip dengan kebanyakan komponen kimia yang terkandung dalam jaringan tanaman. Etanol 70% dapat melarutkan komponen fitokimia secara maksimal karena kandungan air yang tinggi (30%) yang dapat membantu proses ekstraksi (Abdillah *et al.* 2015).



Gambar 3. Rendemen ekstrak daun sembung dengan tiga jenis pelarut.

Figure 3. The extract yield of *B. balsamifera* leaf using three types of solvents.

Aktivitas antimalaria

Hasil uji pendahuluan ekstraksi daun sembung dengan pelarut n-heksan, etil asetat, dan etanol 70% menunjukkan adanya aktivitas penghambatan polimerisasi heme dengan nilai penghambatan masing-masing sebesar 11,28; 26,26; dan 56,88%. Ekstrak etanol 70% memiliki aktivitas semakin banyak (Sembiring and Manoi 2011). penghambatan tertinggi. Hal ini dapat berhubungan dengan nilai rendemen ekstrak yang lebih tinggi, dimana semakin tinggi nilainya maka kemungkinan senyawa aktif yang dikandungnya. Ekstrak etanol 70% memiliki nilai penghambatan di atas 50% pada konsentrasi bahan uji 1 mg ml⁻¹. Penelitian antimalaria secara *in vitro* maupun *in vivo* dengan menggunakan pelarut dengan kepolaran berbeda telah banyak dilakukan. Ekstrak etanol daun *Phyllanthus amarus* memberikan hasil yang lebih baik sebagai antimalaria dibandingkan dengan ekstrak air pada percobaan antiplasmodium secara *in vivo* (Nwazue et al. 2013). Pengujian antimalaria secara *in vitro* menggunakan fraksi etanol bawang putih memberikan aktivitas penghambatan polimerisasi heme lebih baik dibandingkan dengan fraksi n-heksan dan etil asetat (Manu et al. 2013). Oleh karena itu, hanya ekstrak etanol 70% yang diuji lebih lanjut untuk menentukan daya penghambatan polimerisasi heme 50% (IC₅₀).

Hasil pengujian lanjutan menunjukkan ekstrak etanol 70% daun sembung memiliki nilai IC₅₀ sebesar 0,978 mg ml⁻¹, sedangkan kontrol positif yaitu klorokuin sulfat memiliki nilai IC₅₀ sebesar 0,668 mg ml⁻¹ (Tabel 1). Senyawa dengan IC₅₀ yang lebih kecil dari nilai IC₅₀ klorokuin sulfat yaitu 12 mg ml⁻¹, dapat dikategorikan memiliki aktivitas dalam menghambat polimerisasi heme (Baelmans et al. 2000). Berdasarkan hal tersebut, maka ekstrak etanol 70% daun sembung mempunyai aktivitas penghambatan polimerisasi heme walaupun masih di bawah kontrol positif klorokuin sulfat. Hal ini dapat terjadi karena ekstrak etanol 70% daun sembung masih mengandung beberapa senyawa, sedangkan klorokuin sulfat merupakan senyawa yang lebih murni. Aktivitas suatu senyawa campuran atau ekstrak kasar dapat lebih rendah dibandingkan dengan senyawa tunggal atau yang lebih murni karena dalam ekstrak kasar terdapat beberapa senyawa yang bersifat antagonistik terhadap senyawa lainnya (Rasoanaivo et al. 2011).

Pengujian antimalaria pada penelitian ini dilakukan secara *in vitro* menggunakan metode penghambatan polimerisasi heme. Secara alami, parasit *Plasmodium* akan masuk ke dalam sel darah merah inangnya. Di dalam sel darah merah, parasit *Plasmodium* akan memecah hemeoglobin menjadi heme bebas dan asam-asam amino

Tabel 1. Nilai IC₅₀ ekstrak dengan aktivitas penghambatan polimerisasi heme tertinggi.

Table 1. The IC₅₀ value of extract with the highest haem polymerization inhibitory activity.

Sampel	Konsentrasi (mg ml ⁻¹)	Fraksi β-hematin	Penghambatan (%)	IC ₅₀ (mg ml ⁻¹)
Ekstrak etanol 70%	0,25	0,6402	35,98	0,978
	0,5	0,5765	42,35	
	1	0,4312	56,88	
	2	0,3282	67,18	
	4	0,2198	78,02	
Klorokuin sulfat	0,0625	0,8257	17,43	0,668
	0,125	0,7821	21,79	
	0,25	0,6670	33,30	
	0,5	0,4779	52,21	
	1	0,3966	60,34	

sebagai bahan dasar untuk kehidupan sel parasit. Hasil samping berupa heme bebas pada pemecahan hemeoglobin bersifat toksik bagi parasit maupun sel inang (Huy *et al.* 2007). Untuk menanggulangi hal itu, parasit akan mengubah heme bebas menjadi hemozoin yang tidak toksik melalui proses polimerisasi.

Skrining fitokimia

Dari hasil skrining fitokimia secara kualitatif didapatkan hasil ekstrak etanol 70% daun sembung mengandung senyawa flavonoid, steroid, tanin, kuinon, dan saponin (Tabel 2 dan Gambar 4). Beberapa penelitian sebelumnya

melaporkan adanya beberapa senyawa metabolit sekunder dari tanaman yang mempunyai aktivitas sebagai antimalaria. Senyawa golongan saponin, tanin, flavonoid, steroid/triterpenoid, dan kuinon yang terdapat dalam ekstrak etanol 70% daun sembung dilaporkan mempunyai aktivitas sebagai antimalaria (Lamidi *et al.* 1996; Kurosawa *et al.* 2000; Manu *et al.* 2013; Salenus *et al.* 2014; Syamsudin *et al.* 2013).

Aktivitas antimalaria senyawa-senyawa tersebut dapat terjadi melalui beberapa mekanisme penghambatan diantaranya adalah menghambat polimerisasi heme. Sampai dengan saat ini belum ada informasi mengenai mekanisme senyawa golongan tanin dalam menghambat polimerisasi heme, tetapi senyawa polifenol yang lain selain tanin yaitu golongan flavonoid dilaporkan memiliki kemampuan dalam menghambat polimerisasi heme. Senyawa flavonoid akan bersinergi dengan artemisinin dari tanaman *Artemisia* dengan cara meningkatkan kemampuan pengikatan artemisinin dengan heme yang menyebabkan terbentuknya artemisinin peroksida yang memiliki efek antimalaria (Bilia *et al.* 2002).

Mekanisme saponin, yang termasuk golongan terpenoid, dalam penghambatan polimerisasi heme juga belum jelas. Meskipun demikian, senyawa golongan triterpenoid lainnya yaitu senyawa turunan asam ursolat dilaporkan memiliki aktivitas penghambatan polimerisasi heme

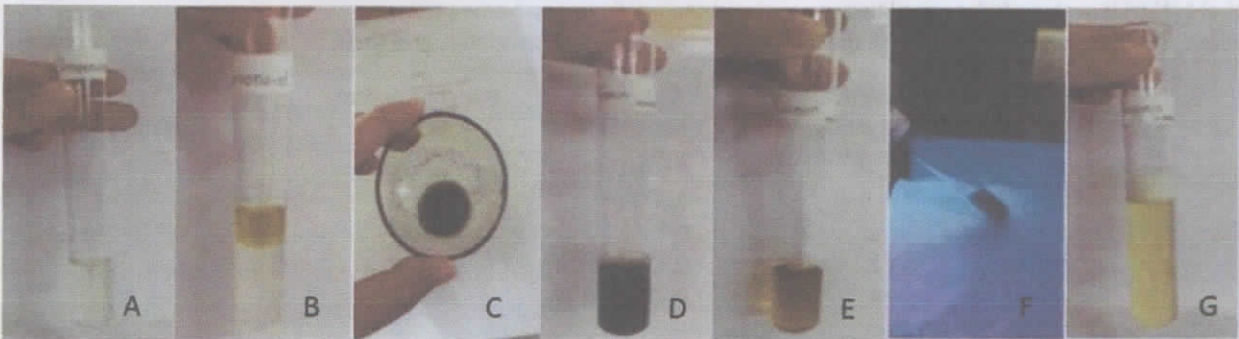
Tabel 2. Skrining fitokimia ekstrak daun sembung dengan aktivitas penghambatan polimerisasi hem tertinggi.

Table 2. Phytochemical screening of *B. balsamifera* leaf extract with the highest heme polymerization inhibitory activity.

No.	Senyawa	Ekstrak etanol 70%
1	Alkaloid	-
2	Flavonoid	+
3	Steroid/triterpenoid	+
4	Tanin	+
5	Kuinon	+
6	Kumarin	-
7	Saponin	+

Keterangan: tanda (+) mengandung senyawa target, (-) tidak mengandung senyawa target.

Note : sign (+) containing the target compound, (-) does not contain the target compound.



Gambar 4. Skrining fitokimia ekstrak daun sembung dengan aktivitas penghambatan polimerisasi heme tertinggi (A = alkaloid; B = flavonoid; C = steroid/triterpenoid; D = tanin; E = kuinon; F = kumarin; G = saponin).

Figure 4. Phytochemical screening of *B. balsamifera* leaf extract with the highest haem polymerization inhibitory activity (A = alkaloids; B = flavonoids; C = steroids/triterpenoids; D = tannins; E = quinines; F = coumarins; G = saponins).

dengan cara membentuk kompleks dengan cincin terlokalisasi heme sehingga heme akan tetap berupa cincin dimer (Gnoatto et al. 2008). Selain itu, mekanisme golongan senyawa kuinon dalam menghambat polimerisasi heme juga belum diketahui, akan tetapi senyawa ini mempunyai aktivitas antimalaria dengan cara menghambat kerja enzim *glutathione reductase* pada parasit *Plasmodium* (Grellier et al. 2010).

KESIMPULAN

Ekstrak daun sembung memiliki aktivitas penghambatan polimerisasi heme dengan aktivitas tertinggi terdapat pada ekstrak etanol 70% dengan kandungan senyawa kimia flavonoid, steroid/triterpenoid, tanin, kuinon, dan saponin.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdillah, S., Tambunan, R.M., Farida, Y., Sandhiutami, N.M.D. & Dewi, R.M. (2015) Phytochemical Screening and Antimalarial Activity of Some Plants Traditionally Used in Indonesia. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*. 5 (6), 454–457.
- Abdillah, S., Tambunan, R.M., Sinaga, Y.M. & Farida, Y. (2014) Ethno Botanical Survey of Plants Used in the Traditional Treatment of Malaria in Sei Kepayang, Asahan of North Sumatera. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. 7, S104–S107.
- Baelmans, R., Deharo, E., Munoz, V., Sauvain, M. & Ginsburg, H. (2000) Experimental Condition for Testing the Inhibitory Activity of Chloroquine on the Formation of β -Hemeatin. *Experimental Parasitology*. 96 (4), 243–248.
- Billa, A.R., Lazari, D., Messori, L., Taglioli, V., Temperini, C. & Vincieri, F.F. (2002) Simple and Rapid Physico-Chemical Methods to Examine Action of Antimalarial Drugs with Hemein: Its Application to *Artemisia annua* Constituents. *Life Sciences*. 70 (7), 769–778.
- Gnoatto, S.C.B., Susplugas, S., Dalla Vecchia, L., Ferreira, T.B., Dassonville-Klimpt, A., Zimmer, K.R., Demailly, C., Da Nascimento, S., Guillon, J. & Grellier, P. (2008) Pharmacomodulation on the 3-acetylsalicylic acid skeleton: Design, Synthesis and Biological Evaluation of Novel N-[3-[4-(3-aminopropyl) piperazinyl]propyl]-3-O-acetylsalicylic Derivates as Antimalarial Agents. *Bioorganic & medicinal chemistry*. 16 (2), 771–782.
- Grellier, P., Marozienė, A., Nivinskas, H., Šarlauskas, J., Aliverti, A. & Čėnas, N. (2010) Antiplasmodial activity of Quinones: Roles of Aziridinyl Substituents and the Inhibition of Plasmodium Glutathione Reductase. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 494 (1), 32–39.
- Harborne, A.J. (1998) Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis.
- Huy, N.T., Uyen, D.T., Maeda, A., Oida, T., Harada, S. & Kamei, K. (2007) Simple Colorimetric Inhibition Assay of Heme Crystallization for High-Throughput Screening of Antimalarial Compounds. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 51 (1), 350–353.
- Kurosawa, Y., Dorn, A., Kitsuji-Shirane, M., Shimada, H., Satoh, T., Matile, H., Hofheinz, W., Masciadri, R., Kansy, M. & Ridley, R.G. (2000) Hemeatin Polymerization Assay as a High-Throughput Screen for Identification of New Antimalarial Pharmacophores. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 44 (10), 2638–2644.
- Lamidi, M., Ollivier, E., Gasquet, M., Faure, R., Nzé-Ekekang, L. & Balansard, G. (1996) Structural and Antimalarial Studies of Saponins from *Nauclea diderrichii* Bark. In: *Saponins Used in Traditional and Modern Medicine*, pp.383–399.
- Manu, S., Deshmukh, R., Prasad, K.M.N. & Trivedi, V. (2013) Screening and Characterization of Antimalarial Heme Polymerase Inhibitors from Garlic Cloves. *European Journal of Medicinal Plants*. 3 (3), 474.
- Murray, C.J.L., Rosenfeld, L.C., Lim, S.S., Andrews, K.G., Foreman, K.J., Haring, D., Fullman, N., Naghavi, M., Lozano, R. & Lopez, A.D. (2012) Global Malaria Mortality Between 1980–2010: a Systematic Analysis. *The Lancet*. 379 (9814), 413–431.
- Nagaraj, V.A., Sundaram, B., Varadarajan, N.M., Subramani, P.A., Kalappa, D.M., Ghosh, S.K. & Padmanaban, G. (2013) Malaria Parasite-Synthesized Heme Is Essential in the Mosquito and Liver Stages and Complements Host Heme in the Blood Stages of Infection. *PLoS Pathog.* 9 (8), e1003522.
- Nwazue, N.R., Jacinta, O. & Wesley, B. (2013) *In Vivo* Antimalarial Effects of Ethanol and Crude Aqueous

- Extracts of *Phyllanthus amarus*. *World Essays Journal*. 1 (4), 115–124.
- Rain, A.N., Khozirah, S., Mohd Ridzuan, M.A., Ong, B.K., Rohaya, C., Rosilawati, M., Hamdino, I., Badrul, A. & Zakiah, I. (2007) Antiplasmodial Properties of Some Malaysian Medicinal Plants. *Tropical Biomedicine*. 24 (1), 29–35.
- Rasoanaivo, P., Wright, C.W., Willcox, M.L. & Gilbert, B. (2011) Whole Plant Extracts Versus Single Compounds for the Treatment of Malaria: Synergy and Positive Interactions. *Malaria Journal*. 10 (1), S4.
- Salenus, J., Wijaya, J., Labetubun, C.N. & Belseran, S.E. (2014) Potensi Ekstrak Heksan Daun Kapur (*Harmisopanax aculeatus*, Harms) Sebagai Obat Antimalaria. *Program Kreativitas Mahasiswa-Penelitian*.
- Saritha, M., Koringa, K., Dave, U. & Gatne, D. (2015) A Modified Precise Analytical Method for Anti-Malarial Screening: Hemee Polymerization Assay. *Molecular and Biochemical Parasitology*. 201 (2), 112–115.
- Sembiring, B.B. & Manoi, F. (2011) Identifikasi Mutu Tanaman Ashitaba. *Bul Littro*. 22 (2). 177-185.
- Syamsudin, Supargiyono, Wahyuono, S., Simanjuntak, P. & Mustofa (2013) Hemee Polymerization Inhibitory Activities of Xanthone from *G. parvifolia* (Miq) Miq Stem Bark as an Antimalarial. *Asian Journal of Chemistry*. 25 (3), 1311.

**TRANSFORMASI GEN PADA NILAM UNTUK KETAHANAN TERHADAP PENYAKIT UTAMA
MENGUNAKAN *Agrobacterium tumefaciens*
Gene Transformation on Patchouli For Resistance to Major Diseases
Mediated by *Agrobacterium tumefaciens***

Sukanto¹⁾, Tri Joko Santoso²⁾, Atmitri Siharmini²⁾, Aniversari Apriana²⁾, Amalia¹⁾ dan Nursalam Sirait¹⁾

Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat¹⁾

Jalan Tentara Pelajar No. 3 Bogor 16111

Telp 0251-8321879 Faks 0251-8327010

Balai Besar Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian²⁾

Jalan Tentara Pelajar No. 4 Bogor 16111

sukantown@yahoo.com

(diterima 20 Juli 2016, direvisi 21 Agustus 2016, disetujui 30 Mei 2017)

ABSTRAK

Nilam banyak dibudidayakan di Indonesia, dan lebih dari 80% produksi minyak nilam dunia dipasok dari Indonesia. Masalah utama dalam budidaya nilam di Indonesia adalah penyakit, seperti penyakit layu bakteri, budok dan nematoda. Sampai saat ini varietas tahan terhadap penyakit, khususnya budok, belum diperoleh. Tanaman tahan dapat diperoleh dengan teknik transformasi gen. Transkripsi faktor WRKY telah diketahui dapat meregulasi serangan beberapa patogen penyebab penyakit tanaman. Gen *OsWRKY76* terletak pada segmen kromosom 9 tanaman padi yang telah diidentifikasi terkait dengan ketahanan berspektrum luas. Penelitian bertujuan untuk mengintroduksi konstruksi gen *OsWRKY76* yang berasal dari padi ke dalam tanaman nilam melalui bantuan *Agrobacterium tumefaciens*. Pada percobaan pertama, tanaman nilam ditransformasi dengan *A. tumefaciens* strain EHA 105 yang mengandung gen *OsWRKY76*. Perlakuan terdiri atas waktu induksi eksplan yang akan ditransformasi (pre-kultur) di dalam medium MS, yaitu 5 dan 7 hari, dan waktu inokulasi *A. tumefaciens* yaitu 10 dan 20 menit. Pada percobaan kedua, analisis molekuler untuk mengkonfirmasi keberadaan gen *OsWRKY76* dalam tanaman nilam menggunakan teknik PCR dengan primer *hptII*. Hasil penelitian menunjukkan waktu induksi eksplan terbaik sebelum transformasi adalah 5 hari, dengan perendaman di dalam suspensi *A. tumefaciens* selama 10 menit. Dari transformasi tersebut telah dihasilkan 187 kalus independen. Hasil analisis PCR terhadap galur-galur putatif transgenik independen, lima galur (T1, T8, T10, T11, T13) positif mengandung gen *hptII*, yaitu gen penanda ketahanan terhadap antibiotik higromisin yang berada satu konstruk dengan gen *OsWRKY76*. Hasil tersebut menunjukkan bahwa gen *OsWRKY76* yang berasal dari padi dapat diintroduksi pada tanaman nilam dan berpeluang sebagai kandidat tahan terhadap penyakit utama.

Kata kunci: *Pogostemon cablin* Benth, gen *OsWRKY76*, ketahanan terhadap penyakit

ABSTRACT

The patchouli plant have been cultivated commercially in Indonesia, which contributes over 80% of world patchouli oil production. The main problem in patchouli cultivation in Indonesia is plant diseases such as wilt disease, "budok" and nematode. Currently, patchouli varieties resistant to those diseases, especially budok, are unavailable. Plants resistant to disease can be obtained through several techniques such as genetic transformation. WRKY transcription factors have been known to regulate expression of pathogens causing infectious disease. *OsWRKY76* gene located in the ninth of chromosome segment in rice has been identified related to its broad spectrum of plant resistance. The research was aimed to introduce *OsWRKY76* from rice into patchouli through *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation. At the first experiment, leaves of patchouli were transformed with *A. tumefaciens* strain EHA 105 containing *OsWRKY76* gene. The treatments were explants induction time in MS medium before transformation (pre-culture) viz. 5 and 7 days, and inoculation time of *A. tumefaciens* viz. 10 and 20 minutes. The second experiment was molecular analysis to confirm the integration of *OsWRKY76* gene into patchouli using PCR technique with *hptII* primer. The result

indicated the best treatment for explants induction before transformation was 5 days, and 10 minutes for inoculation time of *A. tumefaciens*. There were 187 independent calli lines have been produced from this transformation. PCR analysis indicated five independent putative transgenic lines (T1, T8, T10, T11, T13) were positively harboring the *hptII* gene, a selectable marker used in the *OsWRKY76* construct gene. These suggested that the *OsWRKY76* gene derived from rice can be introduced into patchouli plants and is potential candidate for plant resistance to major diseases.

Key words: *Pogostemon cablin* Benth, *OsWRKY76* gene, disease resistance

PENDAHULUAN

Nilam (*Pogostemon cablin* (Blanco) Benth) merupakan salah satu tanaman aromatik yang berasal dari Asia, dan secara intensif telah dikembangkan di Indonesia, Cina, India, Malaysia, Filipina, Thailand dan Vietnam (Chakrapani *et al.* 2013). Indonesia merupakan penghasil utama minyak nilam yang memasok lebih dari 80% kebutuhan dunia (Singh dan Rao 2009). Salah satu masalah dalam budidaya nilam di Indonesia adalah adanya serangan penyakit tanaman (Sukanto *et al.* 2014; Djiwanti dan Wahyuno 2012). Beberapa penyakit utama pada tanaman nilam adalah penyakit layu bakteri yang disebabkan oleh *Ralstonia solanacearum* (Nasrun *et al.* 2005), penyakit budok yang disebabkan oleh jamur *Synchytrium pogostemonis* (Wahyuno dan Sukanto 2010), nematoda (Djiwanti dan Momota 1991), dan penyakit yang disebabkan oleh virus (Sukanto *et al.* 2007; Noveriza *et al.* 2012). Pengendalian penyakit dapat dilakukan secara terpadu yaitu dengan agensia hayati, pestisida nabati, penggunaan varietas tahan maupun fungisida. Penggunaan varietas tahan adalah cara yang paling efektif untuk mengendalikan penyakit tanaman. Usaha untuk memperoleh varietas tahan melalui persilangan tidak dapat dilakukan, karena nilam yang dibudidayakan tidak berbunga. Transformasi genetik dengan gen asing dari tanaman lain merupakan cara alternatif untuk memperoleh tanaman yang memiliki sifat yang diinginkan.

Ketahanan terhadap penyakit pada tanaman terjadi karena adanya interaksi antara produk gen *Avr* dari patogen dan produk gen *R* dari tanaman. Gen *Avr* patogen menjadi protein elisitor yang berinteraksi secara fisik dengan

protein reseptor kinase (NBS-LRR) yang merupakan produk gen *R* dari tanaman (Hu *et al.* 2012). Protein reseptor kinase yang diaktifkan melalui interaksi ini selanjutnya dapat mengaktifkan protein-protein yang lainnya seperti faktor transkripsi melalui mekanisme fosforilasi. Faktor transkripsi yang sudah diketahui terlibat dalam mekanisme pertahanan tanaman terhadap penyakit, cekaman biotik, maupun abiotik lainnya yaitu *ethylene responsive factor* (ERF), *myelocytomatosis related proteins* (MYC), *myeloblastosis related proteins* (MYB), *basic leucine zipper containing domain proteins* (bZIP), dan *amino-acid sequence WRKYGQK* (WRKY) (Liu *et al.* 2014). WRKY merupakan salah satu gen faktor transkripsi yang dapat menginduksi ketahanan terhadap berbagai patogen penyebab penyakit tanaman seperti terhadap jamur (Li dan Luan 2014), bakteri (Hu *et al.* 2012) dan virus (Ando *et al.* 2014; Huh *et al.* 2012). Faktor transkripsi *CaWRKY* asal tanaman cabai dapat menginduksi ketahanan tanaman terhadap cekaman biotik dan abiotik seperti salinitas, kekeringan, pemanasan (*heat shock*) dan penyakit (*Phytophthora capsici*) (Tripathi *et al.* 2014; Diao *et al.* 2016). Gen *OsWRKY76* merupakan salah satu gen dari keluarga *OsWRKY* yang meningkatkan ketahanan tanaman padi terhadap cendawan *Pyricularia grisea* (Ryu *et al.* 2006). Gen ini terletak pada segmen kromosom 9 yang mempunyai ketahanan terhadap penyakit dengan spektrum luas (Wisser *et al.* 2005). Fragmen gen *OsWRKY76* telah diisolasi dari padi varietas Nipponbare, dan telah dikonstruksi pada vektor biner pCambia-1301::35S::*OsWRKY76* (Apriana *et al.* 2011).

Metode transfer gen dari tanaman satu ke tanaman lain telah banyak dilakukan antara lain menggunakan *Agrobacterium tumefaciens*. Meto-

de ini sangat sederhana dan murah karena pada prinsipnya gen yang akan dipindahkan disisipkan ke plasmid T-DNA *A. tumefaciens*, lalu diinokulasikan ke jaringan tanaman yang telah dilukai. Namun keberhasilan transformasi dengan *A. tumefaciens* tergantung pada jenis tanaman, strain *Agrobacterium*, vektor plasmid, medium transformasi dan suhu lingkungan (Opabode 2006; Kirenek et al. 2015). Protokol transformasi gen dengan metode ATMT (*Agrobacterium tumefaciens-mediated transformation*) belum banyak tersedia pada tanaman obat dan atsiri (Khan et al. 2015). Tanaman nilam merupakan tanaman aromatik yang dapat berfungsi sebagai antibakteri seperti terhadap *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Enterobacter aerogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* dan *Serratia marcescens* (Das et al. 2011). Keberadaan antibakteri ini pada tanaman nilam diduga akan mempengaruhi bakteri *A. tumefaciens* pada saat transformasi.

Penelitian ini bertujuan memperoleh metode transformasi terbaik untuk mengintroduksi gen *OsWRKY76* asal tanaman padi ke dalam tanaman nilam (varietas Sidikalang) melalui vektor *A. tumefaciens*, sehingga dapat dihasilkan tanaman nilam hasil transformasi yang mengandung gen *OsWRKY76* sebagai kandidat ketahanan terhadap penyakit.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan dan Penyakit Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (Balittro), Laboratorium Biologi Molekuler, Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian (BB-Biogen). Penelitian menggunakan tanaman nilam varietas Sidikalang, dengan keunggulan kadar *patchouli alcohol* dan produksi minyak tertinggi dibandingkan dengan dua varietas unggul lainnya (Lhokseumawe dan Tapaktuan). Oleh karena itu, varietas Sidikalang disukai oleh petani dan paling banyak dibudidayakan (Setiawan dan Sukanto 2016). Trans-

formasi genetik menggunakan plasmid rekombinan 35SCaMV-*OsWRKY76* dalam vektor biner pCambia-1301 yang diperoleh dari Laboratorium Biologi Molekuler, BB-Biogen. Selain membawa gen *OsWRKY76*, T-DNA pada vektor biner juga dilengkapi dengan gen marka seleksi higromisin (*hptII*) dan gen marka pelapor *gus*. Untuk seleksi bakteri, plasmid biner juga membawa gen ketahanan terhadap antibiotik kanamisin (*nptII*). *A. tumefaciens* yang digunakan adalah strain EHA 105 yang resisten terhadap antibiotik rifampisin. Penelitian dilakukan melalui dua kegiatan berkesinambungan, yaitu (1) transformasi gen *OsWRKY76* pada eksplan nilam dengan vektor *A. tumefaciens*, dan (2) deteksi gen *hptII* pada tanaman nilam transgenik dengan teknik PCR.

Transformasi nilam dengan gen *OsWRKY76* melalui vektor *Agrobacterium tumefaciens*

Bakteri *Agrobacterium* yang membawa konstruk pCambia-1301::35S::*OsWRKY76* dikulturkan dalam media YEP padat (*Yeast Extract Pepton*) yang mengandung 100 mg.l⁻¹ kanamisin dan 10 mg.l⁻¹ rifampisin. Kultur bakteri diinkubasi pada suhu 28°C selama 2 hari dengan pengoyangan. Kultur *Agrobacterium* yang telah tumbuh pada media padat selanjutnya dikulturkan dalam media AAM (media AA modified untuk infeksi *Agrobacterium*) (Hiei et al. 1994), tanpa antibiotik dan dikocok menggunakan *shaker* selama 1-2 jam. Induksi eksplan (pre-kultur) berupa potongan daun nilam dari varietas Sidikalang yang diambil dari ruas kedua dari atas (Paul et al. 2012) dilakukan selama 5 dan 7 hari dalam media MS (Murashige Skoog). Untuk proses infeksi, eksplan-eksplan dari pre-kultur (5 dan 7 hari) direndam dalam kultur cair *Agrobacterium* selama 10 dan 20 menit. Eksplan dan bakteri di ko-kultivasi dalam media IK3-AS (0,5 mg.l⁻¹ IAA dan 1 mg.l⁻¹ kinetin yang mengandung 10 mM asetosiringone) dan diinkubasi pada suhu 25°C selama 3 hari dalam gelap. Setelah ko-kultivasi, eksplan dicuci dengan 400 mg.l⁻¹ cefotaxime dan diseleksi pada media IK3-C250H25 (IK3 yang mengandung 250 mg.l⁻¹ cefotaxime dan 25 mg.l⁻¹ higromisin). Kalus yang

tahan terhadap antibiotik higromisin disubkultur ke dalam media regenerasi (MS + 0,5 mg.l⁻¹ IAA + 0,3 mg.l⁻¹ BAP dan 0,5% phytigel). Planlet yang diperoleh ditanam pada media dasar MS tanpa hormon. Setelah cukup besar dan berakar, plantlet diaklimatisasi pada media tanah di rumah kaca. Efisiensi transformasi dan efisiensi regenerasi dihitung berdasarkan rumus (Mulyaningsih *et al.* 2010):

$$\text{Efisiensi transformasi (\%)} = \frac{\text{Kalus tahan higromisin}}{\text{Kalus awal ditransformasi}} \times 100\%$$

$$\text{Efisiensi regenerasi (\%)} = \frac{\text{Kalus beregenerasi}}{\text{Kalus tahan higromisin}} \times 100\%$$

Analisis molekuler tanaman hasil transformasi

Analisis molekuler untuk mengonfirmasi keberadaan transgen *OsWRKY76* dilakukan melalui teknik PCR dengan menggunakan primer *hptII*. Isolasi DNA untuk analisis PCR dilakukan dari daun yang diambil dari tanaman nilam hasil aklimatisasi. DNA genom total nilam diisolasi dengan menggunakan metode CTAB (*Cetyltrimethylammonium bromida*) mengikuti Doyle dan Doyle (1990). Pelet DNA dilarutkan dengan 50 µl TE buffer. Sampel DNA nilam hasil isolasi siap diamplifikasi menggunakan PCR atau disimpan pada suhu -20°C.

Amplifikasi DNA dengan teknik PCR dilakukan pada total reaksi 20 µl yang terdiri atas 2,0 µl 10x PCR buffer (100 mM Tris-HCl, 500 mM KCl, pH 8,3); 1,2 µl-50 mM MgCl₂; 0,4 µl-10 mM dNTP mix; 1 µl-10 uM dari masing-masing primer *hpt* (F dan R) yaitu primer *Forward* : 5'-GATGCCTCCGCTCGAAGTAGCG-3' dan primer *Reverse*: 5'-GCATCTCCGCGGTGCAC-3', 1 unit Taq DNA polymerase (5 unit/µl), dan 2 µl DNA nilam sebagai cetakan. Reaksi amplifikasi dilakukan dengan mesin PCR (PCT 100) dengan program sebagai berikut: satu siklus tahap denaturasi awal pada suhu 94°C selama 3 menit, dilanjutkan dengan 35 siklus tahap denaturasi pada suhu 94°C selama 30 detik, penempelan primer pada suhu 60°C selama 30 detik, dan pemanjangan/sintesis DNA pada suhu 72°C selama 45 detik. Proses pemanjangan/sintesis DNA akhir pada suhu 72°C

selama 5 menit. Setelah program PCR selesai selanjutnya dilakukan elektroforesis hasil PCR.

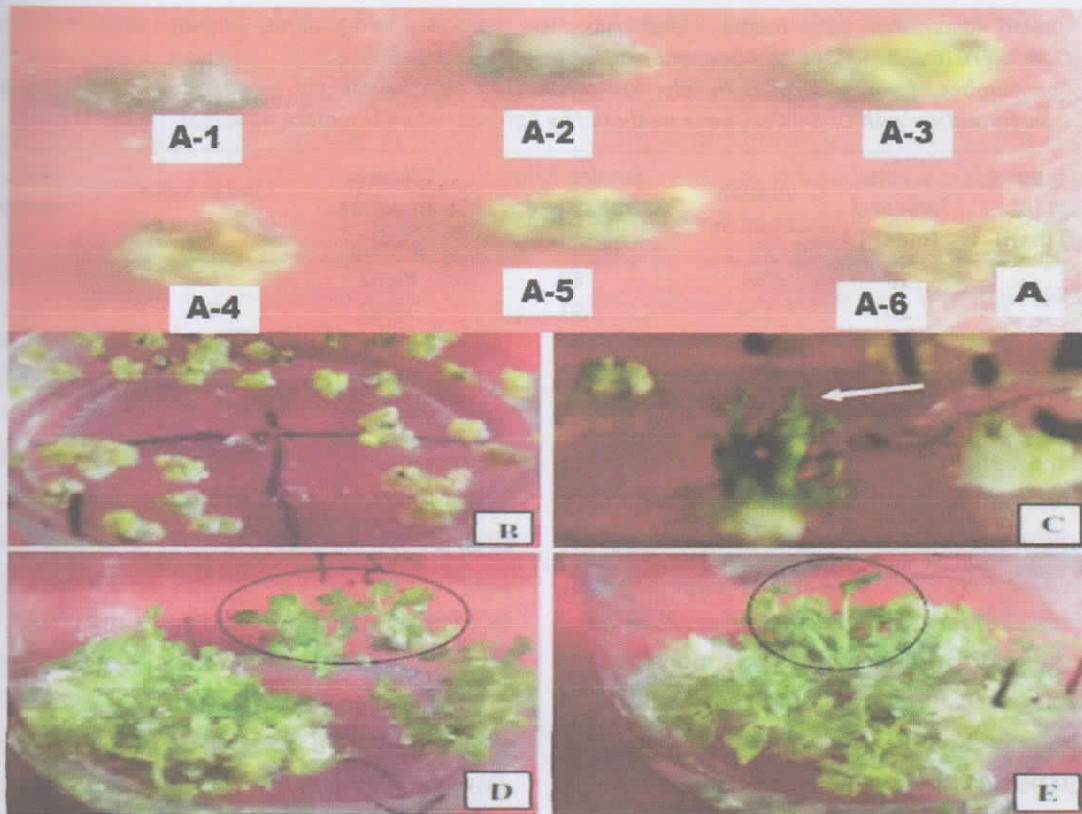
Sebanyak 10 µl produk PCR ditambahkan 1 µl *loading dye* dan dicampur sempurna, kemudian dimasukkan ke dalam sumur gel dan dilarikan dalam gel agarose 1% pada tegangan listrik 80 volt. Gel agarosa diwarnai dengan larutan etidium bromida (10 mg.l⁻¹) selama 10 menit, dan divisualisasi pada *UV Illuminator ChemiDoc EQ Biorad*. Analisis data hasil PCR dilakukan dengan melihat ada tidaknya pita DNA yang terbentuk pada ukuran sekitar 500 bp pada masing-masing sampel transforman yang diuji.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Transformasi nilam dengan gen *OsWRKY76* melalui *Agrobacterium tumefaciens*

Jumlah kalus yang dapat mencapai tahap regenerasi semakin menurun, setelah dilakukan transformasi. Kalus yang tidak tahan pada medium seleksi yang mengandung antibiotik higromisin akan mati, ditunjukkan dengan perubahan warna kalus dari putih pucat menjadi hitam (Gambar 1A1 dan 1A2). Kalus yang tahan pada medium seleksi terus tumbuh dicirikan dengan terjadinya pertumbuhan kalus yang berwarna putih kehijauan (Gambar 1A3, 1A4 dan 1A5). Kalus tahan diduga mengandung gen *OsWRKY76* yang ditransfer oleh *Agrobacterium*. Bagian T-DNA yang ditransfer dari plasmid rekombinan yang digunakan untuk transformasi selain mengandung *OsWRKY76* juga mengandung gen ketahanan terhadap higromisin. Proses transfer gen melalui vektor *Agrobacterium* akan memindahkan satu set gen yang berada pada daerah transfer DNA (T-DNA) dan mengintegrasikannya ke bagian genom tanaman (Lee dan Gelvin 2008).

Setelah pre-kultur selama 5 hari, dari total 93 eksplan yang ditransformasi, perendaman di dalam suspensi bakteri *A. tumefaciens* selama 10 menit menghasilkan 80 kalus yang tumbuh pada media seleksi higromisin. Kalus-kalus tahan tersebut kemudian diregenerasikan dan menghasilkan 63 kalus transforman independen. Vektor



Gambar 1. A. Eksplan yang telah ditransformasi pada media selektif higromisin 50 mg.l^{-1} (A1-A2, tidak tumbuh, A3-A6, tumbuh); B. Kalus di dalam media regenerasi; C. Kalus yang beregenerasi membentuk tunas; D dan E. Tunas-tunas nilam yang terbentuk pada media regenerasi.

Figure 1. A. Transformed explants in selective medium containing antibiotic hygromycin 50 mg.l^{-1} . (A1-A2, dead calli; A3-A6, survived calli); B. Calli in regeneration medium; C. Shoots from regenerated calli; D and E. Patchouli shoots transformed in regeneration medium.

pCAMBIA-1301 yang mengandung gen *OsWRKY76* yang digunakan dalam penelitian ini juga membawa gen ketahanan terhadap higromisin (gen *hptII*), maka dapat diduga bahwa kalus-kalus yang tahan pada media seleksi tersebut telah terinfeksi oleh *Agrobacterium*. Pada proses infeksi ini, T-DNA yang membawa gen *OsWRKY76* dan gen *hptII* dipindahkan dari sel bakteri *Agrobacterium* ke dalam sel tanaman nilam (Birch 1997). Induksi eksplan 5 hari dan inokulasi bakteri selama 10 menit, menunjukkan efisiensi transformasi 86,02%, dan efisiensi regenerasi 78,75% (Tabel 1).

Pre-kultur 5 hari yang diikuti dengan perendaman pada suspensi bakteri selama 20 menit menghasilkan 91 kalus yang terseleksi higromisin dari total 114 eksplan yang ditransformasi. Kalus kalus tahan kemudian beregenerasi dan meng-

hasilkan 60 kalus transforman independen, dengan efisiensi transformasi 79,82%, dan efisiensi regenerasi 65,93% (Tabel 1). Hasil ini menunjukkan bahwa dengan waktu pre-kultur yang sama (5 hari), inokulasi eksplan dengan suspensi *Agrobacterium* selama 10 menit lebih efisien dibandingkan dengan inokulasi 20 menit. Folta et al. (2006) melaporkan bahwa inokulasi yang terlalu lama akan mendorong bakteri mengkoloni eksplan. Pertumbuhan koloni yang berlebihan akan menyebabkan nekrosis yang pada akhirnya dapat menyebabkan kematian kalus, dan berpengaruh terhadap daya regenerasi.

Pre-kultur 7 hari yang diikuti dengan perendaman di dalam suspensi bakteri selama 10 menit, dari 100 eksplan menghasilkan 56 kalus transforman. Kalus-kalus tahan kemudian berege-

Tabel 1. Jumlah kalus tahan pada media seleksi higromisin dan kalus beregenerasi setelah transformasi dengan *OsWRKY76* melalui vektor *Agrobacterium tumefaciens*.

Table 1. The number of survived callus in selection media with hygromycin and regenerated callus after genetic transformation with *OsWRKY76* gene mediated by *Agrobacterium tumefaciens* vector.

Waktu induksi eksplant (pre-kultur) (hari)	Waktu inokulasi (menit)	Jumlah eksplan	Jumlah kalus tahan pada higromisin	Efisiensi transformasi (%)	Jumlah kalus beregenerasi	Efisiensi regenerasi (%)
5	10	93	80	86,02	63	78,75
	20	114	91	79,82	60	65,93
7	10	100	56	56,00	38	67,85
	20	47	23	48,94	23	100,00

nerasi dan menghasilkan 38 kalus transforman independen. Sementara itu, perlakuan pre-kultur 7 hari dengan perendaman di dalam suspensi bakteri selama 20 menit dari 47 eksplan menghasilkan 23 kalus terseleksi higromisin. Total 23 kalus tahan tersebut kemudian beregenerasi dan menghasilkan 23 kalus transforman independen (Tabel 1). Seperti pada pre-kultur 5 hari, pada pre-kultur 7 hari juga perendaman dengan suspensi bakteri (infeksi *Agrobacterium*) selama 10 menit lebih efisien (56%) dibandingkan dengan perendaman 20 menit (48,94%). Khan *et al.* (2015) melaporkan bahwa transformasi menggunakan plasmid pBI-121 yang mengandung gen ketahanan terhadap kanamisin (*nptII*) pada tanaman basil (*Ocimum gratissimum*), efisiensi transformasi terbaik terjadi pada waktu infeksi *Agrobacterium* 10-15 menit, dan terus menurun seiring lamanya perendaman (waktu infeksi). Hal yang sama dilaporkan Faisal *et al.* (2015) pada tanaman timun (varietas Shital), dimana efisiensi transformasi terbaik terjadi pada perlakuan infeksi *Agrobacterium* 5 menit.

Keberhasilan infeksi dan transfer gen antara lain ditentukan oleh strain *Agrobacterium*, lama inokulasi bakteri, masa inkubasi bakteri (*co-cultivation*), jenis eksplan, dan induksi eksplan (pre-kultur) (Hassanein *et al.* 2005). Pada eksplan tanaman tomat yang tidak diinduksi, transformasi gen terjadi hanya 0,45% sedangkan bila diinduksi selama 2 hari, efisiensi transformasi meningkat menjadi 6,32% (Rai *et al.* 2012). Eksplan yang diinduksi dapat mengaktifkan pembelahan sel sehingga dapat meningkatkan transformasi. Induksi

eksplan juga dapat meningkatkan persentasi regenerasi dan kekuatan sel sehingga mengurangi stres akibat inokulasi *Agrobacterium*. Kalus-kalus yang tumbuh pada media seleksi, dan dipindahkan ke media regenerasi (MS + 0,5 mg.l⁻¹ IAA + 0,3 mg.l⁻¹ BAP dan 0,5% phy-tagel) akan membentuk spot-spot hijau (Gambar 1B dan 1C). Tunas-tunas yang muncul dari spot-spot hijau kemudian ditumbuhkan pada media MS untuk menginduksi perakaran (Gambar 1D dan 1E). Planlet transgenik membentuk akar secara sempurna yang berwarna putih.

Analisis molekuler tanaman hasil transformasi

Dua puluh dua populasi planlet nilam hasil transformasi *OsWRKY76* (T1–T22) telah diaklimatisasi di rumah kaca, menunjukkan pertumbuhan yang normal. Tanaman T1–T22 tersebut kemudian diisolasi DNA genomiknya untuk dilakukan analisis molekuler dengan teknik PCR, untuk melihat keberhasilan integrasi gen *OsWRKY76* ke dalam genom tanaman nilam. Pada penelitian ini tidak digunakan primer spesifik untuk gen *WRKY*, karena gen tersebut secara alami juga terdapat pada tanaman nilam, sehingga untuk membedakan antara tanaman transgenik dan non transgenik harus digunakan primer spesifik untuk gen yang tidak terdapat dalam tanaman non transgenik. Gen yang ditransformasikan yaitu *hptII* dan gen *OsWRKY76* terdapat dalam satu konstruk T-DNA dari plasmid/vektor biner pCambia-1301.

Hasil analisis PCR menunjukkan bahwa dari 22 galur independen yang dianalisis, lima

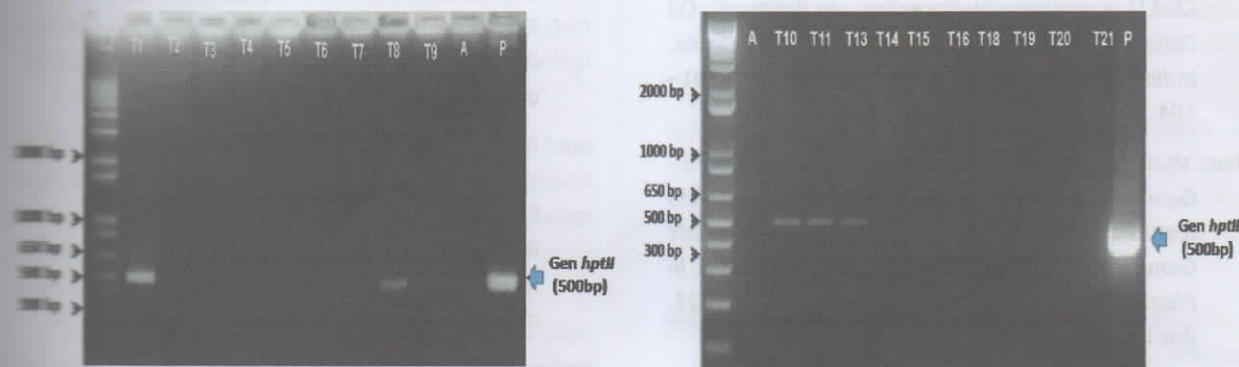
galur independen (T1, T8, T10, T11, dan T13) mengandung gen penanda seleksi higromisin (*hptII*) yang diindikasikan dengan terbentuknya amplicon berukuran 500 bp (Gambar 2). Hasil ini menunjukkan bahwa gen *WRKY76* yang diisolasi dari tanaman padi dapat diintegrasikan pada tanaman nilam dengan bantuan vektor *A. tumefaciens*. Penggunaan *A. tumefaciens* untuk transfer gen PaMMV coat protein (CP) pada tanaman nilam telah dilakukan, dan menghasilkan tanaman yang tahan terhadap virus yaitu *Patchouli mild mosaic virus* (Kadotani dan Ikegami 2002). Paul et al. (2012) dengan menggunakan *A. tumefaciens* dari strain yang sama dengan penelitian ini yaitu DHA 105, telah berhasil mentransfer vektor pCambia-2301 yang mengandung *neomycin phosphotransferase (nptII)* pada tanaman nilam. Namun demikian, rekayasa genetik dengan bantuan *A. tumefaciens* pada tanaman yang menghasilkan atsiri mungkin memerlukan protokol yang khusus karena beberapa komponen minyak atsiri yang bersifat antibakteri.

Syarat utama dalam perbaikan genetik tanaman melalui rekayasa genetik dengan memanfaatkan teknik *in vitro* adalah penguasaan protokol regenerasi. Protokol regenerasi *in vitro*

tanaman nilam sudah tersedia, selain itu secara konvensional nilam diperbanyak secara vegetatif dengan setek. Oleh karena itu, sekali diperoleh nilam transgenik dengan karakter yang diinginkan, maka tanaman transgenik tersebut tinggal diperbanyak secara vegetatif tanpa terjadi perubahan genetik. Namun demikian, jumlah *copy*, efisiensi dan stabilitas ekspresi gen target pada generasi vegetatif lebih lanjut tetap perlu dikaji, agar sifat yang diinginkan diwariskan dan diekspresikan secara optimal kepada keturunannya. Selain itu, aplikasi teknik ini masih dibatasi oleh proses pengkajian keamanan hayati yang memerlukan banyak waktu dan biaya tinggi, sehingga produk tanaman transgenik belum dapat secara langsung dimanfaatkan oleh petani atau pengguna lain.

KESIMPULAN

Transformasi gen pada tanaman nilam (varietas Sidikalang) dapat dilakukan dengan menggunakan vektor *Agrobacterium tumefaciens*. Efisiensi transformasi dapat dicapai dengan menginduksi eksplan (pre-kultur) di dalam medium MS selama 5 hari dan menginfeksi eksplan dengan perendaman di dalam suspensi *A. tumefaciens* selama 10 menit. Lima galur independen putatif



Gambar 2. Hasil analisis PCR dari nilam putatif transgenik dengan menggunakan primer untuk gen *hptII*. Amplicon berukuran 500 bp merupakan fragmen gen *hptII*. Keterangan : M=marker, T1-T22 =sampel tanaman transgenik, A= air, P=plasmid pCambia-1301-35S-OsWRKY76.

Figure 2. Result of PCR analysis of patchouli putative transgenic using *hptII* specific primer. The amplicon of 500 bp indicated the *hptII* gene fragment. Note: M=marker, T1-T22 =transgenic lines, A=water, P=plasmid of pCambia-1301-35S-OsWRKY76.

transgenik (T1, T8, T10, T11, T13) teramplifikasi dengan primer spesifik gen *hptII*, dan berpeluang menjadi kandidat varietas tahan terhadap penyakit utama pada tanaman nilam.

DAFTAR PUSTAKA

- Ando, S., Obinata, A. & Takahashi, H. (2014) WRKY70 Interacting with RCY1 Disease Resistance Protein is Required for Resistance to Cucumber Mosaic Virus in *Arabidopsis thaliana*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. 85, 8–14. doi:<https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2013.11.001>.
- Apriana, A., Sisharmini, A., Enggarini, W., Sudarsono, S., Khumaida, N. & Trijatmiko, K.R. (2011) Introduksi Konstruk Over-Ekspresi Kandidat gen OsWRKY76 melalui *Agrobacterium tumefaciens* pada Tanaman Padi Nipponbare. *Jurnal AgroBiogen*. 7 (1), 19–27.
- Birch, R.G. (1997) Plant Transformation: Problems and Strategies for Practical Application. *Annual Review of Plant Biology*. 48 (1), 297–326.
- Chakrapani, P., Venkatesh, K., Singh, B.C.S., Jyothi, B.A., Kumar, P., Amareshwari, P. & Roja, A.R. (2013) Phytochemical, Pharmacological Importance of Patchouli (*Pogostemon cablin* (Blanco) Benth) an Aromatic Medicinal Plant. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res*. 21 (2), 7–15.
- Das, K., Gupta, N., Vijayabhaskar, S. & Manjunath, U. (2011) Antimicrobial Potential on Patchouli Oil Cultivated under Acidic Soil Zone of South India. *Indian Journal of Novel Drug Delivery*. 3 (2), 101–104.
- Diao, W.-P., Snyder, J.C., Wang, S.-B., Liu, J.-B., Pan, B.-G., Guo, G.-J. & Wei, G. (2016) Genome-Wide Identification and Expression Analysis of WRKY Gene Family in *Capsicum annuum* L. *Frontiers in Plant Science*. 7, 1727. doi:10.3389/fpls.2016.00211.
- Djiwanti, S. & Wahyuno, D. (2012) Pengelolaan Penyakit-penyakit pada Tanaman Atsiri. In: *Bunga Rampai Inovasi Tanaman Atsiri Indonesia*. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. IAARD Press, pp.134–142.
- Djiwanti, S.R. & Momota, Y. (1991) Parasitic Nematodes Associated with Patchouli Disease in West Java. *Indust Crops Res J*. 3, 31–34.
- Doyle, J.J. & Doyle, J.L. (1990) Isolation of Plant DNA from Fresh Tissue. *Focus*. 12 (1), 13–15.
- Faisal, S.M., Haque, M.S. & Nasiruddin, K.M. (2015) *Agrobacterium*-mediated Genetic Transformation in Cucumber (var. Shital) as Influenced by Explant, Inoculation Time and Co-cultivation Period. *Universal Journal of Plant Science*. 3 (2), 25–31. doi:10.13189/ujps.2015.030203.
- Folta, K.M., Dhingra, A. & Lakshmanan, P. (2006) Transformation of Strawberry: The Basis for Translational Genomics in Rosaceae. *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant*. 42 (6), 482–490. Available from: doi:10.1079/IVP2006807.
- Hassanein, A., Chevreau, E. & Dorion, N. (2005) Highly Efficient Transformation of Zonal (*Pelargonium x hortorum*) and Scented (*P. capitatum*) Geraniums via *Agrobacterium tumefaciens* Using Leaf Discs. *Plant Science*. 169 (3), 532–541. doi:<https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2005.04.014>.
- Hiei, Y., Ohta, S., Komari, T. & Kumashiro, T. (1994) Efficient Transformation of Rice (*Oryza sativa* L.) Mediated by *Agrobacterium* and Sequence Analysis of the Boundaries of the T-DNA. *The Plant Journal*. 6 (2), 271–282. doi:10.1046/j.1365-3113.1994.6020271.x/pdf.
- Hu, Y., Dong, Q. & Yu, D. (2012) Arabidopsis WRKY46 Coordinates with WRKY70 and WRKY53 in Basal Resistance against Pathogen *Pseudomonas syringae*. *Plant Science*. 185–186, 288–297. doi:10.1016/j.plantsci.2011.12.003.
- Huh, S.U., Choi, L.M., Lee, G.-J., Kim, Y.J. & Paek, K.-H. (2012) *Capsicum annuum* WRKY Transcription Factor d (CaWRKYd) Regulates Hypersensitive Response and Defense Response upon Tobacco Mosaic Virus Infection. *Plant Science*. 197, 50–58. doi:<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2011.12.074>.
- Kadotani, N. & Ikegami, M. (2002) Production of Patchouli Mild Mosaic Virus Resistant Patchouli Plants by Genetic Engineering of Coat Protein Precursor Gene. *Pest Management Science*. 58 (11), 1137–1142. doi:10.1002/ps.581.
- Khan, S., Fahim, N., Singh, P. & Rahman, L.U. (2015) *Agrobacterium tumefaciens* Mediated Genetic Transformation of *Ocimum gratissimum*: A Medicinally Important Crop. *Industrial Crops and*

- Products. 71, 138–146. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.03.080>.
- Samaj, P., Samajova, O., Luptovciak, I., Daskocilova, A., Komis, G. & Samaj, J. (2015) Transient Plant Transformation Mediated by *Agrobacterium tumefaciens*: Principles, Methods and Applications. *Biotechnology Advances*. 33 (6), 1024–1042.
- Schell, J. & Gelvin, S.B. (2008) T-DNA Binary Vectors and Systems. *Plant Physiology*. 146, 325–332. doi:[10.1104/pp.107.113001](https://doi.org/10.1104/pp.107.113001).
- Shi, J. & Luan, Y. (2014) Molecular Cloning and Characterization of a Pathogen-Induced WRKY Transcription Factor Gene from Late Blight Resistant Tomato Varieties *Solanum pimpinellifolium* L3708. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. 87, 25–31. doi:<https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2014.05.004>.
- Shi, B., Hong, Y.-B., Zhang, Y.-F., Li, X.-H., Huang, L., Zhang, H.-J., Li, D.-Y. & Song, F.-M. (2014) Tomato WRKY Transcriptional Factor SIDRW1 is Required for Disease Resistance Against *Botrytis cinerea* and Tolerance to Oxidative Stress. *Plant Science*. 227, 145–156. doi:[10.1016/j.plantsci.2014.08.001](https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2014.08.001).
- Sukandjati, E.S., Aswidinnoor, H., Sopandie, D., Suwerkerk, P.B.F., Nugroho, S. & Loedin, I.H.S. (2010) Perbandingan Tiga Metode Transformasi *Agrobacterium* untuk Pencarian Gen-Gen Terkait Toleransi Kekeringan Menggunakan Transposon Ac/Ds pada Padi cv. Batutegi. *Jurnal Biologi Indonesia*. 6 (3), 367–381.
- Suman, Christanti, Arwiyanto, T. & Mariska, I. (2005) Pengendalian Penyakit Layu Bakteri Nilam menggunakan *Pseudomonad fluoresen*. *Jurnal Penelitian Tanaman Industri*. 11 (1), 19–24.
- Suherizka, R., Suastika, G., Hidayat, S.H. & Kartosuwondo, U. (2012) Potyvirus Associated with Mosaic Disease on Patchouli (*Pogostemon cablin* (Blanco) Benth.) Plants in Indonesia. *Journal of ISSAAS*. 18 (1), 131–146.
- Tabibode, J.T. (2006) *Agrobacterium*-Mediated Transformation of Plants: Emerging Factors that Influence Efficiency. *Biotechnology and Molecular Biology Reviews*. 1 (1), 12–20.
- Paul, A., Bakshi, S., Sahoo, D.P., Kalita, M.C. & Sahoo, L. (2012) *Agrobacterium*-Mediated Genetic Transformation of *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth. Using Leaf Explants: Bactericidal Effect of Leaf Extracts and Counteracting Strategies. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 166 (8), 1871–1895. doi:[10.1007/s12010-012-9612-0](https://doi.org/10.1007/s12010-012-9612-0).
- Rai, G.K., Rai, N.P., Kumar, S., Yadav, A., Rathaur, S. & Singh, M. (2012) Effects of Explant Age, Germination Medium, Pre-Culture Parameters, Inoculation Medium, pH, Washing Medium, and Selection Regime on *Agrobacterium*-Mediated Transformation of Tomato. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*. 48 (5), 565–578. doi:[10.1007/s11627-012-9442-3](https://doi.org/10.1007/s11627-012-9442-3).
- Ryu, H.-S., Han, M., Lee, S.-K., Cho, J.-I., Ryoo, N., Heu, S., Lee, Y.-H., Bhoo, S.H., Wang, G.-L. & Hahn, T.-R. (2006) A Comprehensive Expression Analysis of The WRKY Gene Superfamily in Rice Plants during Defense Response. *Plant Cell Reports*. 25 (8), 836–847.
- Setiawan & Sukanto (2016) Karakter Morfologis dan Fisiologis Tanaman Nilam di Bawah Naungan dan Tanpa Naungan. *Bul Littro*. 27 (2), 137–146. doi:<http://dx.doi.org/10.21082/bullittro.v27n2.2016.137-146>.
- Singh, M. & Rao, R.S.G. (2009) Influence of Sources and Doses of N and K on Herbage, Oil Yield and Nutrient Uptake of Patchouli [*Pogostemon cablin* (Blanco) Benth.] in Semi-Arid Tropics. *Industrial Crops and Products*. 29 (1), 229–234. doi:[10.1016/j.indcrop.2008.05.005](https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2008.05.005).
- Sukanto, Rahardjo, I. & Sulyo, Y. (2007) Detection of Potyvirus on Patchouli Plant (*Pogostemon cablin* Benth.) from Indonesia. In: *Proceeding International Seminar on Essential Oil*. Jakarta 7-9 November 2007, pp.72–77.
- Sukanto, Syakir, M. & Djazuli, M. (2014) Pengendalian Penyakit Budok pada Tanaman Nilam dengan Agensia Hayati dan Pembenh Tanah. In: Wahyudi, A. et al. (eds.) *Prosiding Seminar Nasional Pertanian Organik, Inovasi Teknologi Pertanian Organik*. Bogor 18-19 Juni 2014, IAARD Press, pp.321–328.

- Tripathi, P., Rabara, R.C. & Rushton, P.J. (2014) A Systems Biology Perspective on the Role of WRKY Transcription Factors in Drought Responses in Plants. *Planta*. 239 (2), 255–266. doi:10.1007/s00425-013-1985-y.
- Wahyuno, D. & Sukanto (2010) Ketahanan *Pogostemon cablin* dan *Pogostemon heyneanus* terhadap *Synchytrium pogostemonis*. *Jurnal Penelitian Tanaman Industri*. 16 (3), 91–97.
- Wisser, R.J., Sun, Q., Hulbert, S.H., Kresovich, S. & Nelson, R.J. (2005) Identification and Characterization of Regions of the Rice Genome Associated with Broad-Spectrum, Quantitative Disease Resistance. *Genetics*. 169, 2277–2293. doi:10.1534/genetics.104.036327.

KEEFEKTIFAN FORMULA NANOEMULSI MINYAK SERAI WANGI TERHADAP *POTYVIRUS* PENYEBAB PENYAKIT MOSAIK PADA TANAMAN NILAM

The efficacy of nanoemulsion formulation of citronella oil against potyvirus causing mosaic disease on patchouli

Rita Noveriza¹⁾, Maya Mariana¹⁾ dan Sri Yuliani²⁾

Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat¹⁾

Jalan Tentara Pelajar No. 3 Bogor 16111

Telp 0251-8321879 Faks 0251-8327010

rita.noveriza2000@gmail.com

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pasca Panen Pertanian²⁾

Jalan Tentara Pelajar No. 12 Bogor 16124

(diterima 07 Desember 2016, direvisi 27 Maret 2017, disetujui 22 April 2017)

ABSTRAK

Potyvirus dapat menurunkan produksi terna basah dan kering tanaman nilam mencapai masing-masing 35% dan 41%. Minyak atsiri serai wangi memiliki potensi sebagai antiftitoviral dan menekan perkembangan *Potyvirus* penyebab penyakit mosaik pada tanaman nilam. Kemampuan aktivitas antiftitoviral dari minyak atsiri dapat ditingkatkan dengan formulasi nanopartikel, seperti nanoemulsi. Penelitian ini bertujuan untuk menguji keefektifan formula nanoemulsi serai wangi terhadap *Potyvirus*. Nanoemulsi minyak serai wangi diproduksi secara difusi spontan atau inversi. Formula nanoemulsi minyak serai wangi dan bukan formula nano diuji untuk mengendalikan *Potyvirus* pada tanaman uji *Chenopodium amaranticolor* di rumah kaca dengan menggunakan rancangan acak lengkap. Parameter yang diamati adalah persentase penghambatan virus dan jumlah lesio. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ukuran droplet partikel formula nanoemulsi serai wangi berkisar antara 70-140 nm, sedangkan ukuran droplet partikel bahan aktif emulsi formula minyak serai wangi berkisar antara 1.740-5.262 nm. Formula serai wangi dan formula nanoemulsi serai wangi mampu menekan perkembangan *Potyvirus* penyebab penyakit mosaik pada nilam. Persentase penghambatan formula nanoemulsi mencapai 82,5% pada dosis 1-1,5%, lebih tinggi dibandingkan formula minyak serai wangi yaitu lebih kurang 64,92-77,72% pada dosis yang sama. Ini menunjukkan bahwa formula nano emulsi serai wangi berpotensi dan dapat digunakan untuk mengendalikan *Potyvirus* penyebab mosaik nilam.

Kata kunci: *Cymbopogon nardus*, antiftitoviral

ABSTRACT

Potyvirus can reduce the production of fresh and dry biomass of patchouli by 35% and 41%, respectively. The essential oils, such as citronella, have a potential as antiphytoviral and suppress the development of *Potyvirus* causing mosaic disease on patchouli. Antiphytoviral activities of essential oils can be improved by modifying them into nanoparticles and formulated as nanoemulsion. This study aimed to evaluate the effectiveness of citronella oil nanoemulsion against *Potyvirus*. The nanoemulsions of citronella oil were produced by spontaneous diffusion or inversion. The nanoemulsion formula and non-nano formula of citronella oil were tested to inhibit the development of *Potyvirus* on *Chenopodium amaranticolor* at the green house. The research was arranged in a complete randomized design. Parameter observed was the inhibition percentage and the number of the lesion. The results showed that the droplet sizes of the nanoemulsion ranged between 70-140 nm, while the droplet size of the non-nano formula of citronella oil was 1,740-5,262 nm. Both non-nano and nanoemulsion formula of citronella oil were able to suppress the development of *Potyvirus* on *C. amaranticolor*. Furthermore, the percentage inhibition at 1 to 1.5% dosage of nanoemulsion formula was higher (82.5%) than non-nano formula (64.92-77.72%). The study confirmed that the nanoemulsion formula of citronella oil was potential to control potyvirus causing mosaic disease on patchouli.

Key words: *Cymbopogon nardus*, antiphytoviral

PENDAHULUAN

Salah satu permasalahan dalam budidaya tanaman nilam adalah penyakit mosaik yang disebabkan oleh *Potyvirus*. Di Indonesia kerugian akibat penyakit ini cukup tinggi, terutama pada saat musim hujan. Penyakit mosaik pada tanaman nilam menyebabkan penurunan produksi terna basah, terna kering, kadar minyak dan *patchouli alcohol* berturut-turut mencapai 34,65%; 40,42%; 9,09%; dan 5,06% (Noveriza *et al.* 2012).

Salah satu pendekatan yang berpotensi untuk mengendalikan virus pada tanaman nilam adalah menggunakan metabolit sekunder. Tanaman memiliki kemampuan yang hampir tak terbatas untuk mensintesis zat aromatik, yang sebagian besar adalah fenol atau turunannya yang bersifat antivirus (Cowan 1999). Beberapa senyawa anti-virus yang berasal dari tanaman dan dapat menghambat replikasi *Tobacco Mosaic Virus* (TMV) antara lain *bitriazolyl* dan *tylophorine B* (Xia *et al.* 2006), dan beberapa senyawa turunan dari *phanantherene tylophorine* (Wang *et al.* 2010a), *thiadiazole acetamide* (Zhao *et al.* 2006), dan *cyanoaweylate* (Zhuo *et al.* 2008), serta *alkaloid phenanthroindolizidine rasemik* atau *alkaloid murni* (Wang *et al.* 2010b). Hasil penelitian Noveriza *et al.* (2016) menunjukkan bahwa minyak cengkeh dan serai wangi berpotensi menekan perkembangan virus mosaik pada tanaman nilam. Pada konsentrasi minyak cengkeh 1% dapat menurunkan jumlah lesio (bercak kecil) 45%, sedangkan aplikasi campuran minyak cengkeh dengan serai wangi menurunkan jumlah lesio sebesar 32%. Mariana dan Noveriza (2013) juga melaporkan aplikasi minyak serai wangi 1,2% dapat menghambat perkembangan virus mosaik nilam sebesar 89,78%. Kelemahan utama dari pestisida nabati yang mengandung minyak atsiri adalah mudah menguap dan tidak stabil. Oleh karena itu, bahan aktif minyak atsiri perlu diformulasikan dalam bentuk yang lebih stabil, seperti partikel nano.

Teknologi nano dapat memperkecil partikel hingga berukuran nano (10^{-9} m) dan diharapkan dapat meningkatkan efisiensi dan efektivitas bahan aktif minyak atsiri. Selanjutnya, dengan sentuhan enkapsulasi, bahan aktif tidak mudah menguap dan lebih stabil. Nanopestisida terdiri atas partikel kecil dari bahan aktif pestisida atau struktur kecil dari bahan aktif yang berfungsi sebagai pestisida (Bergeson 2016). Nanoemulsi dan nanoenkapsulasi adalah salah satu teknik nanopestisida yang sudah banyak digunakan dan efektif untuk pengendalian penyakit tanaman (Bergeson 2016; Bouwmeester *et al.* 2009).

Nanoemulsi adalah sistem emulsi yang *transparent*, tembus cahaya dan merupakan dispersi minyak air yang distabilkan oleh lapisan film dari surfaktan atau molekul surfaktan, yang memiliki ukuran droplet berkisar 50–500 nm (Shakeel *et al.* 2008). Ukuran droplet nanoemulsi yang kecil membuat nanoemulsi stabil secara kinetik sehingga mencegah terjadinya sedimentasi dan kriming selama penyimpanan (Solans *et al.* 2005). Selain itu, nanoemulsi dengan sistem emulsi minyak dalam air (*oil in water* atau *o/w*) merupakan salah satu alternatif untuk meningkatkan kelarutan dan stabilitas komponen bioaktif yang terdapat dalam minyak (Yuliasari dan Hamdan 2012).

Nanoemulsi minyak mimba memiliki kemampuan sebagai larvasida terhadap *Culex quinquefasciatus*. Selain itu juga dapat mengendalikan penyakit yang ditularkan oleh vektor sehingga menjadi alternatif yang lebih baik jika dibandingkan pestisida lainnya (Anjali *et al.* 2012). Formulasi nanopartikel, saat ini sudah dipelajari secara ekstensif dan dapat meningkatkan kemampuan aktivitas mikrobial dari minyak atsiri (Pedro *et al.* 2013). Penelitian ini bertujuan untuk menguji keefektifan formula nanoemulsi minyak serai wangi terhadap *Potyvirus* nilam pada tanaman uji di rumah kaca.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Pascapanen, Balai Besar Penelitian Pascapanen dan laboratorium dan rumah kaca Proteksi Tanaman, Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (Bogor) pada Januari sampai Desember 2015. Bahan yang diperlukan meliputi bahan aktif (minyak serai wangi) dan emulsifier (Tween 20, 60 dan 80), serta bahan kimia lain untuk analisis.

Pembentukan formulasi nanopestisida berbahan aktif serai wangi

Pembuatan nanopestisida dilakukan melalui proses nanoemulsifikasi menggunakan energi rendah dengan mekanisme difusi spontan dan inversi fase. Pada mekanisme difusi spontan, nanoemulsi terbentuk melalui proses difusi fase terdispersi (campuran minyak dan emulsifier) ke dalam fase pendispersi (air) yang terjadi secara spontan akibat kedekatan polaritas antara kedua fase. Proses difusi ini meninggalkan droplet minyak berskala nano dalam fase air (*oil in water* atau o/w). Pada mekanisme fase inversi, pembentukan nanoemulsi terjadi melalui dua tahap, yaitu pembentukan emulsi *water in oil* (w/o) yang selanjutnya berbalik fase menjadi o/w. Emulsi w/o terbentuk ketika sejumlah air ditambahkan ke dalam fase campuran antara minyak dan emulsifier. Pada jumlah air tertentu, fase minyak dan emulsifier akan terdispersi ke dalam fase air membentuk o/w sehingga secara keseluruhan, emulsi akan terbentuk melalui mekanisme w/o/w.

Nanoemulsi dibentuk dengan penambahan emulsifier yang mengandung Tween 80. Emulsifier ditambahkan pada persentase 10-100% dari fase minyak (bahan aktif) yang digunakan. Fase pendispersi dibuat dari bufer fosfat untuk menjaga kestabilan pH emulsi sehingga destabilisasi emulsi akibat pengaruh pH dapat diabaikan. Nanoemulsi minyak serai wangi terbentuk melalui kedua mekanisme emulsifikasi pada persentase emulsifier Tween 80 yang berbeda. Pada mekanisme inversi fase, nanoemulsi minyak serai wangi mulai terbentuk pada persentase

emulsifier 40%, sedangkan pada mekanisme difusi spontan, nanoemulsi mulai terbentuk pada persentase emulsifier 50%. Pada persentase emulsifier yang rendah, emulsi tidak terbentuk. Pada peningkatan persentase emulsifier, secara berangsur pemisahan fase yang terjadi semakin menurun. Nanoemulsi yang diperoleh disimpan dalam botol gelas untuk digunakan lebih lanjut.

Perbanyakan sumber inokulum dan perbanyakan tanaman uji

Isolat murni *Potyvirus* berasal dari tanaman nilam di Bogor. Virus ini diperbanyak pada tanaman nilam. Tanaman uji yang digunakan adalah *Chenopodium amaranticolor*.

Aktivitas formula nanoemulsi serai wangi dan minyak serai wangi sebagai antifitoviral

Formula yang digunakan adalah formula yang berbahan aktif minyak serai wangi, diperoleh dengan menggunakan teknologi nano dan bukan nano. Formula sesuai dosis perlakuan disemprotkan ke permukaan daun tanaman uji dan dibiarkan selama 24 jam, kemudian diolesi sap *Potyvirus* (1:1 v/v). Penelitian ini disusun dalam 4 seri perlakuan dan setiap seri perlakuan terdiri atas formula hasil teknologi nano dan bukan nano sebagai pembanding. Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL).

Pengamatan dilakukan saat munculnya gejala penyakit dengan menghitung jumlah lesio lokal pada tanaman uji. Jumlah lesio dihitung setiap hari sampai tidak dapat diamati karena gejala sudah menyatu. Persentase penghambatan masing-masing perlakuan dihitung dan dibandingkan dengan tanaman kontrol. Persentase penghambatan dihitung menggunakan rumus Dunkic et al. (2010):

$$IP = \frac{CK - A}{CK} \times 100\%$$

Keterangan/Note:

- IP = Persentase penghambatan (Percentage of inhibition).
- CK = Rata-rata lesio kontrol (Average lesio control).
- A = Rata-rata lesio perlakuan (Average lesio treatment).

Deteksi virus dengan metode serologi

Deteksi *Potyvirus* pada sampel daun dari tanaman *C. amaranticolor* dilakukan dengan metode Serologi *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA), mengacu pada protokol yang dibuat oleh produsen pembuat antiserum (Agdia-USA). Pengujian ELISA dilakukan dengan mengukur nilai absorbansinya menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang 405 nm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

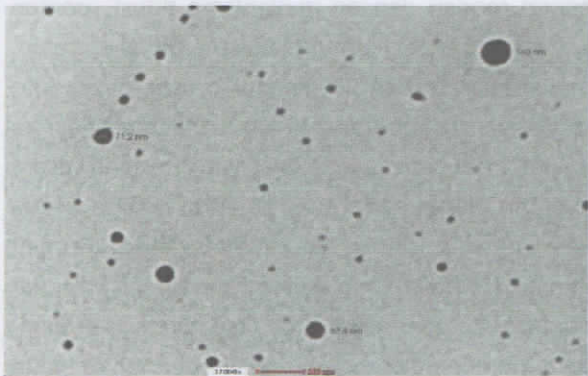
Hasil analisis kimia dari minyak serai wangi yang digunakan dapat dilihat pada Tabel 1. Minyak serai wangi mempunyai kandungan geraniol 81,67% dan sitronelal 13,95%. Beberapa hasil penelitian telah melaporkan bahwa kedua bahan aktif tersebut berfungsi sebagai antimikroba. Walaupun demikian, kemungkinan ada bahan aktif lainnya yang ada dalam minyak serai wangi yang bersifat sebagai antiviral. Metabolit sekunder dari *Cymbopogon nardus* (serai wangi) telah dilaporkan juga bersifat sebagai antibakteri dan anti-jamur (Williamson 2007). Entigu *et al.* (2013), telah berhasil mengisolasi fraksi metanolik dari minyak serai wangi yaitu *octadecanoid acid-methyl ester* dan terbukti bersifat sebagai antiviral. Aini *et al.* (2006) melaporkan bahwa fraksi dan subfraksi dari *C. nardus* dapat menghambat perkembangan virus pada fase replikasi virus.

Formulasi nanoemulsi berbahan aktif serai wangi

Nanoemulsi yang diperoleh dari formulasi dengan emulsifier 40 dan 50% digunakan untuk

percobaan efikasi pestisida. Selain berdasarkan ukuran droplet, pemilihan formula ini juga didasarkan pada penggunaan emulsifier yang minimal karena penambahan emulsifier yang terlalu tinggi dapat mempengaruhi efikasi pestisida dimana emulsifier dapat juga memiliki efek pestisida.

Nanoemulsi minyak serai wangi terpilih yang digunakan untuk ujicoba aktivitasnya sebagai antifitoviral, adalah emulsi yang stabil tanpa ada pemisahan fase. Pada Gambar 1, dapat dilihat ukuran droplet partikel nano emulsi berbahan aktif serai wangi berkisar antara 70-140 nm dengan rata-rata ukuran droplet 115,3 nm (Yuliani dan Noveriza 2016).



Gambar 1. Ukuran droplet partikel nanoemulsi berbahan aktif serai wangi berkisar antara 70-140 nm dengan rata-rata 115,3 nm (Yuliani dan Noveriza 2016).

Figure 1. The particle droplet size of nanoemulsion of citronella oil ranged from 70-140 nm with an average of 115.3 nm (Yuliani and Noveriza 2016).

Hasil pengukuran kadar sitronelal dan geraniol dari formula nanoemulsi berbahan aktif

Tabel 1. Karakteristik kimia minyak serai wangi.

Table 1. The chemical characteristics of citronella oil.

Jenis Minyak	Kriteria	Hasil	Metode
Minyak serai wangi	Warna	Kuning	Visual
	Berat Jenis (25°C)	0,8857	Gravitmetri
	Indek Bias (25°C)	1,4713	Refraktometri
	Putaran Optik	-5,23°	Polarimetri
	Kelarutan dalam alkohol 70%	1:2 (larut)	Volumetri
	Total Geraniol (%)	81,67	Titrasi
	Sitronela (%GC)	13,95	GC

serai wangi yang telah dihasilkan yaitu formula F1-F13 dapat dilihat pada Tabel 2, kadarnya tidak berbeda dengan minyak serai wangi asalnya.

Aktivitas antitovitoviral formula nanoemulsi terhadap potyvirus

Hasil pengujian aktivitas formula nanoemulsi berbahan aktif minyak serai wangi F1 (formula 1) dan dibandingkan dengan formula minyak serai wangi (bukan nano) terhadap perkembangan virus mosaik asal nilam dapat dilihat pada Tabel 3. Jumlah lesio virus paling rendah pada perlakuan formula nanoemulsi F1 pada konsentrasi 1,2% (11,67 lesio) tidak jauh

berbeda dengan perlakuan Tween 80 dosis 1%, tetapi cenderung lebih rendah apabila dibandingkan dengan formula serai wangi bukan nano (16,73 lesio). Hal ini menunjukkan bahwa formula nanoemulsi memberikan peranan yang lebih baik dalam menekan perkembangan virus mosaik nilam jika dibandingkan dengan formula minyak serai wangi bukan nano. Lokal lesio virus mosaik pada daun tanaman *C. amaranticolor* untuk masing-masing perlakuan dapat dilihat pada Gambar 2.

Persentase penghambatan perkembangan virus mosaik nilam dengan formula nano lebih besar jika dibandingkan dengan formula bukan

Tabel 2. Analisis kadar sitronelal (%) dan geraniol (%) formula nanoemulsi berbahan minyak serai wangi 10%.

Table 2. The analysis of citronellal (%) and geraniol (%) content of nanoemulsion from 10% citronella oil.

No	Kode formula	Metode formulasi	Kadar sitronelal (%)	Kadar geraniol (%)
1	F1	Inversi S8 T80 2	1,33	8,67
2	F2	Inversi T80 2.5B	1,24	8,82
3	F3	Spontan T80 2.5B	1,27	8,71
4	F4	Simultan 50% emulsifier	1,29	8,73
5	F5	Inversi 50% emulsifier	1,30	8,70
6	F6	Spontan S5T3B42	1,22	8,66
7	F7	Inversi S5T3B42	1,27	8,75
8	F8	Spontan S5T3.5B41.5	1,24	8,73
9	F9	Inversi S5T3.5B41.5	1,27	8,78
10	F10	Spontan S5T4B41	1,26	8,97
11	F11	Inversi S5T4B41	1,28	8,89
12	F12	Spontan S5T4.5B40.5	1,30	8,85
13	F13	Inversi S5T4.5B40.5	1,25	8,79

Tabel 3. Persentase penghambatan virus mosaik nilam dan jumlah lesio akibat penambahan formula nanoemulsi serai wangi pertama serta hasil ELISA virus mosaik.

Table 3. The inhibition percentage of patchouli mosaic virus and lesion number after the first application of citronella nanoemulsion formula and the result of ELISA detection of mosaic virus.

Perlakuan/Konsentrasi formula	Jumlah lesio	Persentase penghambatan	Potyvirus	
			Nilai absorban	Hasil
Kontrol	17,33		0,679	positif
Tw80 1%	9,58	44,71	0,503	positif
MS 0,7%	18,33	-5,71	0,582	positif
MS 1%	17,74	-2,33	0,387	positif
MS 1,2%	16,73	3,47	0,339	positif
F1 0,7%	18,93	-9,23	0,445	positif
F1 1%	20,33	-17,32	0,346	positif
F1 1,2%	11,67	32,69	0,326	positif

Keterangan: Tw80 = Tween 80 (emulsifier), MS = formula serai wangi bukan nano, F1 = formula nanoemulsi serai wangi.

Note: Tw80 = Tween 80 (emulsifier), MS = non-nano formula of citronella oil, F1 = citronella oil nanoemulsion formula.

1210. Untuk formula nanoemulsi serai wangi F1 lebih efektif pada dosis 1,2%, jika dibandingkan dengan dosis 0,7% dan 1%. Deteksi virus dengan metode ELISA menunjukkan bahwa semua per-

lakuan terbukti terinfeksi oleh *Potyvirus* (Tabel 3).

Hasil pengujian aktivitas formula nanoemulsi serai wangi F4 dan F5 pada tiga level konsentrasi menunjukkan bahwa formula F4 dan F5



Gambar 2. Lesio lokal pada daun tanaman uji *Chenopodium amaranticolor* (a). kontrol, (b) tween 1%, (c) MS 0,7%, (d) MS 1%, (e) MS 1,2%, (f) MSN 0,7%, (g) MSN 1%, (h) MSN 1,2%. Keterangan: MS = formula minyak serai wangi. MSN = formula nanoemulsi minyak serai wangi (F1). Jumlah lesio= jumlah partikel virus.
Figure 2. Local lesions on the leaves of *Chenopodium amaranticolor* (a) control, (b) tween 1%, (c) MS 0.7%, (d) MS 1%, (e) MS 1.2%, (f) MSN 0.7%, (g) MSN 1%, (h) MSN 1.2%. Note: MS = non-nano formula of citronella oil. MSN = citronella oil nanoemulsion formula (F1). Number of lesio= Number of virus particles.

Tabel 4. Persentase penghambatan virus mosaik nilam dan jumlah lesio akibat penambahan formula nanoemulsi serai wangi kedua serta hasil ELISA virus mosaik.

Table 4. The percentage inhibition of patchouli mosaic virus and lesion number after the second application of citronella nanoemulsion formula and the result of ELISA detection of mosaic virus.

Perlakuan/Konsentrasi Formula		Jumlah lesio	Persentase penghambatan	Potyvirus	
				Nilai absorban	Hasil
Kontrol		16,53		0,349	positif
Tw80	0,1%	12,52	24,29	0,352	positif
Tw80	0,5%	8,52	48,49	0,562	positif
F4	0,7%	9,75	41,03	0,294	positif
F4	1%	5,58	66,23	0,466	positif
F4	1,2%	21,60	0,0	1,035	positif
F5	0,7%	6,83	58,67	0,570	positif
F5	1%	5,17	68,75	0,941	positif
F5	1,2%	10,10	38,91	0,512	positif
FS50	0,7%	11,43	30,85	1,265	positif
FS50	1%	13,85	16,23	0,613	positif
FS 50	1,2%	16,37	1,01	0,917	positif

Keterangan: Tw80 = Tween 80 (elmusifier), F4= formula nanoemulsi serai wangi (spontan SST2.5B42.5) ke 4, F5 = formula nanoemulsi serai wangi (inversi SST2.5B42.5), FS50 = formula serai wangi berbahan aktif 50%.
Note : Tw80 = Tween 80 (elmusifier), F4= the fourth citronella nanoemulsion formula (spontaneous SST2.5B42.5), F5 = the fifth citronella nanoemulsion formula (inversion SST2.5B42.5), FS50 = 50% citronella oil formula

pada konsentrasi 1% dapat menghambat perkembangan *Potyvirus* lebih dari 50% (Tabel 4). Kedua formula ini juga lebih baik jika dibandingkan dengan formula serai wangi yang bukan nano.

Formula nanoemulsi selanjutnya diuji dengan satu level konsentrasi yaitu 1% (Tabel 5). Formula yang diuji adalah F8-F13 dan dibandingkan dengan formula yang berbahan aktif minyak serai saja (FS50). Formula yang menunjukkan persentase penghambatan di atas 50% dan paling tinggi adalah F12 dan FS50 (77,92% dan 60,65%). Hal ini menunjukkan bahwa minyak serai wangi mempunyai bahan aktif yang bersifat antitoviral.

Dari tiga serial pengujian aktivitas formula minyak dan nanoemulsi serai wangi pada tanaman uji *C. amaranthicolor* di rumah kaca (Tabel 4, 5 dan 6) menunjukkan dosis 1-1,5% dapat menekan jumlah lesio *Potyvirus* diatas 60%. Konsentrasi tersebut efektif menekan perkembangan *Potyvirus* pada tanaman uji. Untuk selanjutnya, kisaran konsentrasi tersebut yang digunakan untuk

aplikasi formula minyak dan nanoemulsi serai wangi untuk mengendalikan penyakit mosaik pada tanaman nilam di lapangan.

Nanoemulsi serai wangi menghambat perkembangan *Potyvirus* lebih tinggi dibandingkan formula serai wangi (yang bukan nano). Pada dosis 1%, formula nanoemulsi serai wangi F4, F5, F6, F8 dan F12 dapat menghambat perkembangan *Potyvirus* berturut turut sebesar 66,23%, 68,75%; 65,88%; 82,47% dan 77,92%, sedangkan formula minyak serai wangi FS50 (bukan nano) pada dosis yang sama persentase daya hambatnya hanya sebesar 60,65%. Pada dosis 1,5%, formula F8 dapat menekan jumlah lesio *Potyvirus* sebesar 77,72%, sedangkan formula minyak serai wangi (bukan nano) FS20 dan FS50 berturut-turut sebesar 64,92% dan 65,41%. Hal ini mungkin disebabkan ukuran droplet dari bahan aktif serai wangi pada formula nanoemulsi lebih kecil dari formula minyak serai wangi bukan nano, sehingga bahan aktif serai wangi dapat masuk kedalam jaringan tanaman dan langsung mencapai target

Tabel 5. Persentase penghambatan virus mosaik nilam dan jumlah lesio setelah penambahan formula nano emulsi serai wangi ketiga serta hasil ELISA virus mosaik.

Table 5. The inhibition percentage of patchouli mosaic virus and lesion number after the third application of citronella nanoemulsion formula and the result of ELISA detection of mosaic virus.

Perlakuan/Konsentrasi Formula	Jumlah lesio	Persentase penghambatan	Potyvirus	
			Nilai absorbansi	Hasil
Kontrol	7,7		0,496	positif
Tw80 0,5%	4,0	47,66	0,617	positif
F8 1%	3,0	60,65	0,601	positif
F9 1%	5,3	30,39	0,264	positif
F10 1%	15,3	0	0,521	positif
F11 1%	5,3	30,39	0,536	positif
F12 1%	5,7	25,97	0,770	positif
F13 1%	1,7	77,92	0,665	positif
FS50 1%	6,7	12,99	0,783	Positif

Keterangan: Tw80 = Tween 80 (elmusifier), F8= formula nanoemulsi serai wangi (spontan S5T3.5B41.5) ke 8, F9 = formula nanoemulsi serai wangi (inversi S5T3.5B41.5) ke 9, F10 = formula nanoemulsi serai wangi (spontan S5T4B41) ke 10, F11 = formula nanoemulsi serai wangi (inversi S5T4B41) ke 11, F12 = formula nanoemulsi serai wangi (spontan S5T4.5B40.5) ke 12, F13 = formula nanoemulsi serai wangi (inversi S5T4.5B40.5) ke 13, FS50 = formula berbahan aktif serai wangi 50%.

Keterangan: Tw80 = Tween 80 (elmusifier), F8= the eighth citronella oil nanoemulsion formula (spontaneous S5T3.5B41.5), F9 = the ninth citronella oil nanoemulsion formula (inversion S5T3.5B41.5), F10 = the tenth citronella oil nanoemulsion formula (spontaneous S5T4B41), F11 = the eleventh citronella oil nanoemulsion formula (inversion S5T4B41), F12 = the twelfth citronella oil nanoemulsion formula (spontaneous S5T4.5B40.5), F13 = the thirteenth citronella oil nanoemulsion formula (inversion S5T4.5B40.5), FS50 = 50% citronella oil formula.

Tabel 6. Persentase penghambatan virus mosaik nilam dan jumlah lesio setelah penambahan formula nano emulsi serai wangi keempat serta hasil ELISA virus mosaik.

Table 6. The percentage inhibition of patchouli mosaic virus and lesion number after the fourth application of citronella nanoemulsion formula and the result of ELISA detection of mosaic virus.

Perlakuan/Konsentrasi formula		Jumlah lesio	Persentase penghambatan	Potyvirus	
				Nilai absorbansi	Hasil
Kontrol		70,33		0,723	positif
Tw80	0,1%	42,00	40,28	0,572	positif
FS20	1%	45,67	35,06	0,780	positif
FS20	1,5%	24,67	64,92	0,584	positif
FS50	1%	20,67	70,61	0,566	positif
FS50	1,5%	24,33	65,41	0,724	positif
F6	1%	24,00	65,88	0,582	positif
F6	1,5%	29,00	58,77	0,489	positif
F8	1%	12,33	82,47	0,487	positif
F8	1,5%	15,67	77,72	0,102	negatif
F10	1%	80,00	0	0,682	positif
F10	1,5%	67,00	4,73	0,400	positif
F12	1%	42,33	39,81	0,568	positif
F12	1,5%	33,00	53,08	0,533	positif

Keterangan: Tw80 = Tween 80 (elmsifier), F6 = formula nanoemulsi serai wangi (spontan S5T3B42) ke 6, F8= formula nanoemulsi serai wangi (spontan S5T3.5B41.5) ke 8, F10 = formula nanoemulsi serai wangi (spontan S5T4B41) ke 10, F12 = formula nanoemulsi serai wangi (spontan S5T4.5B40.5) ke 12, FS20 = formula berbahan aktif serai wangi 20%, FS50 = formula berbahan aktif serai wangi 50%.

Note : Tw80 = Tween 80 (elmsifier), F6= the sixth citronella oil nanoemulsion formula (spontaneous S5T3B42), F8= the eighth citronella oil nanoemulsion formula (spontaneous S5T3.5B41.5), F10 = the tenth citronella oil nanoemulsion formula (spontaneous S5T4B41), F11 = the eleventh citronella oil nanoemulsion formula (inversion S5T4B41) ke 11, F12 = the twelfth citronella oil nanoemulsion formula (spontaneous S5T4.5B40.5), FS20 = 20% citronella oil formula, FS50 = 50% citronella oil formula.

partikel virus. Menurut Yuliani dan Noveriza (2016), ukuran droplet minyak serai wangi pada formula nanoemulsi berkisar antara 70-140 nm (rata-rata 114,5 nm), sedangkan pada formula minyak serai wangi (bukan nano) berkisar antara 1.740-5.262 nm (ukurannya besar dan sangat heterogen). Nanopartikel dapat mencapai partikel virus/ target karena ukurannya yang ultra kecil dan hal ini dapat membuka bidang baru dalam cara mengendalikan virus pada tanaman (Khan dan Rizvi 2014).

Nanopartikel pestisida berpotensi digunakan dalam perlindungan tanaman, terutama dalam pengelolaan penyakit tanaman. Nanopartikel dapat bertindak terhadap patogen tanaman dalam cara yang mirip dengan pestisida kimia. Banyak perusahaan membuat formulasi yang mengandung nanopartikel dalam berbagai ukuran 100-250 nm yang dapat larut dalam air sehingga lebih efektif dari

pestisida yang sudah ada untuk menekan patogen sasaran.

KESIMPULAN

Formula minyak serai wangi dan nano-emulsinya mampu menekan perkembangan *Potyvirus* penyebab penyakit mosaik pada nilam. Persentase penghambatan terbesar mencapai 82,5% pada dosis aplikasi 1-1,5% pada tanaman uji *C. amaranticolor*. Persentase penghambatan virus dengan formula nanoemulsi lebih tinggi dibandingkan formula minyaknya (bukan nano). Ini menunjukkan bahwa formula nanoemulsi serai wangi berpotensi untuk mengendalikan virus mosaik nilam di lapangan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada Siti Nuryanih, Sugianto, dan Asep, teknisi

Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat, yang telah membantu pelaksanaan penelitian. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Proyek SMARTD Badan Litbang Pertanian, Kementerian Pertanian atas dukungan biaya penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Aini, M.N.N., Said, M.I., Nazlina, I., Hanina, M.N. & Ahmad, I. (2006) Screening for Antiviral Activity of Sweet Lemon Grass (*Cymbopogon nardus* (L.) Rendle) Fractions. *Journal of Biological Sciences*. 6 (3), 507–510.
- Ansari, C., Sharma, Y., Mukherjee, A. & Chandrasekaran, N. (2012) Neem Oil (*Azadirachta indica*) Nanoemulsion-A Potent Larvicidal Agent Against *Culex Quinquefasciatus*. *Pest Management Science*. 68 (2), 158–163.
- Bergeson, L.L. (2016) Nanosilver: US EPA's Pesticide Office Considers How Best to Proceed. *Environmental Quality Management*. 19, 79–85.
- Bouwmeester, H., Dekkers, S., Noordam, M.Y., Hagens, W.I., Bulder, A.S., de Heer, C., ten Voorde, S.E.C.G., Wijnhoven, S.W.P., Marvin, H.J.P. & Sips, A.J.A.M. (2009) Review of Health Safety Aspects of Nanotechnologies in Food Production. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 53 (1) 52–62.
- Cowan, M.M. (1999) Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Review*. 12 (4), 564–582.
- Dunkic, V., Bezic, N., Vuko, E. & Cukrov, D. (2010) Antiphytoviral Activity of *Satureja montana* L. ssp. *variegata* (Host) P. W. Ball Essential Oil and Phenol Compounds on CMV and TMV. *Molecules*. 15 (10), 6713–6721.
- Entigu, R., Lihan, S. & Ahmad, I. bin (2013) Isolation of Antiviral Compound from *Cymbopogon nardus* Methanolic Fractions. *International Journal of Health and Pharmaceutical Sciences*. 2 (2), 1–7.
- Khan, M.R. & Rizvi, T.F. (2014) Nanotechnology: Scope and Application in Plant Disease Management. *Plant Pathology Journal*. 13 (3), 214–231.
- Mariana, M. & Noveriza, R. (2013) Potensi Minyak Atsiri untuk Mengendalikan Potyvirus pada Tanaman Nilam. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*. 9 (2), 53–58.
- Noveriza, R., Mardiningsih, T. Iestari, Miftakhurohmah & Mariana, M. (2016) Antiviral Effect of Clove Oil Combined with Citronella Oil to Control Mosaic Disease and its Vector on Patchouli Plant. In: Djiwanti, S.R. et al. (eds.) *Innovation on Biotic and Abiotic Stress Management to Maintain Productivity of Spice Crops in Indonesia*. IAARD Press, pp. 91–96.
- Noveriza, R., Suastika, G., Hidayat, S.H. & Kartosuwondo, U. (2012) Pengaruh Infeksi Virus Mosaik terhadap Produksi dan Kadar Minyak Tiga Varietas Nilam. *Bul Littro*. 23 (1), 93–101.
- Pedro, A.S., Santo, E., Silva, C. V, Detoni, C. & Albuquerque, E. (2013) The Use of Nanotechnology as An Approach for Essential Oil-Based Formulations with Antimicrobial Activity. In: Mendez-Vilas, A. (ed.) *Microbial Pathogens and Strategies for Combating Them: Science, Technology and Education*. Formatex Research Center, pp. 1364–1374.
- Shakeel, F., Baboota, S., Ahuja, A., Ali, J., Faisal, M.S. & Shafiq, S. (2008) Stability Evaluation of Celecoxib Nanoemulsion Containing Tween 80. *Thai J. Pharm. Sci*. 32, 4–9.
- Solans, C., Izquierdo, P., Nolla, J., Azemar, N. & Garcia-celma, M.J. (2005) Nano-emulsion. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*. 10, 102–110.
- Wang, K., Hu, Y., Liu, Y., Mi, N., Fan, Z., Liu, Y. & Wang, Q. (2010a) Design, Synthesis, and Antiviral Evaluation of Phenanthrene-Based Tylophorine Derivatives as Potential Antiviral Agents. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 58 (23), 12337–12342.
- Wang, K., Su, B., Wang, Z., Wu, M., Li, Z., Hu, Y., Fan, Z., Mi, N. & Wang, Q. (2010b) Synthesis and Antiviral Activities of Phenanthroindolizidine Alkaloids and Their Derivatives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 58, 2703–2709.
- Williamson, E.M. (2007) The Medicinal Use of Essential Oils and Their Components for Treating Lice and Mite Infestations. *Natural Product Communications*. 2 (12), 1303–1310.
- Xia, Y., Fan, Z., Yao, J., Liao, Q., Li, W., Qu, F. & Peng, L. (2006) Discovery of Bitriazolyl Compounds as Novel Antiviral Candidates for Combating the Tobacco Mosaic Virus. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 16, 2693–2698.
- Yuliani, S. & Noveriza, R. (2016) Nano-Emulsification of

Citronella Oil Using Spontaneous Diffusion and Phase Inversion Techniques. In: Congress of Food Science and Technology.

Yuliasari, S. & Hamdan (2012) *Karakterisasi Nanoemulsi Minyak Sawit Merah yang Disiapkan dengan High Pressure Homogenizer. Dalam: Karmiadji, D.W. & et al. (eds.) Prosiding Insinas. Bandung, Asdep Relevansi Program Riptek, Deputy Bidang Relevansi dan Produktivitas Iptek, Kementerian Riset dan Teknologi.* pp.25–28.

Zhao, W.-G., Wang, J.-G., Li, Z.-M. & Yang, Z. (2006) *Synthesis and Antiviral Activity Against Tobacco Mosaic Virus and 3D-QSAR of A-Substituted-1,2,3-thiadiazoleacetamides. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters.* 16 (23), 6107–11.

Zhuo, C., Wang, X., Song, B., Wang, H., Bhadury, P.S., Yan, K., Zhang, H., Yang, S., Jin, L., Hu, D., Xue, W., Zeng, S. & Wang, J. (2008) *Synthesis and Antiviral Activities of Novel Chiral Cyanoacrylate Derivatives with (E) Configuration. Bioorganic & Medicinal Chemistry.* 16, 3076–3083.

CENDAWAN ENDOFIT AKAR LADA UNTUK MENINGKATKAN PERTUMBUHAN DAN MELEKATKAN BUSUK PANGKAL BATANG BENIH LADA

Fungal Endophytes of Pepper For Improving Growth and Suppressing Phytophthora capsici of pepper seedlings

Dono Wahyuno, Dini Florina dan Dyah Manohara

Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat
Jalan Tentara Pelajar No. 3 Bogor 16111
Telp 0251-8321879 Faks 0251-8327010
dwahyuno@yahoo.co.id

(diterima 06 Maret 2017, direvisi 06 April 2017, disetujui 12 Mei 2017)

ABSTRAK

Busuk pangkal batang (BPB) merupakan penyakit tular tanah yang disebabkan oleh *Phytophthora capsici*. Pemanfaatan agens hayati dianggap pendekatan yang efisien untuk penyakit BPB. Cendawan endofit mampu meningkatkan pertumbuhan dan ketahanan tanaman terhadap cekaman biotik dan abiotik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi cendawan endofit asal akar lada terhadap pertumbuhan dan kemampuannya menekan penyakit BPB pada benih lada. Cendawan endofit diperoleh dengan mengisolasi akar lada menggunakan medium akar kentang dekstrosa (AKD) yang diberi kloramfenikol dan *rose bengal*. Isolat cendawan yang diperoleh dikarakterisasi dengan melakukan pengamatan morfologi, uji tantang terhadap *P. capsici* dan uji patogenisitas pada daun lada. Cendawan endofit diinokulasikan pada akar benih lada dengan cara merendam perakaran lada umur 10 minggu ke dalam suspensi cendawan endofit, kemudian ditanam dalam tanah steril untuk diamati. Kandungan hormon IAA dan GA₃ di dalam akar diukur menggunakan TLC scanner satu bulan setelah diinokulasi. Inokulasi *P. capsici* dilakukan dengan menyiram 50 ml suspensi zoospora (10⁶ zoospora/ml) di perakaran lada yang sebelumnya telah diinokulasi cendawan endofit. Benih lada yang hidup diamati satu bulan setelah inokulasi. Hasil pengamatan menunjukkan enam isolat tidak berpengaruh nyata pada parameter jumlah daun, buku, dan jumlah tanaman yang mati. Benih lada yang telah diinokulasi cendawan endofit E-5, E-7 dan E-15 mempunyai bobot kering akar berturut-turut 0,83; 0,84 dan 0,81 g dan berbeda nyata dari perlakuan lainnya. Kandungan hormon IAA relatif tinggi dibanding kandungan GA₃ di dalam akar yang diinokulasi dengan ketiga isolat tersebut. Benih lada yang diinokulasi ketiga isolat tersebut lebih dari 80% yang hidup, pada satu bulan setelah diinokulasi *P. capsici*.

Kata kunci: *Piper nigrum*, *Phytophthora capsici*, IAA, GA₃

ABSTRACT

Root rot disease (FRD) is soil-borne disease caused by *Phytophthora capsici*. Biocontrol agent application is considered efficient controlling FRD. Endophytic fungi were reported enhancing plant vigor and resistance against biotic and abiotic stress. The study aimed to assess endophytic fungi ability on promoting growth and reducing FRD incidence of pepper seedling. Endophytic fungi were isolated from root of healthy pepper using PDA medium supplemented by chloramphenicol and *rose bengal*. The isolates were characterized their morphological characteristics, dual culture test against *P. capsici* and pathogenicity test on pepper leaf. The endophyte isolates were inoculated onto root system of 10 weeks old seedlings by soaking them into isolate suspension, then planted in sterilized soil medium. The IAA and GA₃ content in root were measured by TLC scanner one month later. The effectiveness of endophyte isolates against *P. capsici* was tested by drenching 50 ml of the *P. capsici* zoospore suspension (10⁶ zoospores/ml) onto soil medium of the pepper seedlings that previously inoculated with endophytic fungi. The survived pepper seedlings were observed one month after inoculation. All tested isolates indicated no significant effect on leaf and node numbers also plant mortality. The pepper seedlings inoculated with E-5, E-7 and E-15 produced dry root weight 0.83, 0.84 dan 0.81 g respectively, significantly different than other treatments. The IAA content in root was higher than GA₃ of the seedling

inoculated by the same isolates. A month after Phytophthora inoculation, more than 80% of the pepper seedlings inoculated with those three isolates were alive.

Key words : *Piper nigrum*, *Phytophthora capsici*, IAA, GA₃

PENDAHULUAN

Produk lada (*Piper nigrum* L) Indonesia baik lada hitam maupun lada putih memberi kontribusi devisa yang besar bagi Indonesia, dan menjadi sumber pendapatan bagi banyak petani. Namun, penyakit busuk pangkal batang (BPB) yang disebabkan oleh *Phytophthora capsici* masih menjadi kendala dalam budidaya lada di Indonesia. Cendawan *P. capsici* bersifat tular tanah, mudah menyebar sehingga saat ini telah ditemukan hampir di semua pertanaman lada di Indonesia (Wahyuno *et al.* 2010). Penyakit BPB menyebabkan pengurangan luas areal pertanaman lada nasional 10-15% per tahun (Kasim 1990). Di Bangka Belitung kerusakan yang ditimbulkan mencapai 10% dan 24% di Lampung (Syahnen *et al.* 2011).

Perbanyakan tanaman lada umumnya dilakukan secara vegetatif menggunakan setek sehingga rentan terinfeksi oleh *P. capsici*. Zoospora dari *P. capsici* aktif pada lapisan permukaan air tanah atau tanaman lada sakit oleh karenanya zoospora mudah tersebar melalui aliran air irigasi atau percikan air hujan. Anjuran dalam pengendalian penyakit BPB adalah menggunakan benih lada sehat dan aplikasi agens hayati, seperti *Trichoderma* (Manohara *et al.* 2004). Untuk menghindari penularan melalui benih, tidak dianjurkan untuk mengambil setek lada dari daerah yang endemik penyakit. Sampai saat ini, belum ada varietas lada yang tahan terhadap *P. capsici*.

Aplikasi *Trichoderma* dapat menekan penyakit BPB di lapangan (Wahyuno *et al.* 2016). Namun, perbaikan pengendalian dengan memperkaya jenis jumlah agens hayati masih perlu dilakukan. Beberapa cendawan endofit akar dilaporkan mampu menekan serangan penyakit. Lisnawita *et al.* (2013) menggunakan *Fusarium* endofit untuk menekan nematoda dan memper-

baiki pertumbuhan tanaman pisang, sedangkan *Trichoderma asperellum* endofit efektif mengendalikan *Phytophthora* pada buah kakao (Hakkar *et al.* 2014), dan cendawan endofit *Piriformospora indica* mampu meningkatkan bobot segar tunas dan akar dari berbagai jenis tanaman setelah diinokulasikan di perakaran tiap tanaman (Varma *et al.* 1999). Kusumawardani *et al.* (2015) mendapatkan beberapa isolat cendawan endofit asal akar lada yang mampu menekan pertumbuhan *P. capsici* secara *in vitro*.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas cendawan endofit asal perakaran lada terhadap pertumbuhan tanaman dan kejadian penyakit BPB pada benih lada.

BAHAN DAN METODE

Penyiapan benih lada

Penelitian dilaksanakan di laboratorium dan rumah kaca Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (Balittro) di Bogor, sejak Januari sampai Desember 2014. Sultur panjat lada varietas Natar 1 setek satu buku berdaun tunggal ditanam pada medium *cocopeat*. Penyiapan benih tanaman lada mengikuti Standar Operasional Prosedur (SOP) perbenihan lada (Manohara dan Wahyuno 2009). Setek benih lada ditanam di dalam kotak plastik dan disungkup selama 10 minggu, hingga terbentuk 1-2 tunas baru.

Isolasi cendawan endofit

Cendawan endofit yang digunakan diperoleh dari hasil isolasi akar lada yang sehat dari Kebun Percobaan Balittro di Sukamulya, Sukabumi (± 300 m dpl; S6°56'34.83°; E106°46'21.37"T). Potongan akar lada (panjang ± 1 cm) yang disterilisasi dengan alkohol (70%) selama ± 1 menit, direndam dalam sodium hipoklorit (NaOCl 0,5%) selama ± 5 menit, kemudian dibilas air steril lima kali. Potongan akar yang telah diperlakukan di-

keringanginkan secara aseptik selama $\pm 5-6$ jam, kemudian ditanam pada medium agar kentang dekstroza (AKD) yang telah diberi *rose bengal* (30 mg.l^{-1}) dan kloramfenikol ($0,5 \text{ g.l}^{-1}$) (Ginting et al. 2013). Cawan petri yang berisi potongan akar diinkubasi pada kondisi ruang ($25-28^\circ\text{C}$) selama 3-4 minggu dan dihindarkan terkena cahaya langsung. Miselium cendawan yang tumbuh dari potongan akar pada periode awal (1-2 minggu) tidak diambil, sedangkan miselium yang keluar setelah diinkubasi 3-4 minggu berpotensi sebagai endofit. Miselium tersebut dipindah ke dalam medium AKD untuk dikarakterisasi, diidentifikasi, dan diuji lebih lanjut.

Karakterisasi cendawan endofit terseleksi

Karakter yang diamati meliputi kecepatan tumbuh isolat yang dilakukan pada medium AKD, kemampuan membentuk konidia, ada tidaknya struktur bertahan, uji patogenisitas terhadap daun lada yang dilakukan dengan menumbuhkan potongan koloni pada helaian daun lada (Wahyuno et al. 2010), dan ujiantang (*dual culture test*) untuk mengetahui ada tidaknya senyawa antibiosis yang dihasilkan (Macia-Vicente et al. 2008), serta karakter tampilan koloni.

Isolat cendawan endofit yang diperoleh dari hasil karakterisasi ditumbuhkan pada medium kentang dekstroza (KKD) sebanyak 150 ml dalam erlenmeyer, diletakkan di atas pengocok (50 rpm) selama 30 hari pada kondisi ruang. Koloni tiap cendawan endofit yang diperoleh disaring dengan kain muslin, kemudian dihancurkan menggunakan *homogenizer* (3.000 rpm 30 detik) untuk disuspensikan ke dalam 500 ml air steril.

Inokulasi cendawan endofit

Benih lada yang berakar (berumur 10 minggu) dicabut kemudian diinokulasi cendawan endofit dengan cara merendam perakarannya ke dalam suspensi biakan cendawan endofit selama 24 jam, yang merupakan modifikasi dari cara yang dilakukan oleh Sundaramoorthy et al. (2012). Benih lada yang sudah diinokulasi cendawan endofit ditanam kembali ke dalam polibag yang

berisi tanah steril, dan diletakkan kembali di dalam rumah kaca. Setiap perlakuan diulang tiga kali masing-masing terdiri dari 10 tanaman yang disusun dalam rancangan acak lengkap. Saat tanaman berumur dua bulan, pertambahan jumlah buku dan daun, bobot akar segar dan bobot segar bagian atas tanaman, serta jumlah tanaman yang hidup diamati. Analisis kandungan hormon IAA dan GA_3 pada akar dilakukan dengan menggunakan *thin layer chromatography scanner* (Chowdappa et al. 2013).

Benih lada yang satu bulan sebelumnya telah diinokulasi cendawan endofit, diinokulasi dengan suspensi zoospora *P. capsici* (K-2) dengan menyiramkan 50 ml suspensi zoospora *P. capsici* (kepadatan $3,2 \times 10^6$ zoospora/ml) (Wahyuno et al. 2009). Setiap perlakuan diulang tiga kali dan setiap ulangan terdiri atas 10 benih lada. Benih lada yang hidup diamati satu bulan setelah inokulasi *P. capsici*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi dan karakterisasi cendawan endofit

Koloni cendawan yang keluar dari potongan akar pada minggu ketiga atau lebih setelah ditanam pada medium AKD dianggap sebagai cendawan endofit, dan sebaliknya untuk koloni yang keluar pada minggu pertama dan kedua. Dari ± 250 potongan akar yang ditanam pada medium diperoleh 17 isolat cendawan endofit, kemudian dipilih enam isolat cendawan endofit dengan berbagai karakteristiknya untuk diuji lebih lanjut di rumah kaca dengan menggunakan benih lada (Tabel 1). Berdasarkan karakter morfologinya semua isolat termasuk ke dalam klas Hyphomycetes.

Pertumbuhan benih tanaman lada

Hasil pengujian di rumah kaca mengindikasikan terdapat isolat cendawan endofit yang bersifat tidak sesuai pada benih lada meskipun saat pengujian dengan helaian daun ketidaksesuaian tersebut tidak terlihat. Isolat E-3, E-9 dan E-13 tidak memberi pengaruh yang positif ter-

hadap pertumbuhan benih lada uji (Tabel 2, Gambar 1 dan 2), meskipun kedua isolat tersebut tidak menyebabkan kematian benih lada lebih dari 5%. Isolat E-5, E-7 dan E-15 memberi hasil paling baik dibanding isolat lainnya, meskipun secara statistik tidak berbeda nyata (Tabel 2).

Bobot segar akar menunjukkan pola yang sama dengan bobot segar dan bobot kering bagian atas tanaman. Isolat cendawan endofit E-9 dan E-13 menghasilkan bobot akar paling rendah, sebaliknya dengan isolat E-5, E-7, dan E-15 (Gambar 1).

Tabel 1. Karakteristik cendawan endofit asal akar lada yang diuji.

Table 1. Characteristics of tested endophytic fungi isolated from pepper root.

Kode	Morfologi				Antibiosis ^{b)}	Patogeni sitas ^{c)}	Identitas
	Koloni ^{a)}	Diameter (mm) ^{a)}	Konidia ^{a)}	Struktur bertahan ^{a)}			
E-3	Tebal, cokelat terang di bagian tengah, putih di tepi	22,8	Tidak	-	0,5	-	Hyphomycetes
E-5	Tebal, putih di tengah, hijau gelap dan tipis di tepi	84,2	Ada	-	0,0	-	Hyphomycetes
E-7	Tebal berwarna putih	90,0	Ada	-	0,5	-	Hyphomycetes
E-9	Tebal di tengah berwarna putih dengan tepi cokelat gelap	28,8	Ada	-	0,0	-	Hyphomycetes
E-13	Tipis ungu di tengah dengan putih di bagian tepi	80,6	Ada	-	0,0	-	Hyphomycetes
E-15	Tebal di tengah, oranye-coklat terang	16,0	Ada	-	1,0	-	Hyphomycetes

Keterangan:

a) Medium AKD diinkubasi 7-8 hari pada kondisi ruang (25 °C; cahaya $\pm$ 400 lux, 12 jam gelap-terang).

b) Medium AKD dengan isolat uji *P. capsici* dan zona bening yang terbentuk (cm).

c) Ada tidaknya nekrosis pada helaian daun lada yang diinokulasi setelah diinkubasi selama 4 hari pada suhu 27°C, dan terhindar dari cahaya.

-) Tidak ada struktur bertahan atau tidak bersifat patogen.

Note :

a) PDA medium incubated 7-8 days at room temperature (25°C; light intensity $\pm$ 400 lux, 12 hours dark-light).

b) PDA medium with tested isolate *P. capsici* and the clear zone length (cm).

c) The presence of necrotic on inoculated pepper leaf after being incubated for 4 days at 27°C without light

-) No resistant structure or non-pathogenic.

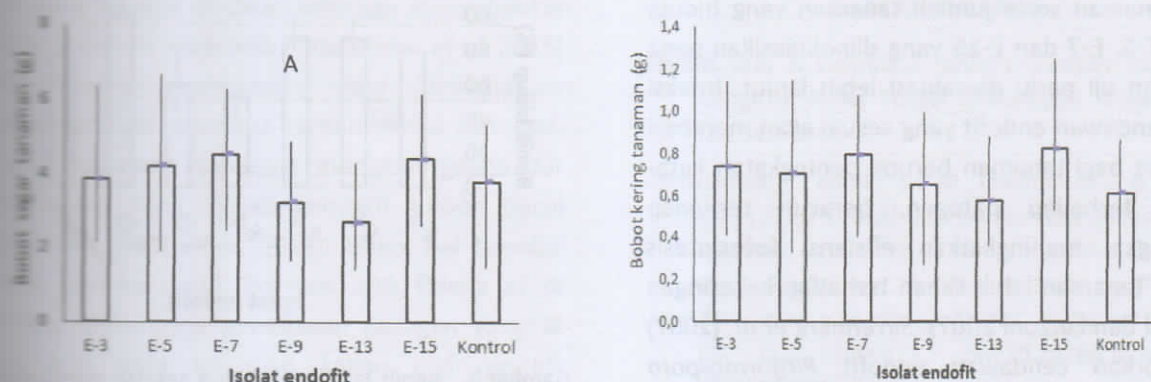
Tabel 2. Pertumbuhan vegetatif benih lada satu bulan setelah diinokulasi cendawan endofit.

Table 2. The vegetative growth of pepper seedling at one month after endophytic fungi application.

Isolat	Jumlah daun	Jumlah buku	Benih hidup (%)	Bobot segar akar (g)
E-3	1,32	1,42	95	0,67 c
E-5	1,30	1,50	95	0,83 c
E-7	1,65	1,70	100	0,84 c
E-9	0,80	0,95	95	0,33 ab
E-13	0,35	0,44	85	0,19 a
E-15	1,60	1,80	100	0,81 c
Kontrol	1,70	1,70	100	0,55 bc
KK (%)	4,28	15,30	0,58	8,61

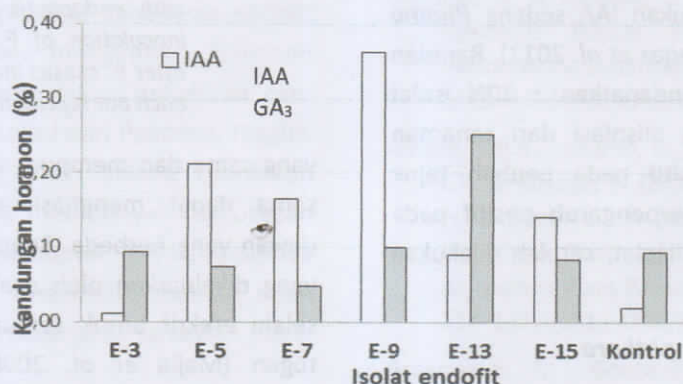
Keterangan/Note:

Angka pada kolom yang sama yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji berganda DMRT 5% (Numbers followed by the same letter in the same column were not significantly different at 5% DMRT).



Sambar 1. Bobot segar dan kering benih lada satu bulan setelah diinokulasi cendawan endofit. (A) Bobot segar dan (B) Bobot kering. Garis vertikal pada tiap grafik batang menggambarkan kisaran nilai.

Figure 1. Fresh and dry weight of pepper seedling at one month after application of endophytic fungi. (A) Fresh and (B) Dry weight. Vertical line on each bar represented range of value.



Sambar 2. Kandungan hormon IAA dan GA₃ di dalam akar benih lada satu bulan setelah diinokulasi cendawan endofit.

Figure 2. The IAA and GA₃ hormones content in root of pepper seedling at one month after inoculation of endophytic fungi.

Cendawan endofit yang diperoleh perlu diseleksi untuk membuktikan bahwa isolat yang diperoleh memberi pengaruh positif pada benih tanaman lada. Giauque dan Hawkes (2013) menyatakan tidak semua cendawan endofit membantu tanaman untuk bertahan dari cekaman lingkungan. Keragaman jenis cendawan endofit yang berhasil diisolasi juga dipengaruhi oleh jenis tanaman inang, bagian tanaman, serta musim saat contoh diambil (Giauque dan Hawkes 2013).

Akar benih lada yang diinokulasi dengan cendawan endofit mempunyai kandungan hormon IAA yang lebih tinggi dibanding kontrol, kecuali untuk isolat E-3. Kandungan hormon GA₃ dari

semua perlakuan yang diuji, relatif sama antar isolat endofit yang diuji, kecuali untuk perlakuan E-13 yang kandungan hormonnya dua kali lebih banyak daripada perlakuan yang lain (Gambar 2).

Analisa regresi yang dilakukan (data tidak ditampilkan) tidak memberi petunjuk adanya kaitan yang erat antara kandungan hormon dengan jumlah tanaman yang hidup, bobot segar akar maupun bobot tanaman. Adanya interaksi yang kompleks antara endofit dengan tanaman inang dan juga lingkungannya sehingga tidak ada peubah tunggal yang bisa memberi indikasi nyata isolat yang sesuai untuk benih lada. Berdasarkan peubah kandungan hormon IAA, bobot segar akar

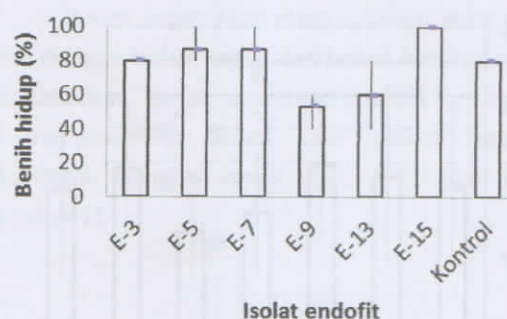
dan tanaman serta jumlah tanaman yang hidup, isolat E-5, E-7 dan E-15 yang diinokulasikan pada tanaman uji perlu dievaluasi lebih lanjut. Infeksi oleh cendawan endofit yang sesuai akan memberi manfaat bagi tanaman berupa peningkatan ketahanan terhadap patogen, beracun terhadap pemangsa, meningkatkan efisiensi fotosintesis hingga tanaman lebih tahan terhadap kekeringan (Arnold dan Lutzoni 2007). Sirrenberg *et al.* (2007) melaporkan cendawan endofit *Piriformospora indica* mampu meningkatkan pertumbuhan *Arabidopsis* dengan cara meningkatkan produksi hormon auksin. Pada tanaman mentimun, *Penicillium* dan *Phoma* endofit berbeda kemampuannya dalam menstimulasi jenis hormon. *Penicillium* lebih memacu pembentukan IAA sedang *Phoma* memacu hormon GA (Waqas *et al.* 2012). Ramdan *et al.* (2013) hanya mendapatkan $\pm 20\%$ isolat cendawan endofit yang diisolasi dari tanaman cabai, berpengaruh positif pada peubah taju tanaman, tetapi yang berpengaruh positif pada panjang akar ada $\pm 30\%$ isolat, setelah dilakukan inokulasi buatan.

Uji tantang dengan *Phytophthora*

Hasil uji inokulasi dengan menggunakan suspensi zoospora *Phytophthora* mengindikasikan isolat E-15 merupakan isolat yang potensial untuk diuji lebih lanjut karena tidak ada benih lada yang mati, setelah diinokulasi *Phytophthora*. Selain itu, juga menghasilkan bobot akar dan bobot tanaman yang lebih baik dibanding isolat lainnya (Tabel 1 dan Gambar 3).

Mekanisme yang terlibat dari tiap isolat endofit dalam memacu pertumbuhan tanaman maupun menekan kejadian penyakit akan berbeda-beda. Pencarian satu isolat endofit yang mampu berperan positif pada semua peubah yang diamati mungkin akan sangat sulit ditemukan sehingga aplikasi beberapa cendawan endofit maupun kombinasi dengan mikroorganisme tanah lainnya yang bukan endofit perlu diuji lebih lanjut.

Park *et al.* (2003) melaporkan, isolat cendawan endofit yang diperoleh dari satu tanaman



Gambar 3. Benih lada yang hidup setelah diinokulasi cendawan endofit kemudian diinokulasi dengan *P.capsici*, pada satu bulan setelah inokulasi *P. capsici*. Garis vertikal pada tiap grafik batang menggambarkan kisaran nilai.

Figure 3. The survived pepper seedlings inoculated with endophytic fungi then followed by inoculation of *P. capsici*, at one month after *P. capsici* inoculation. Vertical line on each bar represented range of value.

yang sama dan mempunyai tampilan koloni yang sama dapat menghasilkan metabolit antisen-dawan yang berbeda. Senyawa bersifat antibiosis yang dikeluarkan oleh suatu isolat endofit tidak selalu efektif untuk semua jenis cendawan patogen (Mejia *et al.* 2008). Hutcheson (1998) mengelompokkan mekanisme ketahanan dengan induksi aktif menjadi: (1) reaksi pertahanan dari sel-sel tanaman yang kontak dengan patogen, (2) reaksi dari sel-sel tanaman di sekitar daerah kontak yang mengirim sinyal-sinyal ke tanaman untuk memberi respon (ketahanan yang diinduksi), dan (3) ketahanan secara sistemik melalui aktivitas hormon di seluruh tanaman. Menurut Gao *et al.* (2010) cendawan endofit berperan (1) secara langsung dengan mengeluarkan metabolit bersifat antibiosis, atau mensekresi enzim yang mampu menghancurkan sel patogen; (2) secara tidak langsung, dengan meningkatkan ketahanan tanaman, sistem fisiologi tanaman inang dan memacu terbentuknya metabolit sekunder, atau (3) secara ekologi, dengan kompetisi ruang, dan parasitisasi. Pada tanaman *Arabidopsis* yang heterosis, kandungan hormon IAA lebih tinggi dibanding tetuanya akibat terjadinya perbanyakan

sel yang intensif di daun sehingga menyebabkan vigor tanaman lebih baik (Groszmann et al. 2015). *Pseudomonas fluorescens* yang diinokulasikan pada gandum memacu terbentuknya IAA pada pucuk tanaman sehingga menekan gejala dan kehilangan hasil akibat penyakit hawar pucuk *Fusarium* (Petti et al. 2012); tetapi hal tersebut tidak berlaku untuk hormon ABA (Mejia et al. 2008). Mekanisme penekanan patogen yang ditemukan pada tanaman kakao oleh endofit *Trichoderma* umumnya kompetisi untuk substrat atau ruang (Hakkar et al. 2014).

Mekanisme paling dominan yang melibatkan tiap isolat endofit perlu dikenali lebih jelas, demikian juga dengan cara aplikasi dan pengaturan kondisi lingkungan agar cendawan endofit dapat berkembang dan menginfeksi tanaman inang lebih efektif. Berdasarkan penelitian cendawan endofit yang diisolasi dari Poaceae, Higgins et al. (2011) menyimpulkan bahwa cendawan endofit umumnya tidak mempunyai kekhususan inang yang tinggi, walaupun kemampuannya memacu terbentuknya metabolit tanaman tidak selalu sama, meskipun pada jenis tanaman inang yang sama.

KESIMPULAN

Tidak semua cendawan endofit dari akar lada efektif meningkatkan pertumbuhan dan menekan serangan *P. capsici* pada benih lada. Isolat E-5, E-7 & E-15 memberi pengaruh terbaik pada pertumbuhan benih lada dibanding isolat lainnya. Isolat E-7 & E-15 mencirikan genus *Fusarium*, sedang E-5 belum diketahui. Perbaikan cara aplikasi dan pengaturan kondisi lingkungan perlu dipelajari agar cendawan dapat lebih optimal dalam memperbaiki pertumbuhan lada.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dilaksanakan menggunakan biaya APBN 2014 DIPA Balittro. Terima kasih ditujukan pada Sutrasman, Zulhisnain, Asep Muslihat dan Sugianto atas bantuan teknis yang diberikan selama pelaksanaan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Arnold, A.E. & Lutzoni, F. (2007) Diversity and Host Range of Foliar Fungal Endophytes. *Ecology*. 88 (3), 541–549.
- Chowdappa, P., Kumar, S.P.M., Lakshmi, M.J. & Upreti, K.K. (2013) Growth Stimulation and Induction of Systemic Resistance in Tomato against Early and Late Blight by *Bacillus subtilis* OTPB1 or *Trichoderma harzianum* OTPB3. *Biological Control*. 65 (1), 109–117. doi:10.1016/j.biocontrol.2012.11.009.
- Gao, F., Dai, C. & Liu, X. (2010) Mechanisms of Fungal Endophytes in Plant Protection against Pathogens. *African Journal of Microbiology Research*. 4 (13), 1346–1351.
- Giauque, H. & Hawkes, C. V (2013) Climate Affects Symbiotic Fungal Endophyte Diversity and Performance. *American Journal of Botany*. 100 (7), 1435–44. doi:10.3732/ajb.1200568.
- Ginting, C.R.B., Sukarno, N., Widyastuti, U., Darusman, L.K. & Kanaya, S. (2013) Diversity of Endophytic Fungi from Red Ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) Plant and Their Inhibitory Effect to *Fusarium oxysporum* Plant Pathogenic Fungi. *Hayati*. 20 (3), 127–137. doi:10.4308/hjb.20.3.127.
- Groszmann, M., Gonzalez-Bayon, R., Lyons, R.L., Greaves, I.K., Kazan, K., Peacock, W.J. & Dennis, E.S. (2015) Hormone-regulated Defense and Stress Response Networks Contribute to Heterosis in *Arabidopsis* F1 Hybrids. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 112 (46), Washington DC, National Academy of Sciences., pp.E6397–E6406. doi:10.1073/pnas.1519926112.
- Hakkar, A.A., Rosmana, A., Rahim, M.D. & Hasanuddin, U. (2014) Pengendalian Penyakit Busuk Buah Phytophthora pada Kakao dengan Cendawan Endofit *Trichoderma asperellum*. *J Fitopatologi Indonesia*. 10 (5), 139–144. doi:10.14692/jfi.10.5.139.
- Higgins, K.L., Coley, P.D., Kursar, T.A. & Arnold, A. (2011) Culturing and Direct PCR Suggest Prevalent Host Generalism among Diverse Fungal Endophytes of Tropical Forest Grasses. *Mycologia*. 103 (2), 247–260. doi:10.3852/09-158.
- Hutcheson, S.W. (1998) Current Concepts of Active Defense in Plants. *Ann.Rev. Phytopathology*. 36, 59-90.

- Kasim, R. (1990) Pengendalian Penyakit Busuk Pangkal Batang secara Terpadu. *Buletin Tanaman Industri*. 1, 16–20.
- Kusumawardani, Y., Sulistyowati, L. & Cholil, A. (2015) Potensi Antagonis Jamur Endofit pada Tanaman Lada (*Piper nigrum* L) terhadap Jamur *Phytophthora capsici* Leionian Penyebab Busuk Pangkal Batang. *Jurnal HPT*. 3, 21–29.
- Lisnawita, Tantawi, A.R. & Pinem, M.I. (2013) Aplikasi Cendawan Endofit terhadap Perkembangan Populasi Nematoda *Radopholus similis* pada Pisang Barangan. *J Fitopatologi Indonesia*. 9 (5), 133–138. doi:10.14692/jfi.9.5.133.
- Macia-Vicente, J.G., Jansson, H.-B., Mendgen, K. & Lopez-Liorca, L. V (2008) Colonization of Barley Roots by Endophytic Fungi and Their Reduction of Take-All Caused by *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*. *Can J Microbiol*. 54, 600–609. doi:10.1139/W08-047.
- Manohara, D., Mulya, K., Purwantara, A. & Wahyuno, D. (2004) *Phytophthora capsici* on Black Pepper in Indonesia. In: Drenth, A. & Guest, D.I. (eds.) *Diversity and Management of Phytophthora in Southeast Asia*. 114, Canberra, Australian Centre for International Agricultural Research, pp.132–135.
- Manohara, D. & Wahyuno, D. (2009) *Improved Method of Pepper Cultivation (IMPC)*. FAO & ICECRD.
- Mejia, L.C., Rojas, E.I., Maynard, Z., Van Bael, S., Arnold, A.E., Hebbard, P., Samuels, G.J., Robbins, N. & Herre, E.A. (2008) Endophytic Fungi as Biocontrol Agents of *Theobroma cacao* Pathogens. *Biological Control*. 46, 4–14. doi:10.1016/j.biocontrol.2008.01.012.
- Park, J., Park, J.H., Choi, G.J., Lee, S., Jang, K.S., Choi, Y.H., Cho, Y. & Kim, J. (2003) Screening for Antifungal Endophytic Fungi Against Six Plant Pathogenic Fungi. *Mycobiology*. 31 (3), 179–182.
- Petti, C., Reiber, K., Ali, S.S., Berney, M. & Doohan, F.M. (2012) Auxin as A Player in the Biocontrol of Fusarium Head Blight Disease of Barley and Its Potential as A Disease Control Agent. *BMC Plant Biology*. 12 (1), 9. doi:10.1186/1471-2229-12-224.
- Ramdan, E.P., Widodo, Tondok, E.T., Wiyono, S. & Hidayat, S.H. (2013) Cendawan Endofit Nonpatogen Asal Tanaman Cabai dan Potensinya sebagai Agens Pemacu Pertumbuhan. *J Fitopatologi Indonesia*. 9 (5), 139–144. doi:10.14692/jfi.9.5.139.
- Sirrenberg, A., Gobel, C., Grond, S., Czempinski, N., Ratzinger, A., Karlovsky, P., Santos, P., Feussner, I. & Pawlowski, K. (2007) *Piriformospora indica* Affects Plant Growth by Auxin Production. *Physiologia Plantarum*. 131, 581–589. doi:10.1111/j.1399-3054.2007.00983.x.
- Sundaramoorthy, S., Raguchander, T., Ragupathi, N. & Samiyappan, R. (2012) Combinatorial Effect of Endophytic and Plant Growth Promoting Rhizobacteria against Wilt Disease of *Capsicum annum* L. Caused by *Fusarium solani*. *Biological Control*. 60 (1), 59–67. doi:10.1016/j.biocontrol.2011.10.002.
- Syahnen, Roma, I. & Siahaan, T.U. (2011) *Pemetaan Lokasi Penanaman Lada dan Serangan Penyakit Busuk Pangkal Batang (BPB) Di Propinsi Lampung dan Propinsi Bangka Belitung*.
- Varma, A., Verma, S., Sudha, Sahay, N., Butehorn, B. & Franken, P. (1999) *Piriformospora indica*, A Cultivable Plant-Growth-Promoting Root Endophyte. *Applied and Environmental Microbiology*. 65 (6), 2741–2744.
- Wahyuno, D., Manohara, D., Ningsih, S.D. & Setijono, R.T. (2010) Pengembangan Varietas Unggul Lada Tahan Penyakit Busuk Pangkal Batang yang Disebabkan oleh *Phytophthora capsici*. *Jurnal Litbang Pertanian*. 29 (3), 86–95.
- Wahyuno, D., Manohara, D. & Setiyono, R.T. (2009) Ketahanan Beberapa Lada Hasil Persilangan terhadap *Phytophthora capsici* Asal Lada. *Jurnal Littri*. 15 (2), 77–83.
- Wahyuno, D., Manohara, D. & Trisilawati, O. (2016) Pretreatment Effect of Black Pepper Seedlings with *Pseudomonas*, *Trichoderma* and Mycorrhiza on Foot Rot Disease Incidence. *Bul Littro*. 27 (1), 55–66. doi:dx.doi.org/10.21082/bullittro.v27/n1.2016.55-66.
- Waqas, M., Khan, A.L., Kamran, M., Hamayun, M., Kang, S., Kim, Y. & Lee, I. (2012) Endophytic Fungi Produce Gibberellins and Indoleacetic Acid and Promotes Host-Plant Growth during Stress. *Molecules*. 17, 10754–10773. doi:10.3390/molecules170910754.

STRUKTUR DAN KOMPOSISI GULMA PADA TANAMAN LADA YANG BERPERAN UNTUK MENGONSERVASI SERANGGA PARASITOID

Structures and Compositions of Weed in Pepper Plantation to Conserve Parasitoid Insects

Rismayani dan Andriana Kartikawati

Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat
Jalan Tentara Pelajar No. 3 Bogor 16111
Telp 0251-8321879 Faks 0251-8327010
risma16021985@gmail.com

(diterima 16 Maret 2017, direvisi 24 Maret 2017, disetujui 24 Mei 2017)

ABSTRAK

Serangga dan gulma memiliki keterkaitan yang erat pada ekosistem pertanian lada. Beberapa jenis gulma berperan sebagai inang alternatif. Penelitian bertujuan untuk mengetahui komposisi dan struktur gulma pada pertanian lada, serta peranannya terhadap serangga parasitoid. Penelitian dilakukan di areal pertanian lada di KP Sukamulya, Sukabumi, Jawa Barat. Penelitian berlangsung sejak Maret sampai Mei 2015. Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode kuadrat dan peletakan plot dilakukan secara sengaja (*purposive sampling*), ukuran plot 3 m x 3 m, dan lima ulangan. Parameter yang diamati adalah jenis dan jumlah individu masing-masing gulma, dominansi, bobot segar dan kering. Untuk mengetahui banyaknya jumlah populasi gulma dalam satu petak menggunakan rumus Indeks Nilai Penting (INP). Faktor lingkungan yang diukur meliputi kelembapan udara dan tanah, suhu udara dan tanah, serta kemasaman tanah. Serangga yang berhasil dikoleksi pada setiap plot pengamatan diidentifikasi dan dikelompokkan berdasarkan peranannya di ekosistem pertanian lada. Ditemukan komposisi dan struktur gulma yang beragam dan berperan penting terhadap serangga parasitoid *Anastatus dasyni* di pertanian lada KP. Sukamulya, Sukabumi, Jawa Barat. Ketiga spesies gulma yang berperan yaitu *Ageratum conyzoides*, *Asystasia intrusa* dan *Paspalum conjugatum*. Tingkat dominansi ketiga gulma tersebut masing-masing adalah 9,75%; 9,98% dan 8,83%. Serangga *Grion dasyni* dan *A. dasyni* merupakan serangga yang berperan sebagai parasit telur hama pengisap buah lada (*Dasynus piperis*). Pengendalian gulma dilakukan secara selektif hanya pada areal di sekeliling lingkaran batang tanaman lada. Hal ini dimaksudkan karena banyak gulma yang berperan dalam mengonservasi serangga parasitoid.

Kata kunci: *Anastatus dasyni*, *Dasynus piperis*, *Piper nigrum*, hama

ABSTRACT

Insects and weeds are closely associated in the ecosystem of pepper plantation. Some weeds are alternatives host for insects. The research aimed to determine the composition and structure of weed and to identify the type and role of insects and their association in pepper plantation. This study was conducted in pepper plantation at Sukamulya Research Installation, Sukabumi, West Java, from March to May 2015. The method used was the least-squares method. A total of 5 plots were laid using a purposive sampling with the plot size of 3 m x 3 m, repeated five times. The type and the number of weed species on each plot were recorded, identified, measured its dominance level and weighed its fresh and dry weight. The Important Value Index was used to measure the number of weeds population in each plot. The environmental abiotic factors observed were air humidity, soil moisture, air temperature, soil temperature and soil acidity. Insects collected from each plot were identified and grouped based on its role. There were various weed composition and structure which had an important role for parasitoid insect *Anastatus dasyni* in pepper plantation at Sukamulya Research Installation. The weeds were *Ageratum conyzoides*, *Asystasia intrusa* and *Paspalum conjugatum* with dominance level 9.75%, 9.98% and 8.83% respectively. *Grion dasyni* and *A. dasyni* were parasitoid insects of the egg of pepper fruit sucking pest (*Dasynus piperis*). The selective weed control should be performed only around pepper stem, because some weeds have important role to conserve parasitoid insect.

Key words: *Piper nigrum*, *Anastatus dasyni*, *Dasynus piperis*, insect pest

PENDAHULUAN

Lada (*Piper nigrum* L.) merupakan salah satu tanaman rempah yang mempunyai nilai ekonomi tinggi karena merupakan penghasil devisa terbesar ketujuh pada kelompok tanaman perkebunan (Manohara *et al.* 2004). Serangga dan gulma memiliki peran penting pada perkebunan lada di Indonesia karena kaitannya yang sangat erat dalam suatu ekosistem. Umumnya gulma dikenal sebagai tanaman yang berkompetisi dengan tanaman budidaya dalam memperoleh cahaya matahari, air dan unsur hara bagi pertumbuhannya, tetapi beberapa gulma memberi kontribusi yang besar terhadap populasi serangga predator dan parasitoid bagi tanaman budidaya. Serangga adalah avertebrata utama di suatu ekosistem yang dapat dibedakan menjadi serangga herbivora (hama), musuh alami (predator dan parasitoid), dan serangga netral (Untung 2000). Ada banyak tipe interaksi antara gulma dan serangga, beberapa merupakan interaksi mutualistik dan ada juga yang bersifat komensalistik atau antagonistik (parasitisme, predasi dan kompetisi) (Odum 1998).

Secara umum gulma berperan sebagai salah satu organisme pengganggu tanaman (OPT) bagi tanaman budidaya karena dapat memenangkan persaingan dengan tanaman budidaya untuk mendapatkan kebutuhan unsur hara, air, cahaya matahari dan ruang tumbuh sehingga secara tidak langsung dapat menurunkan produksi (Tjokrowardojo *et al.* 2010). Namun demikian, beberapa jenis gulma berperan sebagai inang alternatif serangga sebagai tempat berlindung atau habitat dari berbagai hama dan musuh-musuh alami (Asikin 2014). Keanekaragaman serangga parasitoid dan predator berperan penting dalam suatu ekosistem, sehingga sangat penting dalam pengelolaan hama utama tanaman lada secara terpadu. Keberadaan serangga predator dan parasitoid dipengaruhi oleh keanekaragaman tanaman, termasuk gulma, dalam struktur lansekap pada suatu ekosistem. Gulma dapat

digunakan sebagai tempat berlindung, inang alternatif, dan sumber pakan tambahan (tepung sari dan madu) untuk serangga parasitoid dan predator (Masyifah *et al.* 2014).

Pertanaman lada di Kebun Percobaan (KP) Sukamulya, Sukabumi, Jawa Barat, sudah cukup lama dan ekosistemnya diperkirakan sudah stabil, namun hingga saat ini belum ada penelitian yang menginformasikan mengenai keterkaitan antara struktur dan komposisi gulma terhadap keberadaan serangga parasitoid pada pertanaman lada di KP. Sukamulya. Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui komposisi dan struktur gulma pada pertanaman lada, serta peranannya terhadap serangga parasitoid. Informasi ini sangat penting sebelum melakukan tindakan pengendalian terhadap gulma yang tumbuh di sekitar pertanaman lada untuk menjaga keseimbangan ekosistem.

BAHAN DAN METODE

Agroekologi lokasi penelitian

Penelitian dilaksanakan di areal pertanaman lada di KP Sukamulya, Sukabumi, Jawa Barat sejak Maret sampai Mei 2015. Pengamatan dilakukan pada lahan dengan luas 1.500 m² yang ditanami lada varietas Natar 1 berumur 4 tahun sebanyak 250 pohon dengan jarak tanam 2,5 m x 2,5 m. Pada lahan tersebut ditumbuhi gulma yang sengaja tidak dilakukan tindakan pengendalian selama kegiatan penelitian. Secara geografis KP. Sukamulya berada di Desa Sukamulya, Kecamatan Cikembar, Kabupaten Sukabumi, dengan ketinggian 350 m dpl, tipe iklim B₁ berdasarkan klasifikasi iklim Oldeman (1975) (Rostiana *et al.* 2006) dan jenis tanah latosol merah dengan pH 5-5,5. Curah hujan per tahun berkisar antara 2.600-3.000 mm, jumlah hari hujan antara 160-200 per tahun, suhu udara minimum 17°C dan suhu maksimum 32°C dengan kelembaban udara 50-90%.

Rancangan penelitian

Penelitian dirancang mengikuti metode kuadrat (Southwood dan Henderson 2000).

Pemilihan plot dilakukan secara sengaja (*purpose sampling*), menggunakan plot ukuran 3 m x 3 m, diulang lima kali.

Komposisi, struktur gulma dan indeks keanekaragaman jenis gulma

Plot atau petak tanaman dipilih secara acak. Gulma yang tumbuh pada setiap plot pengamatan dicatat jenis dan jumlah individunya, lalu dilakukan pengoleksian semua jenis gulma tersebut dan diberi label untuk dibawa ke laboratorium. Sampel gulma yang dibawa ke laboratorium dipisah setiap jenisnya lalu ditimbang bobot basah dan bobot keringnya, untuk menghitung nilai dominansi serta untuk identifikasi. Gulma yang belum diketahui spesiesnya dilakukan identifikasi dengan cara melihat dan membandingkan spesies gulma yang diambil dari lapangan dengan mengacu pada Sembodo (2010). Koleksi gulma teki dan gulma berdaun lebar (*Pteridophyta*) dibuat spesimen dengan cara menyusun gulma satu per satu dengan rapi dalam lipatan koran yang dilapisi dengan kardus, kemudian dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu 70-80°C selama 24 jam atau sampai kering. Faktor-faktor lingkungan abiotik di lapangan yang diamati meliputi kelembaban udara, kelembaban tanah, suhu udara, suhu tanah dan pH tanah. Data yang diperoleh kemudian dianalisis secara kuantitatif dengan menghitung Kerapatan Relatif (KR), Frekuensi Relatif (FR), Dominansi Relatif (DR) dan *Summed Dominance Ratio* (SDR) dihitung menggunakan rumus sebagai berikut (Mabbayad *et al.* 1983).

$$\text{Kerapatan relatif (KR)} = \frac{\text{kerapatan satu jenis}}{\text{kerapatan seluruh jenis}} \times 100$$

$$\text{Frekuensi relatif (FR)} = \frac{\text{frekuensi satu jenis}}{\text{frekuensi seluruh jenis}} \times 100$$

$$\text{Dominansi relatif (DR)} = \frac{\text{dominansi satu jenis}}{\text{dominansi seluruh jenis}} \times 100$$

Indeks Nilai Penting dihitung berdasarkan penjumlahan nilai KR, FR dan DR (Soerianegara

dan Indrawan 2005). Frekuensi merupakan banyaknya petak pengamatan dari spesies gulma tertentu yang berhasil ditemukan, sedangkan kerapatan adalah banyaknya jumlah gulma tertentu pada satu petak pengamatan dibagi luas petak pengamatan (1 m²) (Pribadi dan Anggraeni 2011).

$$\text{Indeks Nilai Penting (INP)} = \text{KR} + \text{FR} + \text{DR}$$

$$\text{SDR} = \frac{\text{NP}}{\text{peubah nisbi}}$$

Keterangan: SDR = Summed Dominance Ratio.

NP = Nilai Penting.

Note : SDR = Summed Dominance Ratio.

NP = Important score.

Indeks keragaman jenis gulma pada perkebunan lada dihitung menggunakan Indeks Diversitas Shannon-Wiener (H) (Fachrul 2007) sebagai berikut:

$$H = e \sum p_i \ln p_i$$

Keterangan: p_i = perbandingan jumlah individu suatu jenis dengan keseluruhan jenis.

Note : p_i = Comparison of the number of individuals of a kind with the whole type.

Koleksi dan identifikasi serangga yang berasosiasi dengan gulma

Koleksi serangga dilaksanakan pada pagi hari dimana aktivitas serangga masih sangat aktif sehingga sangat mudah untuk mendapatkan serangga yang berada di lokasi penelitian. Serangga yang ditemukan pada setiap plot pengamatan dihitung jumlahnya dan dikoleksi dengan menggunakan jaring untuk serangga yang terbangnya cepat, dan menangkap langsung tanpa alat bagi serangga kecil di dasar permukaan gulma serta tanaman lada. Serangga yang ditemukan kemudian dimasukkan ke dalam botol koleksi yang berisi alkohol 80% lalu dibawa ke laboratorium untuk diidentifikasi berdasarkan karakteristik morfologinya dan dikelompokkan berdasarkan famili serta spesiesnya. Selanjutnya ditentukan peranannya pada pertanaman lada dengan mengacu pada Kalshoven dan van der Laan (1981).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Komposisi gulma

Hasil pengamatan keberadaan jenis gulma menunjukkan bahwa jenis-jenis gulma yang tumbuh di lokasi percobaan cukup bervariasi, terdapat 3.308 individu, 22 jenis dan 11 famili (Tabel 1). Populasi gulma *Imperata cylindrica* paling banyak ditemukan (374 individu) dan gulma *Clidemia hirta* paling sedikit keberadaannya (12 individu). Gulma dari famili Poaceae mendominasi pertanaman lada dengan 7 jenis dan 1.293 individu.

Pengelompokan gulma berdasarkan famili-nya terdiri atas rerumputan, teki-teki dan gulma berdaun lebar (Tabel 1). Klasifikasi pengelompokan gulma berdasarkan pada salah satu sifat atau sifat-sifat yang paling umum, sehingga beberapa tumbuhan yang mempunyai hubungan yang erat satu sama lain dikelompokkan dalam satu kelompok yang sama.

I. cylindrica merupakan tumbuhan rumput tahunan dan dianggap sebagai gulma di lahan pertanian, tumbuh di daerah dengan curah hujan tinggi (Garrity *et al.* 1996). Gulma tersebut umumnya tumbuh di areal tanaman tahunan. Di Indonesia, gulma tersebut masih dapat tumbuh di daerah dengan ketinggian mencapai 2.600 m dpl (Kartikasari *et al.* 2013). Pertumbuhan dan perkembangbiakan *I. cylindrica* yang cepat menyebabkan tumbuhan lain harus bersaing dengan gulma tersebut. *I. cylindrica* dapat memproduksi zat alelopati, sehingga menyebabkan beberapa tumbuhan terganggu pertumbuhannya (Sutiya *et al.* 2012). Menurut IRRI *et al.* (1996) kerugian ekonomi yang disebabkan *I. cylindrica* pada tanaman budidaya antara lain kematian tanaman muda, mengurangi dan menghambat pertumbuhan tanaman, memperlambat awal produksi tanaman tahunan, mengurangi manfaat pemberian pupuk, peningkatan serangan penyakit pada

Tabel 1. Jenis gulma yang ditemukan di pertanaman lada KP Sukamulya, Sukabumi, Jawa Barat.

Table 1. Weeds in pepper plantation at Sukamulya Research Installation, Sukabumi, West Java.

No.	Famili	Jenis (spesies gulma)	Populasi (m ⁻²)
1	Acanthaceae	<i>Asystasia intrusa</i>	221
2	Poaceae	<i>Paspalum conjugatum</i>	203
		<i>Cyrtococcum oxyphyllum</i>	84
		<i>Gazon paspalum</i>	167
		<i>Ottochloa nodosa</i>	114
		<i>Digitaria sanguinalis</i>	56
		<i>Imperata cylindrica</i>	374
		<i>Axonopus compressus</i>	295
3	Fabaceae	<i>Calopogonium caeruleum</i>	42
		<i>Mimosa pudica</i>	27
		<i>Arachis pintoi</i>	39
4	Araceae	<i>Alocasia longiloba</i>	15
5	Asteraceae	<i>Synedrella nodiflora</i>	186
		<i>Ageratum conyzoides</i>	271
		<i>Erigon sumatrensis</i>	38
		<i>Crassocephalum crepidioides</i>	32
6	Commelinaceae	<i>Commelina benghalensis</i>	51
7	Verbenaceae	<i>Stachytarpheta mutabilis</i>	40
8	Onagraceae	<i>Ludwigia hyssopifolia</i>	117
9	Euphorbiaceae	<i>Euphorbia hirta</i>	126
10	Solanaceae	<i>Physalis angulata</i>	18
11	Melastomataceae	<i>Clidemia hirta</i>	12
Jumlah total			3.308

tanaman dan peningkatan stres tanaman pada musim kering.

Gulma biasanya digunakan oleh serangga herbivora sebagai penyedia pakan alternatif, sedangkan serangga herbivora tersebut merupakan sumber pakan untuk serangga predator dan parasitoid (Norris dan Kogan 2005). Selain itu, gulma dan tanaman dapat dimanfaatkan untuk keberlangsungan hidup serangga predator dan parasitoid sebagai sumber makanan karena mengandung polen, tempat berlindung dan berkembang biak sebelum inang utama hadir di pertanaman (Suprpto 2000).

Serangga-serangga tersebut tertarik pada beberapa gulma tertentu, selain untuk sumber pakan, juga karena adanya aroma yang dikeluarkan oleh tanaman tersebut. Sunjaya (1970) dalam Asikin (2014), menyatakan pada umumnya serangga tertarik dengan bau-bauan yang dikeluarkan oleh tanaman itu terutama pada bunga maupun buah. Adanya kandungan kelompok senyawa lipid yang bersifat mudah menguap yang berfungsi sebagai alomon, seperti senyawa ester keton dan hidrokarbon, akan mempengaruhi dipilihnya tanaman sebagai inang oleh serangga (Seigber 1983 dalam Asikin 2014).

Tanaman *C. hirta* disukai oleh *Gryon dasyni* dan *Anastatus dasyni* karena mengandung cairan yang rasanya manis. *C. hirta* juga memiliki biji buah yang dapat menempel pada bagian tubuh *G. dasyni* dan *A. dasyni*, sehingga mempercepat penyebaran gulma. Peters (2005) melaporkan

kan bahwa benih gulma *C. hirta* juga disebarkan oleh serangga, burung, babi liar, hewan lain dan manusia. *C. hirta* merupakan jenis gulma yang memiliki kandungan tanin terhidrolisa pada daunnya (Murdiati *et al.* 1990).

Struktur gulma

Struktur gulma yang meliputi nilai KR, FR, DR, indeks nilai penting dan nilai SDR (*Summed Dominance Ratio*) dari empat jenis gulma yang dominan disajikan pada Tabel 2. Indeks nilai penting dan nilai SDR masing-masing bervariasi antara jenis yang satu dengan jenis lainnya.

Gulma yang memiliki nilai SDR tertinggi adalah *I. cylindrica* (12,65%) sedangkan terendah *Paspalum conjugatum* (8,83%), menunjukkan gulma *I. cylindrica* paling dominan dibanding jenis lainnya. Nilai KR (11,30%), FR (20%) dan DR (6,64%) gulma *I. cylindrica* lebih tinggi dibandingkan dengan gulma lainnya. Hal ini karena individu dari jenis gulma *I. cylindrica* paling banyak ditemukan di setiap plot dan penyebarannya yang sangat luas.

Ageratum conyzoides dan *Asystasia intrusa* merupakan gulma yang berbunga seperti halnya gulma *C. hirta*. Kedua gulma tersebut juga sangat disukai oleh serangga parasitoid *G. dasyni* dan *A. dasyni* (Gambar 1). Kedua parasitoid tersebut sangat menyukai gulma yang berbunga karena memiliki cairan yang manis sebagai pakannya.

I. cylindrica merupakan gulma yang paling dominan di sekitar pertanaman lada, tetapi keha-

Tabel 2. Empat jenis gulma yang memiliki nilai dominansi tinggi pada pertanaman lada di KP Sukamulya, Sukabumi, Jawa Barat.
Table 2. Four weeds species with the highest dominance level in pepper plantation at Sukamulya Research Installation, Sukabumi, West Java.

No	Jenis	KR (%)	FR (%)	DR (%)	NP (%)	SDR (%)
1	<i>Axonopus compressus</i>	8,92	20	1,93	30,85	10,28
2	<i>Ageratum conyzoides</i>	8,19	20	1,07	29,26	9,75
3	<i>Asystasia intrusa</i>	6,68	20	3,27	29,95	9,98
4	<i>Paspalum conjugatum</i>	6,14	20	0,34	26,48	8,83

Keterangan/Note: KR : Kerapatan Relatif/Relative Density. NP : Nilai Penting/Important Value.
FR : Frekuensi Relatif/Relative Frequency. SDR: Summed Dominance Ratio.
DR : Dominansi Relatif/Relative Dominance.



Gambar 1. Vegetasi *Ageratum conyzoides* (a) dan *Asystasia intrusa* (b), dua jenis gulma yang sangat disukai oleh serangga parasitoid *Gryon dasyni* dan *Anastatus dasyni* pada pertanaman lada di Sukamulya.
Figure 1. Vegetation of *Ageratum conyzoides* (a) and *Asystasia intrusa* (b), two weeds type which are liked by parasitoid insects *Gryon dasyni* and *Anastatus dasyni* in pepper plantation at Sukamulya.

dirannya tidak berkaitan dengan serangga parasitoid karena warna bunganya tidak mencolok sehingga tidak disukai oleh serangga parasitoid. *I. cylindrica* tidak memiliki peran penting sebagai bagian dari keseimbangan ekosistem di pertanaman lada meskipun jumlahnya paling dominan. Sebaliknya dengan *Arachis pintoi* yang tidak termasuk kedalam gulma dominan, tetapi peranannya sangat penting terhadap keberadaan serangga parasitoid, karena memiliki bunga yang mencolok yang berwarna kuning. Bunga yang berwarna kuning disenangi oleh serangga parasitoid.

Indeks keanekaragaman jenis gulma

Indeks keanekaragaman jenis gulma pada fase vegetatif tanaman lada adalah 2,693. Nilai tersebut menunjukkan bahwa keanekaragaman jenis gulma pada perkebunan tersebut tergolong tinggi. Magurran (2005) menyatakan bahwa nilai indeks keanekaragaman Shannon-Wiener dibagi dalam empat kriteria, yaitu $H > 3,0$ menunjukkan keanekaragaman sangat tinggi, $H = 1,5-3,0$ menunjukkan nilai keanekaragaman tinggi, $H = 1,0-1,5$ menunjukkan keanekaragaman sedang dan $H < 1$ menunjukkan keanekaragaman rendah. Suatu komunitas akan memiliki diversitas jenis yang tinggi apabila di dalam komunitas tersebut ter-

dapat banyak jenis dan memiliki kelimpahan jenis yang hampir sama dan begitu juga sebaliknya.

Serangga yang berasosiasi dengan tanaman lada

Berdasarkan hasil identifikasi di laboratorium, ditemukan tujuh ordo serangga pada vegetasi gulma di pertanaman lada KP. Sukamulya, Sukabumi (Tabel 3). Ketujuh ordo tersebut terdiri dari 13 famili dan 15 spesies, dengan peranan yang berbeda-beda yaitu sebagai predator, parasitoid, hama pada tanaman lada, hama pada gulma, polinator serta pengurai. Yudiyanto *et al.* (2014) menyatakan bahwa keberadaan serangga pada suatu habitat tidak terlepas dari ketersediaan pakan dan kesesuaian kondisi lingkungan. Kondisi habitat dan lingkungan yang mendukung hubungan tropik antara tanaman menciptakan keseimbangan dalam hubungan tropik antara tanaman pertanian, serangga herbivora dan musuh alaminya.

Dolichoderus thoracicus Smith merupakan spesies semut yang jumlahnya paling banyak ditemukan pada setiap plot di vegetasi gulma. *D. thoracicus* berperan penting dalam pertumbuhan gulma. *D. thoracicus* membuat sarang dengan menggali tanah sehingga menggemburkan tanah dan memperbaiki aerasi dan secara tidak langsung membantu gulma dalam memperoleh

Tabel 3. Hasil identifikasi serangga yang berasosiasi dengan vegetasi gulma pada pertanaman lada di KP Sukamulya, Sukabumi.

Table 3. The identification of insects associated with weeds vegetation in pepper plantation at Sukamulya, Sukabumi, West Java.

Ordo	Famili	Spesies	Peranan
Coleoptera	Coccinellidae	<i>Coccinellinae</i>	Predator <i>Aphids</i> sp.
	Scarabaeidae	<i>Anaplograthus smaragdinus</i>	Fitopagus (pemakan akar gulma)
Diptera	Asilidae	<i>Lepitogaster</i> sp.	Parasitoid larva
	Clusiidae	<i>Halidayina</i> sp.	Polinator (pemakan nektar dan getah)
	Muscidae	<i>Musca</i> sp.	Scavenger (pengurai)
Hemiptera	Aphididae	<i>Aphis</i> sp.	Hama pada lada dan gulma
	Aphididae	<i>Myzus persicae</i>	Hama pada gulma
Hymenoptera	Eupelmidae	<i>Anastatus dasiny</i>	Parasitoid telur <i>Dasynus piperis</i>
	Formicidae	<i>Dolichoderus thoracicus</i>	Predator
	Scelionidae	<i>Gryon dasyni</i>	Parasitoid telur <i>D. piperis</i>
Mantodea	Mantidae	<i>Mantis religiosa</i>	Predator
Orthoptera	Acrididae	<i>Sexava</i> spp.	Predator
		<i>Valanga nigricornis</i>	Predator dan hama pada gulma
		<i>Gryllus mitratus</i>	Predator
Thysanoptera	Thripidae	<i>Gryllotalpa africana</i>	Predator
		<i>Trips</i> sp.	Hama pada lada dan gulma

oksigen yang lebih banyak di bagian perakarannya. Selain itu *D. thoracicus* juga berperan dalam mengendalikan hama. Andersen *et al.* (2002) menyatakan bahwa semut memiliki peranan penting sebagai predator, pengurai dan penyebar biji. Selain itu semut juga memiliki sensitivitas yang tinggi terhadap gangguan habitat sehingga semut dapat digunakan sebagai bioindikator perubahan kondisi lahan.

Pada plot pengamatan yang terdapat tanaman *Arachis pinto*, ditemukan cukup banyak populasi serangga *G. dasyni* dan *A. dasyni* yang berperan sebagai parasitoid telur hama *D. piperis* (Hemiptera: *Coreidae*). Meskipun rata-rata populasi parasitoid *A. dasyni* dan *G. dasyni* yang ditemukan pada plot pengamatan hanya 0,9 dan 0,7 ekor, menunjukkan jumlah yang lebih sedikit dibandingkan dengan populasi *D. piperis* yaitu sebanyak 1,1 ekor (Tabel 4). Namun keberadaan populasi kedua serangga parasitoid tersebut mampu menekan populasi *D. piperis* dengan cara memarasit telurnya. *A. dasyni* dan *G. dasyni* dapat memarasit hama pengisap buah lada (Masyifah *et al.* 2014). Laba dan Trisawa (2015) melaporkan

tingkat parasitisasi *G. dasyni* dan *A. dasyni* terhadap telur *D. piperis* pada pertanaman lada Bangka berkisar antara 75-84%. Hal ini menunjukkan bahwa ketersediaan nektar bunga sangat berperan sebagai sumber pakan imago parasitoid betina untuk meningkatkan produksinya (Trisawa *et al.* 2007).

Selain *D. thoracicus*, serangga lain yang banyak ditemukan yaitu *Valanga nigricornis*. Serangga tersebut ditemukan berkembang biak di sekitar gulma yang berada di pertanaman lada. Serangga *V. nigricornis* hidup pada berbagai tipe lingkungan atau ekosistem antara lain hutan, semak/belukar, rerumputan dan lahan pertanian (Kalshoven dan van der Laan 1981). Selain berperan sebagai predator, *V. nigricornis* juga berperan sebagai pemakan gulma di pertanaman lada, karena serangga tersebut memakan beberapa gulma berdaun lebar. Secara tidak langsung *V. nigricornis* memberikan keuntungan kepada petani dalam mengendalikan gulma di pertanaman lada tanpa menggunakan herbisida kimia. Erawati dan Kahono (2010) menyebutkan bahwa *V. nigricornis* juga merupakan hama pada tanam-

Tabel 4. Rata-rata populasi hama *Dasynus piperis* serta parasitoid *Anastatus dasyni* dan *Grion dasyni* pada setiap plot.
 Table 4. The average population of insect pest *Dasynus piperis* and parasitoid insects *Anastatus dasyni* and *Grion dasyni* in each plot.

Plot	Rata-rata populasi <i>Dasynus piperis</i> (Ekor)	Rata-rata populasi <i>Anastatus dasyni</i> (Ekor)	Rata-rata populasi <i>Grion dasyni</i> (Ekor)
1	0,3	0,2	0,3
2	0,1	0,3	0,0
3	0,2	0,1	0,1
4	0,3	0,1	0,2
5	0,2	0,2	0,1
Total:	1,1	0,9	0,7

an pertanian, makanan bagi satwa liar dan sebagai predator bagi beberapa serangga kecil di pertanian.

Struktur dan komposisi gulma pada tanaman lada di KP. Sukamulya, Sukabumi, Jawa Barat merupakan salah satu ekosistem yang menerapkan prinsip ekologi karena terdapat keseimbangan antara keragaman gulma dan kelimpahan serangga parasitoid, predator dan polinator. Gulma yang berbunga merupakan sumber nektar dan habitat alami bagi serangga parasitoid yang berperan penting dalam mengendalikan hama *D. piperis* pada tanaman lada. Oleh karena itu, pengendalian gulma pada pertanian lada perlu lebih selektif, yaitu dengan secara manual/ mekanis dan terbatas pada sekeliling lingkaran batang tanaman lada (radius 50-100 cm). Penggunaan herbisida sintesis sebaiknya dihindari karena akan membunuh tidak hanya gulma yang merugikan, tetapi juga yang berguna untuk mengonservasi parasitoid. Kelimpahan serangga predator dan polinator yang ditemukan berinteraksi pada ekosistem gulma, menjadikan gulma sebagai inang sekaligus tempat meletakkan telur serangga berguna.

KESIMPULAN

Komposisi dan struktur gulma pada pertanian lada di KP Sukamulya, Sukabumi, Jawa Barat cukup unik dan didominasi oleh tiga jenis gulma yang bunganya menghasilkan nektar sebagai sumber pakan serangga parasitoid. Ketiga

jenis gulma tersebut adalah *Ageratum conyzoides*, *Asystasia intrusa* dan *Paspalum conjugatum*. Serangga *Grion dasyni* dan *Anastatus dasyni* merupakan parasitoid telur hama pengisap buah lada (*Dasynus piperis*). Keberadaan kedua jenis parasitoid telur tersebut berkorelasi dengan rendahnya serangan hama pengisap buah lada. Hasil penelitian mengindikasikan perlu pengendalian secara selektif terhadap gulma di sekeliling lingkaran batang tanaman lada karena banyak jenis gulma yang berperan untuk mengonservasi serangga berguna, termasuk parasitoid hama pengisap buah lada.

DAFTAR PUSTAKA

- Andersen, A.N., Hoffmann, B.D., Muller, W.J. & Griffiths, A.D. (2002) Using Ants as Bioindicators in Land Management: Simplifying Assessment of Ant Community Responses. *Journal of Applied Ecology*. 39 (1), 8–17. doi:10.1046/j.1365-2664.2002.00704.x.
- Asikin, S. (2014) Serangga dan Serangga Musuh Alami yang Berasosiasi pada Tumbuhan Liar Dominan di Lahan Rawa Pasang Surut. In: Yasin, M. et al. (eds.) *Inovasi Teknologi Pertanian Spesifik Lokasi*. Banjarbaru, Badan Litbang Pertanian, pp.385–394.
- Erawati, N. & Kahono, S.I.H. (2010) Keanekaragaman dan Kelimpahan Belalang dan Kerabatnya (Orthoptera) pada Dua Ekosistem Pegunungan di Taman Nasional Gunung Halimun-Salak. *Jurnal Entomologi Indonesia*. 7 (2), 100–115.
- Fachrul, M.F. (2007) *Metode Sampling Bioekologi*. Jakarta, Bumi Aksara.

- Garity, D.P., Soekardi, M., Noordwijk, M., Cruz, R., Pathak, P.S., Gunasena, H.P.M., So, N., Huijun, G. & Majid, N.M. (1996) The Imperata Grasslands of Tropical Asia: Area, Distribution, and Typology. *Agroforestry Systems*. 36, 3–29. doi:10.1007/BF00142865.
- IRRI, NRI & ICRAF (1996) *Imperata Management for Smallholders: An Extensionists Guide to Rational Imperata Management for Smallholders*. Indonesia Rubber Research Institute (IRRI); Natural Resources Institute (NRI); International Centre for Research in Agroforestry (ICRAF), 56p.
- Kalshoven, L.G.E. & van der Laan, P.A. (1981) *Pests of Crops in Indonesia*. Jakarta, PT Ichtiar Baru van Hoeve.
- Kartikasari, S.D., Nurhatika, S. & Muhibuddin, A. (2013) Potensi Alang-Alang (*Imperata cylindrica* (L.) Beauv.) dalam Produksi Etanol Menggunakan Bakteri *Zymomonas mobilis*. *Jurnal Sains dan Seni Pomits*. 2 (2), E127–E131.
- Laba, I.W. & Trisawa, I.M. (2015) Pengelolaan Ekosistem untuk Pengendalian Hama Lada. *Perspektif*. 5 (2), 86–97.
- Mabbayad, M.O., Pablico, P.P. & Moody, K. (1983) *The Effect of Time and Method of Land Preparation on Weed Populations in Rice*. In: Mercado, B.L. et al. (eds.) *Proceedings of The Ninth Asian-Pacific Weed Science Society Conference*. Manila, The National Science and Technology Authority with Philippine Tobacco Research and Training Center, pp.357–368.
- Magurran, A.E. (2005) Species Abundance Distributions: Pattern or Process? *Functional Ecology*. 19 (1), 177–181.
- Manohara, D., Mulya, K., Purwantara, A. & Wahyuno, D. (2004) *Phytophthora capsici* on Black Pepper in Indonesia. In: Drenth, A. & Guest, D.I. (eds.) *Diversity and Management of Phytophthora in Southeast Asia*. Canberra, Australian Centre for International Agricultural Research, pp.132–135.
- Masyifah, E., Karindah, S. & Puspitarini, R.D. (2014) Asosiasi Serangga Predator dan Parasitoid dengan Beberapa Jenis Tumbuhan Liar di Ekosistem Sawah. *Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan*. 2 (2), 9–14.
- Murdiati, T.B., McSweeney, C.S., Campbell, R.S.F. & Stoltz, D.S. (1990) Prevention of Hydrolysable Tannin Toxicity in Goats Fed *Clidemia hirta* by Calcium Hydroxide Supplementation. *Journal of Applied Toxicology*. 10 (5), 325–331. doi:10.1002/jat.2550100504.
- Norris, R.F. & Kogan, M. (2005) Ecology of Interactions between Weeds and Arthropods. *Annual Review of Entomology*. 50 (1), 479–503. doi:10.1146/annurev.ento.49.061802.123218.
- Odum, E.P. (1998) *Dasar-dasar Ekologi*. Srigandono, B. (ed.) *Universitas Gadjah Mada*. Edisi III. Yogyakarta, Universitas Gadjah Mada Press.
- Peters, H.A. (2005) Distributional Constraints on an Invasive Neotropical Shrub, *Clidemia hirta*, in A Malaysian Dipterocarp Forest. *Ecotropicos*. 18 (2), 65–72.
- Pribadi, A. & Anggraeni, I. (2011) Jenis dan Stuktur Gulma pada Tegakan *Acacia crassiparpa* di Lahan Gambut (Studi Kasus pada HPHTI PT Arara Abadi, Riau). *Tekno Hutan Tanaman*. 4 (1), 33–40.
- Rostiana, O., Haryudin, W. & Rosita (2006) Stabilitas hasil lima nomor harapan kencur. *Jurnal Penelitian Tanaman Industri*. 12 (4), 140–145.
- Sembodo, D.R.J. (2010) *Gulma dan Pengelolaannya*. Yogyakarta, Graha Ilmu.
- Soerianegara, I. & Indrawan, A. (2005) *Ekologi Hutan Indonesia*. Bogor, Jurusan Manajemen Hutan, Fakultas Kehutanan, IPB.
- Southwood, T.R.E. & Henderson, P.A. (2000) *Ecological Methods*. Third Ed. Oxford, Blackwell Science Ltd.
- Suprpto (2000) *Manfaat Penggunaan Arachis pintoi terhadap Perkembangan Musuh Alami Organisme Pengganggu Utama Tanaman Lada*. Workshop Nasional Pengendalian Hayati OP Tanaman Perkebunan. Bogor, Loka Pengkajian Teknologi Pertanian Natar. 12p.
- Sutiya, B., Istikowati, W.T., Rahmadi, A. & Sunardi (2012) Kandungan Kimia dan Sifat Serat Alang-alang (*Imperata cylindrica*) sebagai Gambaran Bahan Baku Pulp dan Kertas. *Bioscientiae*. 9 (1), 8–19.
- Tjokrowardojo, A.S., Maslahah, N. & Gusmaini (2010) Pengaruh Herbisida dan Fungi Mikoriza Arbuskula Tanaman Artemisia (*Artemisia annua* L.). *Bul Littro*. 21 (2), 103–116.
- Trisawa, I.M., Rauf, A. & Kartosuwondo, U. (2007) Biologi Parasitoid *Anastatus dasyni* Ferr

(Hymenoptera: Eupelmidae) pada Telur *Dasynus piperis* China (Hemiptera: Coreidae). *HAYATI Journal of Biosciences*. 14 (3), 81–86.

Untung, K. (2000) *Pengantar Pengelolaan Hama Terpadu*. Yogyakarta, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.

Yudiyanto, Y., Qayim, I., Munif, A., Setiadi, D. & Rizali, A. (2014) Keanekaragaman dan Struktur Komunitas Semut pada Perkebunan Lada di Lampung. *Jurnal Entomologi Indonesia*. 11 (2), 65–71. doi:10.5994/jei.11.2.65.

**THE EFFECT OF ESSENTIAL OIL MIXTURES ON MORTALITIES AND OVIPOSITION
DETERRENTS OF *Crocidolomia pavonana* AND *Helopeltis antonii***
Pengaruh Campuran Minyak Atsiri terhadap Mortalitas dan Penghambatan Peneluran
Crocidolomia pavonana* dan *Helopeltis antonii

Tri Lestari Mardiningsih dan Rodiah Balfas

Indonesian Spices and Medicinal Crops Research Institute

Jalan Tentara Pelajar No. 3 Bogor 16111

Telp 0251-8321879 Faks 0251-8327010

tri_mardiningsih@yahoo.com

(diterima 21 Maret 2017, direvisi 04 April 2017, disetujui 12 Mei 2017)

ABSTRACT

Essential oil, such as citronella, lemongrass, ageratum, and clove are known to be toxic and repel certain pests. Mixing two or more essential oils are expected increasing their insecticidal properties. The experiments aimed to examine the effect of essential oils mixtures (EOs) on mortalities and oviposition deterrents of *Crocidolomia pavonana* and *Helopeltis antonii*. The experiments were conducted at the laboratory and green house of the Indonesian Spices and Medicinal Crops Research Institute. The tested mixtures were citronella and clove (CiC); lemongrass and clove (LC); ageratum and clove (AC); individual EO; control 1 (water + emulsifier); control 2 (water) at 0.5% concentration for all treatments. The ratio used were 1:1, 1:2, 1:4, 2:1 and 4:1. Parameters observed were the mortalities of *C. pavonana* larvae and *H. antonii* nymphs; and the ovipositions deterrents of both insects. The CiC and LC mixtures gave low mortality (<50%) to *C. pavonana* larvae, while AC at ratios 1:1, 1:2, 1:4 less than 20%, AC 2:1 and 4:1 >60% and the individual ageratum oil caused 77.5% mortalities. The CiC 1:1 and LC (1:1, 1:2, and 4:1) showed >40% mortalities of *H. antonii*, whereas the AC in all ratios enhanced the nymph mortalities. The number of eggs laid by *C. pavonana* at CiC and LC in all ratios were around 50-60% lower than individual EO. The mixture of AC 1:4 and 4:1 produced eggs nearly 50% lower than clove treatment. The CiC and LC at 1:1 produced the lowest numbers of egg laid by *H. antonii*, while AC 1:4 reduced 70% eggs laid compared to individual EO.

Key words: *Crocidolomia pavonana*, *Helopeltis antonii*, mixtures ratio

ABSTRAK

Minyak atsiri (MA) bersifat toksik dan repelen terhadap hama tertentu. Pencampuran dua atau lebih MA dapat meningkatkan daya kerja sifat insektisidanya. Percobaan bertujuan untuk mengetahui pengaruh campuran MA terhadap mortalitas dan penghambatan peneluran *Crocidolomia pavonana* dan *Helopeltis antonii*. Campuran yang diuji adalah minyak serai wangi dan cengkeh (SWCK), minyak serai dapur dan cengkeh (SDCK); minyak babadotan dan cengkeh (BBCK); MA tunggal; kontrol 1 (air + emulsifier), kontrol 2 (air). Rasio campuran yang diuji adalah 1:1, 1:2, 1:4, 2:1 dan 4:1. Parameter yang diamati adalah mortalitas larva *C. pavonana* dan nimfa *H. antonii* serta penghambatan peneluran pada kedua serangga. Campuran SWCK dan SDCK memberikan mortalitas ulat *C. pavonana* <20%, tidak berbeda nyata dengan mortalitas pada perlakuan MA tunggal. Pengujian dengan campuran BBCK juga tidak menunjukkan mortalitas yang tinggi, mortalitas tertinggi diperoleh pada perlakuan minyak babadotan. Campuran SWCK 1:1 dan SDCK (1:1, 1:2, dan 4:1) memberikan mortalitas tinggi pada nimfa *H. antonii* dan berbeda nyata dengan hasil pengujian MA tunggal. Pengujian terhadap penghambatan peneluran *C. pavonana* menunjukkan campuran SWCK dan SDCK pada semua perbandingan menurunkan jumlah telur 50-60% dari jumlah telur pada perlakuan MA tunggal. Pada pengujian terhadap *H. antonii*, campuran SWCK dan SDCK 1:1 mengurangi jumlah telur yang dihasilkan 50% dari perlakuan MA tunggal. Campuran BBCK 1:4 menurunkan jumlah telur 70% dari jumlah telur pada perlakuan MA tunggal.

Kata kunci: *Crocidolomia pavonana*, *Helopeltis antonii*, rasio campuran

INTRODUCTION

Crociodolomia pavonana is one of the important insect pests of Cruciferae plants. They often cause heavily damage on the plants especially in the dry season. Approximately 70% of cabbage farmers spent 25-30% of their input cost for pesticides (Dadang and Prijono 2010). On the other hand, *Helopeltis antonii* is the most important pest of cashew. The damages caused by *H. antonii* could reach 60% and higher due to plant pathogen infection following their attack. The injures as a result of *H. antonii* punctures will ease infection of *Pestalotiopsis* sp. fungi (Karmawati and Mardiningsih 2005). The unavailability of food resources during dry season will decrease and could eliminate *H. antonii* population (Siswanto *et al.* 2008).

To minimize adverse effect of synthetic insecticides, the use of botanical insecticides have been performed to control *C. pavonana* in the field. The use of *Piper retrofractum* and *Annona squamosa* (RS) extract mixtures and *Aglaia odorata* and *A. squamosa* (OS) extract mixtures at 0.1% were effective against *C. pavonana* larvae. Fortunately, these formulations indicated no effect on the presence of both parasitoids, *Dia-degma semiclausum* and *Eriborus argentiopilosus*. The application of these formulation could reduce cabbage damage compared to deltamethrin treatment. Moreover, treatments with RS 0.1% produced the highest cabbage yield (Dadang *et al.* 2009).

The botanical pesticide to control *Helopeltis* spp. were easy to be applied by farmers and environmentally friendly (Karmawati 2010). Willis *et al.* (2013b) reported neem oil and the formulation of citronella oil + clove oil + jatropha oil significantly reduced damage intensity of *Helopeltis* sp.

Some essential oils (EOs) have been recognized as an important natural source of pesticides (Koul *et al.* 2008). EOs acted to alter insect feeding behavior, growth and development,

ecdysis (molting) and behavior during mating and oviposition (Khater 2012).

EOs such as lemongrass, eucalyptus, rosemary, vetiver, clove, citronella, and thyme are known for their pest control properties (Koul *et al.* 2008). The application of citronella oil on chili pepper plants could inhibit egg laying and hatching of *Heliothis armigera* in laboratory. Furthermore, the application of citronella oil in the field reduced fruit damage of chili pepper as well as increased the yield (Setiawati *et al.* 2011). Citronella oil at 5 ml.l⁻¹ also was able to hamper the level of *Dasynus piperis* attack on pepper plantation in Bangka. The result of the pepper yield loss was equivalent to synthetic organophosphate insecticide (Rohimatun and Laba 2013). The other research revealed that spraying ginger plants with neem oil and citronella oil, could suppress populations of *Mimegralla coeruleifrons* 90 and 60% respectively (Balfas *et al.* 2013). The oil of citronella, lemongrass, ageratum, Java turmeric, and neem caused mortalities and oviposition deterrent to *C. pavonana* (Balfas and Mardiningsih 2016). Beside causing mortalities, EOs also can act as insect repellent such as clove extract on *Lophobaris piperis* (Wiratno 2008). In addition, eugenol in clove oil has repellent activity and fumigant action against *Tribolium castaneum* (Abo-El-Saad *et al.* 2011).

Currently, commercial plant protection products comprising proprietary mixtures of terpenes as active ingredient are available (Isman 2000). Creating the synergistic EOs combination is to reduce the dose of potentially polluting substances and the risk of resistance development (Tripathi *et al.* 2009). In addition, compared to individual usage, mixing the plant material in pest control can reduce the dependence on one plant material usage (Dadang and Prijono 2010). Moreover, a synergistic phenomenon among metabolites of EOs may result in higher biological activity, as minor constituents in low percentages may act as a synergists, enhancing the effectiveness of the major constituents through

variety of mechanisms (Barembaum 1985 in Khater 2012). EOs combination such as thyme, anise, and saffron have been demonstrated for its synergistic activity (Yasser 1997 in Tripathi *et al.* 2009).

A mixture of citronella, clove, and neem oil applied on cocoa plantations showed less yield loss caused by cocoa pod borer than individual EO (Willis *et al.* 2013a). However, there is still limited information or supporting data associated with the use of EOs as a mixture and their biological activities on arthropod insects. As a mixture, the ratio between the plant extract is very important to be examined to obtain its synergistic effect, effectiveness and efficiency in controlling pest (Dadang and Priyono 2010). In the previous study, ageratum, citronella, clove, and lemongrass indicated toxic and possed oviposition deterrent effect on *C. pavonana* (Balfas and Mardiningsih 2016). Mixing two of them in certain ratio were expected to provide higher biological action. The present study aimed to evaluate the potential of EOs mixture (ageratum, citronella, clove and lemongrass) in various ratios on the mortalities and oviposition deterrent of *C. pavonana* and *H. antonii*.

MATERIALS AND METHODS

Plant materials

The origin and distillation process of ageratum, citronella, clove, and lemongrass used in this experiment were described in Table 1. The EOs from these plants were extracted using steam distillation (Balittro 2008). The chemical contents of each EOs were analyzed with GC-MS at The

Health Laboratory of Jakarta.

Essential oil mixture

Two different EOs were mixed, citronella and clove (CiC), lemongrass and clove (LC), and ageratum and clove (AC). Individual EOs (ageratum, citronella, clove, lemongrass), water + emulsifier and water were used as control. Stock solutions were prepared by mixing the two EOs at the ratio of 1:1, 1:2, 1:4, 2:1, 4:1, and single EOs. Both the mixtures or single solution were added with commercial emulsifier, wetting agent, and thickener containing alkyl glycerol ftalat 750g.l⁻¹. In every 5 ml EOs was added 400 µl alkyl glycerol ftalat (recommended dose). In all treatments, the concentration of the oil was tested at 0.5% by mixing 50 µl stock solution in 10 ml distilled water.

Preparation of targetted plants and insects

C. pavonana

Broccoli was used to feed the insects. The seeds were sown on growing media and transplanted into polybags after one month. The leaves were ready to feed insects test (*C. pavonana* larvae) at 2-3 months after transplanting. *C. pavonana* larvae were collected from broccoli plantation at Cisarua, Bogor and mass-reared in the green house of Indonesian Spice and Medicinal Research Institute (ISMCR). The emerging adults were transferred into cages containing broccoli plants. The eggs were collected and put into small boxes. The newly emerging larvae were fed on broccoli leaves. Three-day-old larvae were used in mortality tests, while the three day-old adults were used for oviposition deterrent tests.

Table 1. Plant materials used in the study.

Tabel 1. Bahan tanaman yang digunakan dalam penelitian.

Plant material	Origin and distillation process
Clove	Leaves were obtained from Leuwiliang and distilled at The Testing Laboratory of Indonesian Spices and Medicinal Crops Research (ISMCR), Bogor
Citronella	The leaves and stems were distilled at Manoko Research Installation, Lembang, Bandung
Lemongrass	Leaves and stems were distilled at Manoko Research Installation, Lembang, Bandung
Ageratum	Leaves, branches, and flowers were originated from Cimanggu Research Installation, Bogor and distilled at The Testing Laboratory of ISMCR, Bogor

H. antonii

Nymph and adults of *H. antonii* were collected from tea plantation of PTPN VIII, Gedeh, Cianjur, West Java. They were mass-reared at the green house of ISMCRI. Cucumbers bought from Pasar Anyar market, Bogor, were washed and dried, then put in plastic container. The collected *H. antonii* were transferred into the container and fed on the cucumber. The cucumber were replaced with the fresh ones every three days. The three-days old nymphs were used in mortality tests, while the emerging adults were placed in one container and the three-day old ones were used in oviposition deterrent tests.

The effect of EOs on mortalities of *C. pavonana* larvae and *H. antonii* nymphs

The experiments were arranged in completely randomized block designs (CRBD) with nine treatments and repeated four times. Broccoli leaves were cut 7 cm x 7 cm, then dipped in 0.5 ml solution (5 ml EOs stock solutions in 1.000 ml aquadest). The treated leaves were placed on a tray and drained up from the solution. The three-day old larvae of *C. pavonana* were placed in a small box (10 larvae/box) containing one treated leaf. The larvae mortality was observed at the first, second, and third days after treatment.

The 3/4 instar nymphs of *H. antonii* were placed in a small box with 14 cm in diameter (10 nymphs/box) and directly sprayed with the tested solution and then transferred into the container containing one cucumber and covered with cloth. The observations of nymph mortality was performed at the first, second, and third days after treatment.

The effect of EOs on oviposition deterrent

The experiments were also arranged in randomized complete block designs (RCBD) with with nine treatments and replicated four times.

C. pavonana

A total of 5-10 pairs of adult insects were put, using a plastic bootle, into a net cage con-

taining broccoli plant to encourage the adult mating for three days. Five plants were sprayed using a small sprayer (2.3 cm in diameter and 8 cm in height) with EOs solution, then placed in the net cage contained three-days old insect. Three pairs of three-days old adult were put into the cage. The number of eggs laid by the adults was observed for eight days.

H. antonii

Newly emerged adults were paired in a container (14 cm in diameter and 13 cm in height). Cucumber was sprayed with the tested solution and dried up, then placed in a container. The three-day old adults were placed in it. The observations were done on the number of eggs laid by the adults.

Data were analyzed with analysis of variance (ANOVA) using SAS System and further analysis was completed with Duncan's multiple range test (DMRT) at 0.05 level. The effective repellency (ER) for each EOs was calculated with formula as follow (Setiawati *et al.* 2011).

$$ER (\%) = \frac{NC - NT}{NC} \times 100\%$$

Note/Keterangan :

- ER = percent effective repellency/persen effectif repellency.
- NC = numbers of egg in control (+ emulsifier)/jumlah telur pada kontrol (+ emulsifier).
- NT = numbers of egg in treatment/jumlah telur dalam perawatan.

RESULTS AND DISCUSSION

Chemical compositions of the tested essential oils

The chemical components (the content >1%) of EOs used in these studies were presented in Table 2. The ageratum oil contained 31 components, the major components were procene II (40.05%), trimethyl-8-methylene (20.23%) and demethoxyageratochromene (18.64%). The chemical composition of ageratum oil in this study was different from previous study in China. Liu and Liu (2014) reported there were 32 major com-

Table 2. Main chemical content of the essential oils used in the study.

Tabel 2. Kandungan kimia utama dari minyak atsiri yang digunakan dalam penelitian.

Essential oils	The chemical components more than 1% content
Ageratum	Trimethyl-8-methylene(20.23%), demethoxyageratochromene (18.64%), procene II (40.05%), beta selinene (1.58%), z-beta farnesene (2.3%), germacrene (1.01%), lepidozene (1.66%), alpha-farnesene (1.41%), 6-methylene-1-cyclohexenr (2.97%), p-Allylguaiaicol (1.21%), n-methylaniline (1.43%)
Citronella	citronellal (44.85%), citronellol (11.92%), trans-geraniol (11.04%), tetracyclo (6.12%), isopropyl linoleate (6.12%), limonene (3.47%), 1,6-octadien-3-ol (1.03%), Isopulegol (1.12%), cyclohexene (3.47%), 2,6-octadien (2.8%), geraniol acetate (2.40%), caryophyllene (1.77%), germacrene D (1.14%), delta-cadinene (1.30%), octadecadienoic acid (2.55%), linolsaeure (2.41%), naphthalenone (1.33%), Farnesol isomer A (1.40%)
Clove	Eugenol (77.54%), beta-caryophyllene (18.38%), alpha- caryophyllen (2.18%), beta-caryophyllene epoxide (1.15%)
Lemongrass	1,6-octadiene (7.24%), citronellal (6.85%), cis-citral (20.74%), transcitral (28.58%), citronellol (5.69%), octadien-1-ol (7.91%), 5-hepten-2-one (4.03%), trimethyl-8-methylenebicyclo (2.98%), delta-cadinene 1.95%), dimethyl -2,6-octadienyl acetate (1.72%)

ponents in ageratum oil, the main components were precocene II (45.75%), precocene I (14.09%), and caryophyllene (12.13%) followed by germacrene D (4.18%) and caryophyllene oxide (4.06%).

Citronella oil consisted of 39 components, the major components were citronellal (44.85%), citronellol (11.92%), trans-geraniol (11.04%). However, Setiawati *et al.* (2011) revealed citronella oil consisted of 34 components with the major components were citronella (35.97%), nerol (17.28%), and citronellol (10.03%). As for clove oil, it contained seven components with the main components were eugenol (77.54%). It was higher than other study by Bhuiyan *et al.* (2010) which reported the eugenol content of clove oil was 74.3%. The main components of lemongrass oil were essential oil and citral content (Tajidin *et al.* 2012).

The composition of EOs varied depend on the isolation method. Distillation may influence the composition of the isolated oil, because isomerization, saponification, and other reaction might occur under distillation conditions (Tripathi *et al.* 2009). In addition, the chemical profile of plant species could vary naturally depending on geographic, genetic, climatic, and annual or seasonal factors (Koul *et al.* 2008).

The effect EOs on mortality of *C. pavonana* larvae

The results of the experiment with CiC showed that all ratios of the mixture, as well as the individual EO, generated low larva mortalities (less than 21%) on *C. pavonana* larvae at the first, second, and third days after application (Table 3).

There were no significant differences among all the EO treatments. The similar results were also shown in the experiment with LC. These suggested that combination of citronella and clove as well as lemongrass and clove oils were unable to increase the mortalities of *C. pavonana* larvae (Table 4).

However, the previous result indicated high mortalities on *C. pavonana* larvae treated with citronella and lemongrass (Balfas and Mardiningsih 2016). This may be due to the difference in the sensivity of the insect test. Furthermore, the active ingredients content in the previous study was different from this study. There was also no information on the harvesting time of the plants. Tajidin *et al.* (2012) informed that plant maturity affected essential oil and citral contents of lemongrass.

However, the highest larva mortalities was generated by ageratum, followed by the AC at ratio of 4:1 and 2:1 (Table 5). This implied ageratum oil alone was toxic to the larvae and

mixing it with clove oil had no significant effect in increasing larvae mortalities. The previous results also showed high mortality effect of ageratum oil on *Spodoptera litura* larvae and *C. pavonana* larvae at 0.5% concentration (Balfas and Willis 2009; Balfas and Mardiningsih 2016). The application of ageratum oil at 0.5% concentration on maize leaf could control 70% *Spodoptera frugiperda* (Lima et al. 2010). The EO of ageratum aerial parts at the flowering stage was

demonstrated possessed larvicidal activity against mosquito *Aedes albopictus*. Thus, it had potential as natural larvicide for mosquito control, although still required further evaluation for its safety to human and further research to evaluate its mode of action to enhance its effectiveness against the target species (Liu and Liu 2014). Ageratum oil was also known as fumigant against insect in grain storage, *Tribolium castaneum* Herbst (Jaya et al. 2014).

Table 3. Mortalities of *C. pavonana* larvae at different mixture ratios of citronella and clove oil at 0.5% in water-emulsifier (v/v).

Tabel 3. Mortalitas larva *C. pavonana* pada beberapa perbandingan campuran minyak serai wangi dan minyak cengkeh dalam pengemulsi 0,5% (v/v).

Treatments (ratio)	Mortalities (%), days after treatments		
	1	2	3
Citronella : clove (1:1)	5.0 ab	10.0 ab	10.0 ab
Citronella : clove 1:2	5.0 ab	10.0 ab	12.5 ab
Citronella : clove 1:4	7.5 ab	12.5 ab	15.0 a
Citronella : clove 2:1	5.0 ab	12.5 ab	15.0 a
Citronella : clove 4:1	5.0 ab	10.0 ab	12.5 ab
Citronella	7.5 ab	10.0 ab	20.0 a
Clove	15.0 a	20.0 a	20.0 a
Control (water + emulsifier)	0.0 b	0.0 b	2.5 b
Control (water)	2.5 b	2.5 b	2.5 b
CV (%)	17.7	21.3	41.8

Note: Numbers followed by the same letters at the same column were not significantly different at DMRT 5%

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada taraf DMRT 5%.

Table 4. Mortalities of *C. pavonana* larvae at different mixture ratios of lemongrass and clove oil at 0.5% in water-emulsifier (v/v).

Tabel 4. Mortalitas larva *C. pavonana* pada beberapa perbandingan campuran minyak serai dapur dan minyak cengkeh dalam pengemulsi 0,5% (v/v).

Treatments	Mortalities (%), days after treatments		
	1	2	3
Lemongrass: clove 1:1	2.5 a	2.5 a	2.5 a
Lemongrass: clove 1:2	0.0 a	0.0 a	5.0 a
Lemongrass: clove 1:4	0.0 a	2.5 a	2.5 a
Lemongrass: clove 2:1	0.0 a	0.0 a	0.0 a
Lemongrass: clove 4:1	2.5 a	5.0 a	5.0 a
Lemongrass	5.0 a	5.0 a	7.5 a
Clove	0.0 a	2.5 a	2.5 a
Control (water + emulsifier)	0.0 a	0.0 a	0.0 a
Control (water)	2.5 a	2.5 a	2.5 a
CV (%)	11.5	15.8	15.8

Note: Numbers followed by the same letters at the same column were not significantly different at DMRT 5%.

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada taraf DMRT 5%.

The effect EOs on the mortality of *H. antonii* nymphs

Unlike the results test on *C. pavonana* larvae, the mixing of two EOs gave significant effect in increasing the mortalities of *H. antonii* nymphs. The CiC mixture at 1:1 gave the highest mortalities, significantly higher than citronella and clove applied individually (Table 6). The application of LC at 1:1, 1:2 and 4:1 also performed higher mortalities than the individual oil appli-

cation (Table 7), The result also was similar for AC mixtures day.

Effect on oviposition deterrent of *C. pavonana*

The numbers of egg laid by *C. pavonana* adults treated with mixtures of citronella and clove oil significantly different from other treatments. Effective repellency (ER) of the mixture was 49-60%, while the ER of individual citronella and clove oil were 25.9% and 15.3% res-

Table 5. Mortalities of *C. pavonana* larvae at different mixture ratios of ageratum and clove oil at 0.5% in water-emulsifier (v/v).

Tabel 5. Mortalitas larva *C. pavonana* pada beberapa perbandingan campuran minyak babadotan dan minyak cengkeh dalam pengemulsi 0,5% (v/v).

Treatments	Mortalities (%), days after treatment		
	1	2	3
Ageratum : clove 1:1	20.0 bc	27.5 b	32.5 b
Ageratum : clove 1:2	2.5 c	2.5 c	2.5 c
Ageratum : clove 1:4	10.0 c	10.0 c	12.5 bc
Ageratum : clove 2:1	37.5 ab	57.5 a	60.0 a
Ageratum : clove 4:1	30.0 ab	62.5 a	67.5 a
Ageratum	67.5 a	72.5 a	77.5 a
Clove	10.0 c	10.0 c	12.5 c
Control (water + emulsifier)	0.0 c	0.0 c	12.5 bc
Control (water)	2.5 c	2.5	2.5 c
CV (%)	26.4	21.1	20.4

Note: Numbers followed by the same letters at the same column were not significantly different at DMRT 5%.

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada taraf DMRT 5%.

Table 6. Mortalities of *H. antonii* nymphs at different mixture ratios of citronella and clove oil at 0.5% in water-emulsifier (v/v).

Tabel 6. Mortalitas nimfa *H. antonii* pada beberapa perbandingan campuran minyak serai wangi dan minyak cengkeh dalam pengemulsi 0,5% (v/v).

Teatments	Mortalities (%), days after treatment		
	1	2	3
Citronella : clove (CiC)1:1	46.0 a	58.0 a	64.0 a
Citronella : clove (CiC)1:2	4.0 bc	6.0 de	6.0 ef
Citronella : clove (CiC) 1:4	14.0 abc	20.0 ab	20.0 bcd
Citronella : clove (CiC) 2:1	16.0 abc	24.0 bc	24.0 bc
Citronella : clove (CiC) 4:1	22.0 ab	30.0 ab	30.0 b
Citronella	2.0 c	10.0 cde	12.0 cde
Clove	12.0 bc	18.0 bcd	18.0 bcde
Control (water + emulsifier)	10.0 bc	12.0 e	12.0 cde
Control (water)	0.0 c	0.0 e	0.0 def
CV (%)	29.6	22.2	19.7

Note: Numbers followed by the same letters at the same column were not significantly different at DMRT 5%.

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada taraf DMRT 5%.

Table 7. Mortalities of *H. antonii* nymphs at different mixture ratios of lemongrass and clove at 0.5% in water-emulsifier (v/v).Tabel 7. Mortalitas nimfa *H. antonii* pada beberapa perbandingan campuran minyak serai dapur dan minyak cengkeh dalam pengemulsi 0,5% (v/v).

Treatments	Mortalities (%), days after treatment		
	1	2	3
Lemongrass : clove (LC) 1:1	45.0 a	47.5 a	47.5 a
Lemongrass : clove (LC) 1:2	37.5 ab	45.0 a	47.5 a
Lemongrass : clove (LC) 1:4	20.0 bc	20.0 b	22.5 b
Lemongrass : clove (LC) 2:1	22.5 bc	32.5 ab	35.0 ab
Lemongrass : clove (LC) 4:1	50.0 a	50.0 a	50.0 a
Lemongrass	15.0 c	37.5 ab	20.0 b
Clove	32.5 ab	22.5 b	37.5 ab
Control (water + emulsifier)	0.0 d	0.0 c	2.5 c
Control (water)	0.0 d	0.0 c	0.0 c
CV (%)	26.9	27.6	25.6

Note: Numbers followed by the same letters at the same column were not significantly different at DMRT 5%.

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada taraf DMRT 5%.

Table 8. Mortalities of *H. antonii* nymphs at different mixture ratios of ageratum and clove oil 0.5% in water-emulsifier (v/v).Tabel 8. Mortalitas nimfa *H. antonii* pada beberapa perbandingan campuran minyak babadotan dan minyak cengkeh dalam pengemulsi 0,5% (v/v).

Treatments	Mortalities (%), days after treatment		
	1	2	3
Ageratum : clove (AC) 1:1	66.0 a	66.0 c	66.0 b
Ageratum : clove (AC) 1:2	38.0 bc	48.0 ab	52.0 ab
Ageratum : clove (AC) 1:4	58.0 ab	62.0 bc	66.0 a
Ageratum : clove (AC) 2:1	36.0 bc	56.0 a	56.0 b
Ageratum : clove (AC) 4:1	54.0 ab	60.0 bc	62.0 ab
Ageratum	28.0 c	36.0 bc	38.0 b
Clove	22.0 bc	36.0 bc	38.0 b
Control (water + emulsifier)	0.0 d	0.0 c	0.0 b
Control (water)	0.0 d	0.0 c	0.0 b
CV (%)	21.4	19.5	10.6

Note: Numbers followed by the same letters at the same column were not significantly different at DMRT 5%.

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada taraf DMRT 5%.

pectively (Table 9). The result was similar to lemon grass and clove treatment (Table 10). All mixtures of the two EOs produced the same response in reducing numbers of egg laid by the adults. The ER of the mixture EOs were 52–56%, while ER of indi-

vidual lemongrass and clove oil were 25%. The numbers of egg laid resulted from individual EO were double the mixture ones. The mixture of ageratum and clove oil at 1:4 and 4:1 resulted in the lowest the numbers of egg laid (Table 11).

Table 9. Number of *C. pavonana* egg groups laid at different mixture ratios of citronella and clove oil at 0.5% in water-emulsifier (v/v);

Tabel 9. Jumlah kelompok telur yang diletakkan *C. pavonana* pada beberapa perbandingan campuran minyak serai wangi dan minyak cengkeh dalam pengemulsi 0,5% (v/v).

Treatments	Number of eggs laid (days after treatments)				ER* (%)
	2	4	6	8	
Citronella : clove 1:1	2.25 bc	6.00 d	8.50 d	8.75 d	58.8
Citronella : clove 1:2	1.25 c	4.75 d	7.50 d	8.50 d	60.0
Citronella : clove 1:4	2.75 bc	5.25 d	8.00 d	8.75 d	58.8
Citronella : clove 2:1	2.25 bc	6.75 cd	8.75 d	10.75 d	49.4
Citronella : clove 4:1	1.50 c	4.75 d	7.75 d	9.75 d	54.1
Citronella	3.50 b	9.75 b	13.75 c	15.75 c	25.9
Clove	2.50b bc	9.25 bc	15.00 bc	18.00 bc	15.3
Control water + emulsifier)	6.50 a	14.50 a	22.00 a	23.00 a	
Control (water)	6.25 a	13.50 a	19.25 ab	21.25 ab	
CV (%)	34.15	36.16	55.41	20.88	

Note: Numbers followed by the same letters at the same column were not significantly different at DMRT 5%.

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada taraf DMRT 5%.

*ER = percent effective repellency/persentase efektivitas repelensi.

Table 10. Number of *C. pavonana* egg groups laid at different mixture ratios of lemongrass and clove oil at 0.5% in water-emulsifier (v/v).

Tabel 10. Jumlah kelompok telur yang diletakkan *C. pavonana* pada beberapa perbandingan campuran minyak serai dapur dan minyak cengkeh dalam pengemulsi 0,5% (v/v).

Treatments	Number of egg laid (days after treatments)				ER* (%)
	2	4	6	8	
Lemongrass : clove 1:1	2.00 cd	5.50 c	8.75 c	9.50 c	46.50
Lemongrass : clove 1:2	0.75 d	4.75 c	7.75 c	8.35 c	53.00
Lemongrass : clove 1:4	0.75 d	4.00 c	6.75 c	7.50 c	57.80
Lemongrass : clove 2:1	1.00 d	4.50 c	8.25 c	8.50 c	52.10
Lemongrass : clove 4:1	1.00 d	3.50 c	6.50 c	7.75 c	56.30
Lemongrass	3.75 bc	8.75 b	12.00 b	13.25 b	25.35
Clove	3.00 bc	8.00 b	12.50 b	13.25 b	25.35
Control (water + emulsifier)	6.75 a	12.50 a	17.25 a	19.75 a	
Control (water)	4.50 b	9.50 b	15.25 a	17.75 a	
CV (%)	47.12	20.04	17.39	17.57	

Note: Numbers followed by the same letters at the same column were not significantly different at DMRT 5%.

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

*ER = percent effective repellency/persentase efektivitas repelensi.

Table 11. Number of *C. pavonana* egg groups laid at different mixture ratios of ageratum and clove oil at 0.5% in water-emulsifier (v/v).Tabel 11. Jumlah kelompok telur yang diletakkan *C. pavonana* pada beberapa perbandingan campuran minyak babadotan dan minyak cengkeh dalam pengemulsi 0,5% (v/v.)

Treatments	Numbers of eggs laid (days after treatments)				ER* (%)
	2	4	6	8	
Ageratum : clove 1:1	2.50 d	6.25 b	10.75 b	13.0 bc	40.2
Ageratum : clove 1:2	5.25 bc	9.25 b	13.00 b	15.50 b	28.7
Ageratum : clove 1:4	3.50 cd	6.50 b	10.00 b	11.00 c	49.4
Ageratum : clove 2:1	4.25 cd	8.25 b	11.50 b	13.00 bc	40.2
Ageratum : clove 4:1	2.50 d	6.75 b	9.75 b	11.50 c	47.1
Ageratum	4.50 bcd	9.50 b	12.75 b	16.00 b	26.4
Clove	5.75 abc	14.75 a	19.75 a	21.75 a	10.3
Control (water)	6.75 ab	13.75 a	18.25 a	22.00 a	
Control (water+emulsifier)	8.00 a	14.25 a	19.25 a	24.25 a	
CV (%)	31.29	21.04	18.67	13.89	

Note: Numbers followed by the same letters at the same column were not significantly different at DMRT 5%.

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada taraf DMRT 5%.

*ER = percent effective repellency/persentase efektivitas repelensi.

The effect of EOs on oviposition deterrent of *H. antonii*

The mixture of citronella and clove oil 1:1 gave the highest deterrent effect on the oviposition of *H. antonii*, indicated by its lowest number of egg laid. The ER was 63.3% and much higher than other EO treatments (Table 12). The lowest number of eggs laid also was presented by lemongrass and clove 1:1 although indicated no significant differences compared to the ratio of 1:4, 2:1, and 4:1 (Table 13). All ratio of ageratum and clove mixtures were able to reduce the number of the egg laid with ERs ranged 53-76%. However, the treatments of ageratum and clove individually only produced ER 21.7% and 26.3% respectively (Table 14).

These studies revealed that mixing the EOs could increase the mortalities of *H. antonii* nymphs nearly twice than individual EO. However, the EOs mixing generated low mortalities on *C. pavonana* larvae. Cloyd *et al.* (2009) stated that the commercially plant-derived essential oil products vary in their effectiveness against certain arthropod pests. In this study, the high mortalities

occurred at one day after application. There were only few additional mortalities at the second and third day after treatments. The rapid action of EOs against some pests was the result of neurotoxic mode of action by blocking neuromodulator octamine (OA) receptors (Kostyukovsky *et al.* 2002 in Koul *et al.* 2008; Rattan 2010). The OA was a target for essential oil activity in insects due to its key roles as a neurotransmitter, neuromodulator and neurohormone in invertebrates system (Evans 1981 in Rattan 2010). Interrupting the OA function resulted in total disruption of nervous system in insect (Tripathi *et al.* 2009). Furthermore, this insecticidal mechanism of EO occurred on eugenol and citronella (Rattan 2010).

The mixing of EOs also reduced the number of egg laid about 50% than individual EO. Thus, the use of EO mixtures gave better control than individual EO. The EO from leaves and stem of *Piper marginatum* exhibited significant oviposition deterrent effect at 50 and 100 ppm by reducing numbers of eggs laid (<50%) by *Aedes aegypti* in glass vessels compared to control solution (Autran *et al.* 2009). Those EO mixtures are promising alternatives for pest control to mini-

Table 12. Number of *H. antonii* eggs laid at different mixture ratios of citronella and clove oil at 0.5% in water-emulsifier (v/v).Tabel 12. Jumlah telur yang diletakkan *H. antonii* pada beberapa perbandingan campuran minyak serai wangi dan minyak cengkeh dalam pengemulsi 0,5% (v/v).

Treatments	Number of eggs laid (days after treatments)				ER* (%)
	2	4	6	Total	
Citronella : clove 1:1	7.50 c	9.50 a	7.75 c	24.75 a	63.3
Citronella : clove 1:2	15.75 bc	14.50 b	8.50 bc	41.25 b	38.9
Citronella : clove 1:4	18.25 b	16.25 bc	11.25 bc	45.75 bc	32.2
Citronella : clove 2:1	19.75 b	17.50 bc	12.25 bc	49.50 bc	26.7
Citronella : clove 4:1	15.25 bc	11.00 b	14.75 bc	41.00 b	39.3
Citronella	17.25 bc	16.50 bc	14.25 bc	48.00 bc	28,9
Clove	20.75 b	17.25 bcd	17.75 abc	53.25 bcd	21.1
Control (water + emulsifier)	24.75 ab	20.50 cd	22.25 ab	67.50 cd	
Control (water)	32.50 a	23.75 d	30.50 a	86.75 d	
CV (%)	34.15	36.16	55.41	20.28	

Note: Numbers followed by the same letters at the same column were not significantly different at DMRT 5%.

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada taraf DMRT 5%.

*ER = percent effective repellency/persentase efektivitas repelensi.

Table 13. Number of *H. antonii* eggs laid at different mixture ratios of lemongrass and clove oil at 0.5% in water-emulsifier (v/v).Tabel 13. Jumlah telur yang diletakkan *H. antonii* pada beberapa perbandingan campuran minyak serai dapur dan minyak cengkeh dalam pengemulsi 0,5% (v/v).

Treatments	Numbers of eggs laid (days after treatments)				ER* (%)
	2	4	6	Total	
Lemongrass : clove 1:1	10.50 d	33.25 c	35.75 c	79.50 e	57.3
Lemongrass : clove 1:2	33.50 bc	42.00 bc	44.00 bc	122.25 cd	34.7
Lemongrass : clove 1:4	25.25 cd	31.75 c	38.50 bc	95.50 de	48.7
Lemongrass: clove 2:1	19.25 cd	35.25 bc	38.25 bc	92.75 de	50.2
Lemongrass: clove 4:1	21.50 cd	44.50 abc	46.00 abc	112.00 cde	39.9
Lemongrass	16.25 cd	44.75 abc	58.25 abc	145.75 c	21.7
Clove	34.50 bc	56.75 ab	36.25 bc	137.25 c	26.3
Control (water + emulsifier)	49.50 ab	64.75 a	46.25 ab	186.25 b	
Control (water)	61.50 a	66.50 a	57.50 a	222.00 a	
CV (%)	37.90	36.16	55.41	20.48	

Note: Numbers followed by the same letters at the same column were not significantly different at DMRT 5%.

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada taraf DMRT 5%.

*ER = percent effective repellency/persentase efektivitas repelensi.

Table 14. Number of *H. antonii* eggs laid at different mixture ratios of ageratum and clove oil at 0.5% in water-emulsifier (v/v)Tabel 14. Jumlah telur yang diletakkan *H. antonii* pada beberapa perbandingan campuran minyak babadotan dan minyak cengkeh dalam pengemulsi 0,5% (v/v).

Treatments	Numbers of eggs laid (days after treatments)				ER* (%)
	2	4	6	Total	
Ageratum : clove 1:1	9.75 cd	20.00 de	18.25 bcd	48.00 d	53.5
Ageratum : clove 1:2	9.75 cd	14.50 e	14.75 cd	39.00 de	62.3
Ageratum : clove 1:4	6.50 c	9.75 e	8.75 d	25.00 e	75.8
Ageratum : clove 2:1	11.25 bcd	7.75 e	24.75 bcd	43.75 d	57.6
Ageratum : clove 4:1	5.50 cd	20.75 de	7.75 d	34.00 de	67.1
Ageratum	18.25 abc	20.75 de	32.00 abc	81.25 c	21.3
Clove	16.00 abcd	36.00 bc	27.75 abc	79.75 c	22.8
Control (water+ emulsifier)	20.25 ab	47.50 ab	35.50 ab	103.25 b	
Control (water)	24.00 a	52.25 a	43.50 a	119.75 a	
CV (%)	46.45	36.30	47.25	16.44	

Note: Numbers followed by the same letters at the same column were not significantly different at DMRT 5%.

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada taraf DMRT 5%.

*ER = percent effective repellency/persentase efektivitas repelensi.

mize the use of synthetic insecticides. Further studies are required to evaluate their activities under field condition. Tripathi *et al.* (2009) suggested that natural ingredients must be scientifically validated for its activity, efficacy and safety before making into formulation.

CONCLUSION

Mixtures of citronella and clove oil (CiC), lemongrass and clove oil (LC) at all ratios, and ageratum and clove oil (AC) at ratios of 1:1; 1:2; and 1:4 produced <50% mortalities of *C. pavonana* larvae. However, the mixtures of AC 2:1 and 4:1 produced >50% mortalities of *C. pavonana* larvae. Moreover, the mixtures of CiC 1:1; LC 1:1, 1:2, 4:1, and AC in all ratios caused >40% mortalities of *H. antonii*. The mixtures of CiC and LC at all ratios significantly reduced around 50-60% of the number eggs laid by *C. pavonana*, while AC 1:4 and 4:1 nearly decreased 50% of the number eggs laid. Similar results were also demonstrated in the tests with *H. antonii*. The CiC and LC mixtures at the ratio of 1:1 also gave the lowest numbers of egg laid by *H. antonii*, while the mixture of AC 1:4 diminished 70% of number of eggs laid. Further studies are required to evaluate their efficacy and

safety under field condition.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank Ir. Mahrita Willis, MSc. for the useful suggestions and Endang Sugandi for technical assistance during this study.

REFERENCES

- Abo-El-Saad, M.M., Al Ajlan, A.M., Al-Eid, M.A. & Bou-Khowh, I.A. (2011) Repellent and Fumigant Effects of Essential Oil From Clove Buds *Syzygium aromaticum* L. against *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Agricultural Science and Technology A*. 1, 613–620.
- Autran, E.S., Neves, I.A., Da Silva, C.S.B., Santos, G.K.N., Da Câmara, C.A.G. & Navarro, D. (2009) Chemical Composition, Oviposition Deterrent and Larvicidal Activities Against *Aedes aegypti* of Essential Oils from *Piper marginatum* Jacq. (Piperaceae). *Bioresource Technology*. 100 (7), 2284–2288. doi:10.1016/j.biortech.2008.10.055.
- Balfas, R. & Mardiningsih, T.L. (2016) Pengaruh Minyak Atsiri terhadap Mortalitas dan Penghambatan Peneluran *Crociodolomia pavonana* F. *Bul Littro*. 27 (1), 85–92.
- Balfas, R. & Willis, M. (2009) Pengaruh Ekstrak

- Tanaman Obat terhadap Mortalitas dan Kelangsungan Hidup *Spodoptera litura* F. (Lepidoptera, Noctuidae). *Bul Littro*. 20 (2), 148–156.
- Balfas, R., Willis, M. & Sugandi, E. (2013) *Potential of Botanical Insecticides for Controlling Rhizome Fly (Mimegralla coeruleifrons Macquart) on Ginger*. In: Rostiana, O. et al. (eds.) *Proceedings of the International Seminar on Spices, Medicinal, and Aromatic Plants (SMAPs)*. Bogor, Indonesian Agency for Agricultural Research and Development (IAARD), pp.153–157.
- Balittro (2008) *Penyulingan Minyak Atsiri dengan SBCS-1000*. Bogor, Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat, pp.24–25.
- Bhuiyan, M.N.I., Begum, J. & Akter, F. (2010) Constituents of The Essential Oil from Leaves and Buds of Clove (*Syzygium caryophyllum* (L.) Alston). *African Journal of Plant Science*. 4 (11), 451–454.
- Cloyd, R.A., Galle, C.L., Keith, S.R., Kalscheur, N.A. & Kemp, K.E. (2009) Effect of Commercially Available Plant-Derived Essential Oil Products On Arthropod Pests. *Journal of Economic Entomology*. 102 (4), 1567–1579.
doi:http://dx.doi.org/10.1603/029.102.0422.
- Dadang, Fitriyanti, E.D. & Priyono, D. (2009) Effectiveness of Two Botanical Insecticide Formulations to Two Major Cabbage Insect Pests on Field Application. *J. ISSAAS*. 15 (1), 42–51.
- Dadang & Priyono, D. (2010) *Insektisida Nabati: Prinsip, Pemanfaatan, dan Pengembangan*. Bogor, Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Isman, M.B. (2000) Plant Essential Oils for Pest and Disease Management. *Crop Protection*. 19 (8), 603–608.
- Jaya, Singh, P., Prakash, B. & Dubey, N.K. (2014) Insecticidal Activity of *Ageratum conyzoides* L. *Coleus aromaticus* Benth. and *Hyptis suaveolens* (L.) Poit Essential Oils as Fumigant against Storage Grain Insect *Tribolium castaneum* Herbst. *Journal of Food Science and Technology*. 51 (9), 2210–2215. doi:10.1007/s13197-012-0698-8.
- Karmawati, E. (2010) Pengendalian Hama *Helopeltis* spp. pada Tanaman Jambu Mete Berdasarkan Ekologi, Strategi dan Implementasinya. *Pengembangan Inovasi Pertanian*. 3 (2), 102–119.
- Karmawati, E. & Mardiningsih, T.L. (2005) Hama *Helopeltis* spp. pada Jambu Mete dan Pengendaliannya. *Perkembangan Teknologi Tanaman Rempah dan Obat*. 17 (1), 1–6.
- Khater, H.F. (2012) Prospects of Botanical Biopesticides in Insect Pest Management. *Pharmacologia*. 3 (12), 641–656.
doi:10.5567/pharmacologia.2012.641.656.
- Koul, O., Walia, S. & Dhaliwal, G.S. (2008) Essential Oils as Green Pesticides: Potential and Constraint. *Biopestic. Int.* 4 (1), 63–84.
- Lima, R.K., Cardoso, M. das G., Moraes, J.C., Andrade, M.A., Melo, B.A. & Rodrigues, V.G. (2010) Chemical Characterization and Insecticidal Activity of the Essential Oil Leaves of *Ageratum conyzoides* L. on Fall Armyworm *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). *Bioscience Journal*. 26 (1), 1–5.
- Liu, X.C. & Liu, Z.L. (2014) Evaluation of Larvicidal Activity of the Essential Oil of *Ageratum conyzoides* L. Aerial Parts and Its Major Constituents against *Aedes albopictus*. *Journal of Entomology and Zoology Studies*. 2, 345–350.
- Rattan, R.S. (2010) Mechanism of Action of Insecticidal Secondary Metabolites of Plant Origin. *Crop Protection*. 29 (9), 913–920.
- Rohimatun & Laba, I.W. (2013) Efektivitas Insektisida Minyak Serai Wangi dan Cengkeh terhadap Hama Pengisap Buah Lada (*Dasynus piperis* China). *Bul Littro*. 24 (1), 26–34.
- Setiawati, W., Murtiningsih, R. & Hasyim, A. (2011) Laboratory and Field Evaluation of Essential Oil from *Cymbopogon nardus* as Oviposition Deterrent and Ovicidal Activities against *Helicoverpa armigera* Hubner on Chili Pepper. *Indonesian Journal of Agricultural Science*. 12 (1), 9–16.
- Siswanto, M.R., Omar, D. & Karmawati, E. (2008) Life Tables and Population Parameters of *Helopeltis antonii* (Hemiptera: Miridae) Reared on Cashew (*Anacardium occidentale* L.). *Journal of Bioscience*. 19 (1), 91–101.
- Tajidin, N.E., Ahmad, S.H., Rosenani, A.B., Azimah, H. & Munirah, M. (2012) Chemical Composition and Citral Content in Lemongrass (*Cymbopogon*

citratu) Essential Oil at the Three Maturity Stages. *African Journal of Biotechnology*. [Online] 11 (11), 2685–2693. Available from: doi:10.5897/AJB11.2939.

Tripathi, A.K., Upadhyay, S., Bhuiyan, M. & Bhattacharya, P.R. (2009) A Review on Prospects of Essential Oils as Biopesticides In Insect-Pest Management. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*. 1 (5), 52–63.

Willis, M., Laba, I.W. & Rohimatun (2013a) Efektivitas Insektisida Sitronellal, Eugenol dan Azadirachtin terhadap Hama Penggerek Buah Kakao (*Conophomorpha cramerella*) (Snell.). *Bul Littro*. 24 (1), 19–25.

Willis, M., Rohimatun, Laba, I.W. & Nurjanani (2013b) Control of Cocoa Pod Borer (*Conophomorpha cramerella*) and Cocoa Pod Sucker (*Helopeltis* sp.) using Essential Oil-Based Insecticides. In: Rostiana, O. et al. (eds.) *Proceedings of the International Seminar on Spices Medicinal and Aromatic Plants (SMAPs)*. Bogor, Indonesia Agency for Agricultural Research and Development (IAARD), pp.115–120.

Wiratno (2008) *Effectiveness and Safety of Botanical Pesticides Applied in Black Pepper (Piper Nigrum) Plantations*. Wageningen University, Wageningen, the Netherlands.

SIKLUS HIDUP LARVA *Nyctemera coleta* DAN *Paliga auratalis* SEBAGAI HAMA PADA TANAMAN DAUN SAMBUNG NYAWA (*Gynura procumbens*)

The Life Cycle of Nyctemera coleta and Paliga auratalis in Gynura procumbens Leaf

Rismayani dan Rohimatus

Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat
Jalan Tentara Pelajar No. 3 Bogor 16111
Telp 0251-8321879 Faks 0251-8327010
risma16021985@gmail.com

(diterima 09 Januari 2017, direvisi 03 Maret 2017, disetujui 04 Mei 2017)

ABSTRAK

Sambung nyawa (*Gynura procumbens*) merupakan salah satu tanaman obat yang mempunyai beragam manfaat bagi kesehatan, bermanfaat sebagai analgesik hingga antimikroba. Pada tanaman ini terdapat dua spesies larva dari ordo Lepidoptera yang merupakan hama perusak daun, sehingga menghambat pertumbuhan sambung nyawa. Tujuan penelitian untuk mengetahui perilaku dan siklus hidup dari kedua jenis ulat yang ditemukan di pertanaman sambung nyawa, sebagai dasar dalam penelitian pengendalian hama pada pertanaman sambung nyawa. Penelitian dilakukan di Laboratorium Hama Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (Balittro) sejak Januari sampai April 2016. Larva yang dikumpulkan dari lapangan dipelihara dan dikembangkan di laboratorium. Parameter yang diamati meliputi stadium dan karakteristik tiap stadium dari siklus hidup dua spesies hama yang ditemukan di pertanaman sambung nyawa. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dua jenis larva yang ditemukan di pertanaman sambung nyawa adalah *Nyctemera coleta* dan *Paliga auratalis*, termasuk dalam ordo Lepidoptera. Stadium larva *N. coleta* merupakan stadium yang paling panjang dengan kisaran umur larva rata-rata 24 hari. Larva *N. coleta* merusak daun dengan memakan jaringan daun sehingga meninggalkan tulang-tulang daun. Stadium yang paling panjang pada *P. auratalis* adalah stadium pupa dengan rata-rata kisaran umur stadium 13,1 hari. Larva *P. auratalis* merusak daun sambung nyawa dengan memakan daun dan juga merekatkan sisi-sisi daun menggunakan saliva yang dikeluarkan dari mulutnya.

Kata kunci: *Gynura procumbens*, *Nyctemera coleta*, *Paliga auratalis*, larva, pupa

ABSTRACT

Gynura procumbens is one of medicinal plants useful for human health as analgesic and antimicrobe. There are two species of larvae from Lepidoptera order found as a pest for damaging leaf, hence inhibiting growth of *G. procumbens*. The aims of the study were to identify and determine the behaviour and life cycle of both types of larvae found on *G. procumbens*. This study was conducted in Pest Laboratory of the Indonesian Spices and Medicinal Crops Research Institute (ISMCRI) from January to April 2016. The larvae were collected from the field in Bogor area, mass-reared and grown in laboratory. The parameters observed were the stadium and the characteristics of each stadium of those two pest species found on *G. procumbens* plant. The result showed that two species of larvae found on *G. procumbens* were identified as *Nyctemera coleta* and *Paliga auratalis*. The larvae of *N. coleta* was the longest stadium for 24 days. It damaged plant by eating leaves tissues and leaving only the petiole. The longest stadium of *P. auratalis* was pupae at 13.1 days. *P. auratalis* larvae destroyed the leaves of *G. procumbens* by chewing the leaf tissue and attached the leaf sides using secreted saliva.

Key words: *Gynura procumbens*, *Nyctemera coleta*, *Paliga auratalis*, larvae, pupae

PENDAHULUAN

Pengembangan agroindustri tanaman obat di Indonesia memiliki prospek yang baik,

karena didukung oleh besarnya kekayaan sumber daya alam Indonesia sebagai sumber bahan baku simplisia yang dapat diformulasikan menjadi obat

tradisional. Sambung nyawa (*Gynura procumbens*) berasal dari Tiongkok dan Myanmar, dibawa masuk ke Indonesia oleh orang-orang Tiongkok, dibudidayakan dan digunakan sebagai obat herbal dalam menyembuhkan berbagai penyakit (Backer dan van den Brink 1965). Tanaman sambung nyawa tersebar di negara-negara Asia Tenggara termasuk Indonesia, Thailand dan Malaysia (Bhore dan Vaishana 2010). Tanaman sambung nyawa dapat tumbuh pada ketinggian 0-1.200 m dpl, namun tumbuh optimal pada ketinggian 500 m dpl (Hoesen 2001).

Daun sambung nyawa merupakan salah satu tanaman obat yang banyak dimanfaatkan di Indonesia sebagai antikarsinogenik yang berpotensi sebagai alternatif pengobatan kanker (Rivai *et al.* 2012). Di Malaysia, tanaman ini digunakan sebagai obat tradisional untuk penyakit diabetes dan sebagai obat penurun demam pada anak (Afandi *et al.* 2014).

Sambung nyawa mengandung senyawa kimia flavonoid, sterol tidak jenuh, triterpenoid, polifenol, saponin, steroid, asam klorogenat, asam kafeat, asam vanilat, asam para kumarat, asam hidroksi benzoat dan minyak atsiri yang mempunyai efek menghambat pertumbuhan mikroba berbahaya bagi tubuh (Hew *et al.* 2013). Fadli (2015) juga melaporkan manfaat sambung nyawa sebagai antijamur, *antiamebic*, larvasida, antimikroba, antioksidan, antialergi dan analgetik. Sambung nyawa juga umum dikonsumsi sebagai lalapan di daerah Jawa Barat, bahkan dibuat dalam bentuk teh dan kapsul.

Salah satu permasalahan yang ditemui di pertanian sambung nyawa yaitu adanya serangan larva *Nyctemera* sp. dan *Paliga* sp. dari ordo Lepidoptera. Kedua larva tersebut menyerang daun sambung nyawa sehingga pertumbuhannya terhambat. Serangga dari ordo Lepidoptera umumnya bersifat polifag, tetapi pada stadium larva yang bersifat herbivora, merupakan hama karena merusak daun di berbagai pertanian termasuk tanaman obat (Greeney *et al.* 2010; Balfas dan Willis 2009). Keberhasilan kolonisasi

dari ordo Lepidoptera tergantung pada habitat yang sesuai, dalam hal ini ketersediaan sumber pakan pada stadium larva (Vane-Wright dan de Jong 2003).

Kedua ulat tersebut menyerang tanaman sambung nyawa sepanjang tahun baik pada musim kemarau maupun musim hujan, dengan intensitas serangan tertinggi terjadi pada akhir musim kemarau hingga awal musim penghujan. Larva kedua serangga ini menyerang tanaman sejak di pembibitan hingga pada tanaman dewasa. Informasi lebih lanjut mengenai hama yang menyerang tanaman daun sambung nyawa masih terbatas. Penelitian aspek biologi perlu dilakukan untuk mendapatkan informasi dasar dalam mendukung pengendalian hama ini. Tujuan penelitian yaitu untuk mengidentifikasi dan memahami perilaku serta siklus hidup dari hama yang ditemukan pada pertanian sambung nyawa.

BAHAN DAN METODE

Kegiatan penelitian dilaksanakan di Laboratorium Hama Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (Balittro), mulai Januari hingga April 2016 pada suhu ruangan 25-30°C. Tanaman sambung nyawa diperbanyak di rumah kaca menggunakan setek batang yang ditanam dalam polibag.

Nyctemera coleta

Larva *N. coleta* pada beragam stadium yang ditemukan di lapangan dipelihara dan diperbanyak di dalam kotak kurungan yang berisi tanaman sambung nyawa yang merupakan sumber habitat ditemukannya populasi *N. coleta* di Kawasan Wisata Ilmiah (KWI) Balittro, Bogor. Metode pengembangbiakan dan pemeliharaan merujuk kepada metode Morton (1979). Larva *N. coleta* yang ditemukan di lapangan berwarna hitam dan di setiap tubuhnya terdapat garis berwarna putih. Larva dibiarkan tumbuh dan berubah menjadi pupa hingga imago. Selanjutnya sepasang imago jantan dan betina dipindahkan ke dalam toples plastik yang ditutup menggunakan kain kasa yang di dalamnya sudah diberi daun

sambung nyawa dan larutan madu 10% yang ditetaskan pada kapas sebagai pakan imago (Morton 1979). Imago jantan dicirikan dengan ukurannya yang lebih kecil dibandingkan dengan betina, dengan rata-rata panjang tubuh imago jantan yaitu 1,6 cm dan imago betina 1,9 cm. Selain itu, imago jantan lebih aktif beterbangan daripada imago betina. Setiap hari daun sambung nyawa dan kapas yang ditetesi larutan madu 10% diganti dengan yang baru. Sepasang imago tersebut dipelihara hingga menghasilkan telur.

Telur yang dihasilkan oleh imago betina dipindahkan ke dalam cawan petri. Sebanyak 10 kelompok telur yang diperoleh dari hasil perbanyakan diamati, sekaligus sebagai ulangan. Pengamatan dilakukan terhadap stadium dalam siklus hidup, rata-rata umur stadium, perilaku makan larva yang merupakan stadium yang merusak daun sambung nyawa, dan karakteristik morfologi dari tiap stadium yang ada didekripsikan sebagai bagian dari identifikasi spesies.

Paliga auratalis

Seperti halnya dengan larva *N. coleta*, larva *P. auratalis* pada beragam stadium yang ditemukan di lapangan dipelihara dan diperbanyak di dalam kotak kurungan yang berisi tanaman sambung nyawa yang merupakan sumber habitat ditemukannya populasi *P. auratalis* di Kebun Wisata Ilmiah (KWI) Balittro, Bogor. Larva *P. auratalis* yang ditemukan di lapangan berwarna hijau muda dan kepalanya berwarna hitam dengan panjang tubuh 0,5-1 cm. *P. auratalis* bersembunyi dan berkoloni di antara kedua sisi daun yang terlipat. Larva dibiarkan tumbuh dan berubah menjadi pupa hingga imago. Jika pupa sudah menjadi imago, maka sepasang imago jantan dan betina dipindahkan ke dalam toples plastik yang ditutup menggunakan kain kasa yang di dalamnya sudah diberi daun sambung nyawa dan larutan madu 10% yang ditetaskan pada kapas sebagai pakan imago (Morton 1979). Imago jantan dicirikan dengan ukurannya yang lebih kecil

dibandingkan dengan betina, dengan rata-rata panjang tubuh imago jantan yaitu 3,4 cm dan imago betina berukuran 4 cm. Imago jantan dari ordo Lepidoptera umumnya lebih aktif dari imago betina. Daun sambung nyawa dan kapas yang ditetesi madu 10% diganti dengan yang baru setiap hari. Sepasang imago tersebut dipelihara hingga menghasilkan telur.

Telur yang dihasilkan oleh imago betina dipindahkan ke dalam cawan petri. Sepuluh kelompok telur yang diperoleh dari hasil perbanyakan diamati dan diperlakukan sebagai ulangan. Pengamatan dilakukan terhadap stadium yang ditemukan dalam siklus hidup, rata-rata umur stadium, perilaku makan larva sebagai stadium yang merusak daun sambung nyawa, dan karakteristik morfologi dari tiap stadium yang ada didekripsikan sebagai bagian dari identifikasi spesies.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik *Nyctemera coleta*

Telur

Imago *N. coleta* meletakkan telur di bawah permukaan daun, telur diletakkan secara berkelompok terdiri dari 5-30 butir. Satu ekor betina mampu bertelur sebanyak 25-30 butir telur setiap kali bertelur. Total keseluruhan selama siklus hidupnya, imago betina menghasilkan 300-400 butir, tetapi hanya sekitar 20% yang menjadi larva. Forister *et al.* (2006) menyatakan bahwa kematangan telur dari ordo Lepidoptera berbeda-beda karena strukturnya yang berbeda. Ada telur yang memiliki lapisan interior yang tipis dan ada yang tebal sehingga tidak semua telur dari ordo Lepidoptera dapat bertahan hidup pada lingkungan tertentu dalam siklus hidupnya. Telur *N. coleta* berwarna putih kekuningan dengan ukuran 0,181-0,336 mm (Gambar 1a). Rata-rata telur *N. coleta* berumur 3-4 hari, tetapi dapat mencapai umur 7 hari, untuk kemudian menetas menjadi larva instar pertama.

Larva

Larva *N. coleta* mengalami pergantian kulit sebanyak 5 kali dalam rentang waktu 23-25 hari sebelum menjadi pre-pupa. Larva *N. coleta* berwarna hitam dan di setiap ruas tubuhnya terdapat garis berwarna putih. Caput (kepala) berwarna oranye dan di samping kanan kiri tubuhnya dari dada (*thorax*) hingga perut (*abdomen*) terdapat bulu-bulu halus berwarna hitam (Gambar 1b). Panjang tubuh larva instar 1 hingga instar 5 yaitu berturut-turut: 1,2; 1,7; 2,1; 2,7 dan 2,5 cm. Larva instar 1 merupakan stadium larva yang paling aktif bergerak dan memakan daun. Demikian juga dengan larva instar 2 dan 3 sangat aktif bergerak dan memakan hampir keseluruhan bagian daun sehingga hanya tersisa hanya tulang daun dan tangkai tanaman. Lamatoa *et al.* (2013) melaporkan bahwa organ dari setiap jenis tumbuhan yang paling disukai oleh larva dari ordo Lepidoptera adalah bagian daun.

Larva instar 4 menunjukkan penurunan aktivitas makan dan gerak ditunjukkan dengan kondisi pakan yang banyak tersisa pada toples kurungan larva instar 4. Larva instar 5 menunjukkan ukuran tubuhnya yang semakin pendek tetapi tumbuh melebar ke samping sebagai tanda larva akan beralih stadium menjadi pupa. Masa transisi menjadi pupa ditunjukkan dengan larva yang tidak bergerak sama sekali untuk berpindah tempat (inaktif) dan tidak memakan daun. Total umur stadium larva mencapai 23-24 hari. Edge dan van Hamburg (2010) melaporkan bahwa larva *Orachrysops niobe* beradaptasi menjadi pupa dengan ciri kulit menebal, dorsal dan dorsolateral melebar.

Larva *N. coleta* dikenal sebagai ulat pemakan daun dari ordo Lepidoptera yang bersifat polifag (Kalshoven dan van der Laan 1981). Spesies serangga dari genus *Nyctemera* tersebar luas di Asia dan sampai saat ini telah teridentifikasi sebanyak 6 spesies (de Vos 2007). *N. coleta* merupakan salah satu spesies yang paling luas penyebarannya di Asia. Di KWI, spesies ini banyak ditemukan di pertanaman sambung nyawa.

Pupa

Salah satu ciri yang paling khas dalam memasuki stadium pupa ditandai dengan adanya benang-benang sutra berwarna putih seperti kapas yang membungkus tubuhnya, tubuh larva mengeras dan bulu-bulu pada tubuh larva akan rontok (Gambar 1d). Selain itu, bentuknya mulai berubah menjadi oval dengan panjang rata-rata jantan mencapai 2 cm dan betina 2,5 cm, berwarna kuning dan sebagian hitam. Stadium pupa bervariasi berlangsung selama 5-7 hari. Karakteristik pupa betina *N. coleta* mirip dengan pupa betina *Agrotis malefida* yang lebih besar dan lebih berat daripada pupa jantan dan memiliki umur yang bervariasi (Specht *et al.* 2013). Atmaja dan Djatnika (1999) menyatakan lama stadium pre-pupa dan pupa *N. coleta* masing-masing 1 dan 7 hari.

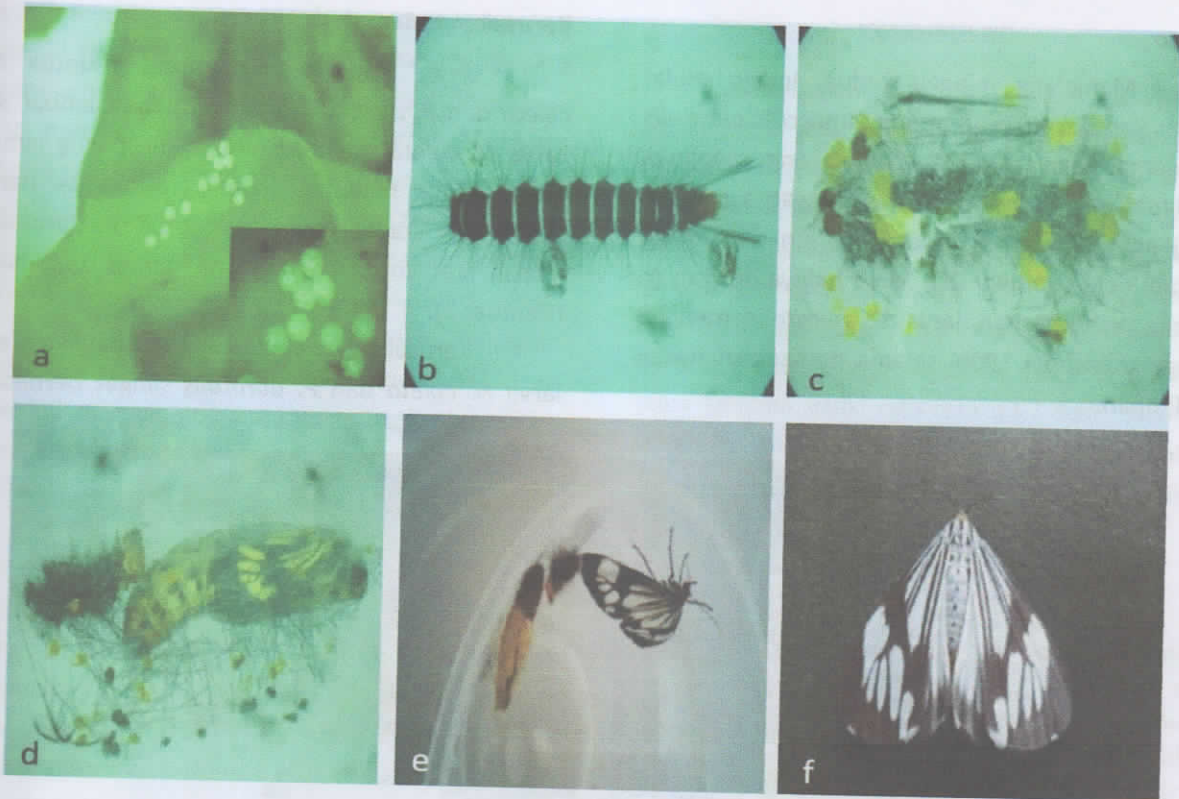
Imago

Setelah melewati stadium pupa selama 7 hari, stadium yang terakhir yaitu imago. Imago *N. coleta* berwarna dasar hitam dengan spot-spot putih di permukaan sayapnya (Gambar 1f). Smetacek (2010) menyatakan bahwa imago *N. coleta* memiliki sayap yang berwarna hitam dan terdapat spot berwarna putih di kedua sayapnya. Imago betina hanya mampu hidup selama 6 hari sedangkan imago jantan hingga 8 hari.

Karakteristik *Paliga auratalis*

Telur

Telur diletakkan secara berkelompok dengan 1-7 butir/kelompok. Telur kemudian menetas setelah 5-6 hari. Telur *P. auratalis* hampir menyerupai telur *N. coleta*, tetapi terdapat warna hitam di tengah telur *P. auratalis* (Gambar 2a). Pada umumnya, bentuk dan ukuran telur dari ordo Lepidoptera hampir sama tetapi terdapat perbedaan pada warna kulit permukaan telur dari masing-masing spesies karena adanya pengaruh suhu di sekitar lingkungan tempat serangga tumbuh dan berkembang (García-Barros 2000; Kok *et al.* 2011; Specht *et al.* 2013). Keberhasilan telur



Gambar 1. Stadium *N. coleta* (a) telur, (b) larva, (c) pre-pupa, (d) pupa, (e) imago yang baru keluar dari kepompongnya, dan (f) Imago.

Figure 1. Stadium of *N. coleta* (a) eggs; (b) larvae; (c) pre-pupae, (d) pupae, (e) newborn imago from cocoon and (f) Imago.

P. auratalis menetas menjadi larva sekitar 75%.

Larva

Larva *P. auratalis* berwarna hijau muda, bertubuh lunak, tidak terdapat bulu di tubuhnya dan setiap ruas tubuhnya terdapat garis-garis melintang sebanyak 4-5 garis dengan kepala berwarna hijau tua kehitaman (Gambar 2b). Stadium larva tidak menyebabkan kerusakan daun yang berat, karena pada stadium ini, larva *P. auratalis* hanya memakan sedikit jaringan permukaan daun. Menjelang prepupa, ukuran larva memendek dan tubuhnya melebar ke samping (Gambar 2c). Larva menghasilkan saliva yang dikeluarkan dari mulutnya yang akan mengeras menjadi struktur yang mirip benang-benang halus berwarna putih yang kemudian digunakan oleh larva untuk membuat tempat berlindung pada permukaan daun dengan cara merekatkan sisi permukaan daun sehingga

daun menggulung. Greeney *et al.* (2010) menyatakan bahwa perilaku larva mengeluarkan cairan saliva dari mulutnya adalah untuk melindungi dirinya dari serangan predator.

Pupa

Setelah 2 hari sisi-sisi daun melekat sempurna, larva kemudian berubah menjadi pupa. Pupa *P. auratalis* berwarna cokelat dengan ukuran 0,5-1 cm (Gambar 2e). Pupa inaktif selama 2 minggu kemudian berubah menjadi imago. Pada stadium ini meskipun pupa tidak aktif memakan daun tetapi banyak daun yang rusak akibat saliva yang dikeluarkan pada saat larva beralih memasuki stadium pupa untuk merekatkan sisi-sisi permukaan daun. Pada stadium ini ditemukan banyak semut, karena cairan saliva yang mengeras ditumbuhi banyak embun madu, tetapi pupa tetap aman dari predator semut di dalam kepompongnya.

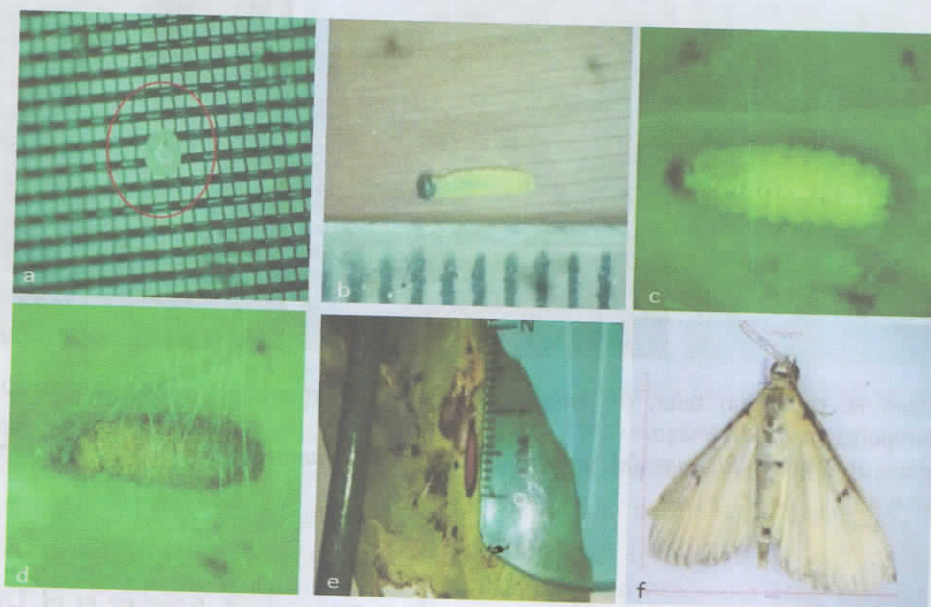
Imago

Menjelang minggu kedua, imago mulai keluar dari kokon/kepompong. Imago *P. auratalis* berwarna coklat muda, di belakang sayapnya terdapat rumbai-rumbai halus berwarna coklat. Panjang tubuh imago betina 3,5 cm dan imago jantan 3 cm (Gambar 2f). Sama halnya dengan *N. coleta*, keberhasilan larva *P. auratalis* menjadi imago mencapai 100% selama persediaan pakan melimpah.

Kerusakan tanaman

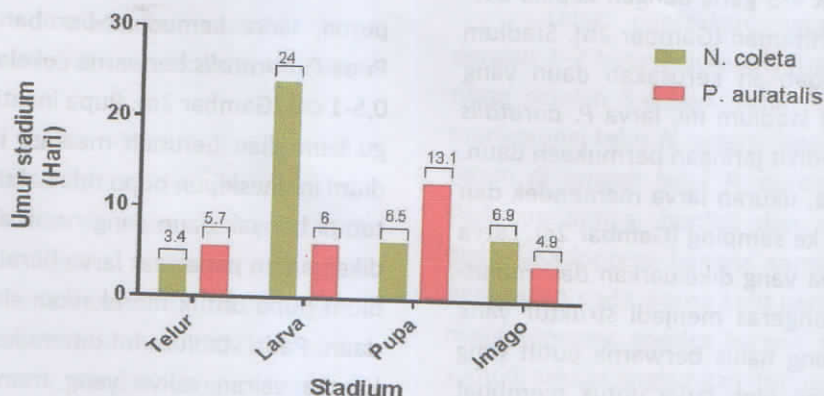
Umur stadium masing-masing untuk *N. coleta* dan *P. auratalis* disajikan pada Gambar 3. Larva *N. coleta* memiliki umur yang paling lama dalam siklus hidupnya yaitu rata-rata 24 hari, sedangkan stadium terlama untuk *P. auratalis* adalah stadium pupa rata-rata hingga 13,1 hari (Gambar 3).

Kerusakan tanaman yang disebabkan oleh larva *N. coleta* dan *P. auratalis* sangat berbeda,



Gambar 2. Stadium *P. auratalis*. (a) telur, (b) larva, (c) tahap awal prepupa, ukuran tubuh larva memendek dan melebar serta mengeluarkan saliva untuk merekatkan sisi-sisi permukaan daun; (d) pupa umur 7 hari; dan (f) Imago.

Figure 2. Stadium of *P. auratalis*. (a) egg, (b) larvae, (c) the first stage of pre-pupa, larvae shortened, thickened and also produce saliva to attach leaf side; (d) one day old pupa; (e) a week old pupa; and (f) imago.



Gambar 3. Umur dari masing-masing stadium *N. coleta* dan *P. auratalis*.

Figure. The length of respective stadium of *N. coleta* and *P. auratalis*.

tetapi keduanya menghambat pertumbuhan tanaman *G. procumbens*. Larva *N. coleta* lebih aktif mengkonsumsi daun sambung nyawa dibandingkan dengan larva *P. auratalis*. Larva *N. coleta* memakan hampir seluruh bagian daun tanaman sambung nyawa, sehingga yang tersisa hanya tulang daun saja (Gambar 4a), akibatnya aktifitas fotosintesis di daun menjadi berkurang. Pada *P. auratalis*, larvanya hanya memakan sebagian kecil jaringan daun saja, tetapi membuat daun menjadi menggulung dan mengering karena saliva yang dikeluarkan dari dalam mulut larva (Gambar 4b).

Kerugian akibat serangan *N. coleta* dan *P. auratalis* pada tanaman sambung nyawa secara ekonomi masih belum diketahui. Namun demikian serangan berat kedua ulat ini akan menyebabkan tanaman kehilangan jaringan di daun dalam jumlah yang banyak sehingga mengurangi produktivitas tanaman sambung nyawa. Saat pengamatan dilakukan, kedua hama ini ditemukan menyerang satu tanaman secara keseluruhan sehingga mengakibatkan kerusakan yang parah. Keberadaan hama ini sepanjang tahun perlu diamati demikian juga dengan jenis-jenis tanaman yang dapat berfungsi sebagai inang alternatifnya. Pengamatan terhadap musuh alamnya yang potensial perlu dilakukan mengingat keterbatasan aplikasi insektisida pada tanaman obat.

KESIMPULAN

Ditemukan dua jenis larva dari ordo Lepidoptera yang menyerang tanaman sambung nyawa di Bogor, yaitu *N. coleta* dan *P. auratalis*. Kedua larva tersebut memiliki siklus hidup yang berbeda, meskipun memiliki stadium yang sama. Siklus hidup larva *N. coleta* lebih panjang dibandingkan dengan larva *P. auratalis* dengan rata-rata 24 hari, sedangkan *P. auratalis* memiliki stadium pupa terlama yaitu rata-rata 13,1 hari. Stadium larva *N. coleta* dan *P. auratalis* merupakan stadium yang mengakibatkan intensitas kerusakan tertinggi pada tanaman sambung nyawa.

DAFTAR PUSTAKA

- Afandi, A., Sadikun, A. & Ismail, S. (2014) Antioxidant Properties of *Gynura procumbens* Extracts and Their Inhibitory Effects on Two Major Human Recombinant Cytochrome P450s Using A High Throughout Luminescence Assay. *Asian J. Pharm. Clin. Res.* 7, 36–41.
- Atmaja, W.R. & Djatnika, K. (1999) Beberapa Aspek Biologi Ulat Belang *Nyctemera coleta* Cramer (Lepidoptera; Noctuidae) pada Daun Dewa *Gynura procumbens* (Lour) Merr. di Laboratorium. In: *Prosiding Seminar PEI*. Bogor, Perhimpunan Entomologi Indonesia, pp.495–500.
- Backer, C.A. & van den Brink, R.C.B. (1965) *Flora of Java (Spermatophytes Only)*. Vol II. Groningen, N. V. P. Noordhoff.



Gambar 4. Kerusakan daun sambung nyawa yang disebabkan oleh: (a) *N. coleta*; (b) *P. auratalis*.

The damage of *G. procumbens* leaf caused by (a) *N. coleta*; (b) *P. auratalis*.

- Balfas, R. & Willis, M. (2009) Pengaruh Ekstrak Tanaman Obat terhadap Mortalitas dan Kelangsungan Hidup *Spodoptera litura* F. (Lepidoptera, Noctuidae). *Bul Littro*. 20 (2), 148–156.
- Bhore, S.J. & Vaishana, K. (2010) Comparison of Three Plant Tissue Culture Media for Efficient Micropropagation of An Important Tropical Medicinal Plant, *Gynura procumbens* (Lour) Merr. *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences*. 8 (4), 474–481. [http://www.idosi.org/aejaes/jaes8\(4\)/17.pdf](http://www.idosi.org/aejaes/jaes8(4)/17.pdf).
- Edge, D.A. & van Hamburg, H. (2010) Larval Feeding Behaviour and Myrmecophily of the Brenton Blue, *Orachrysops niobe* (Trimen) (Lepidoptera: Lycaenidae). *Journal of Research on the Lepidoptera*. 42, 21–33.
- Fadli, M.Y. (2015) Benefits of Sambung Nyawa (*Gynura procumbens*) Substance as Anticancer. *J MAJORITY*. 4 (5), 40–43.
- Forister, M.L., Fordyce, J.A., Nice, C.C., Gompert, Z. & Shapiro, A.M. (2006) Egg Morphology Varies among Populations and Habitats along A Suture Zone in the *Lycaeides idas-melissa* Species Complex. *Annals of the Entomological Society of America*. 99 (5), 933–937. doi:10.1603/0013-8746(2006)99.
- García-Barros, E. (2000) Egg Size in Butterflies (Lepidoptera: Papilionoidea and Hesperioidea): A Summary of Data. *Journal of Research on the Lepidoptera*. 35, 90–136.
- Greeney, H.F., Walla, T.R. & Lynch, R.L. (2010) Architectural Changes in Larval Leaf Shelters of *Noctuana haematospila* (Lepidoptera: Hesperioidea) between Host Plant Species with Different Leaf Thicknesses. *Zoologia*. 27 (1), 65–69. doi:10.1590/S1984-46702010000100010.
- Hew, C. Sen, Khoo, B.Y. & Gam, L.H. (2013) The Anti-Cancer Property of Proteins Extracted from *Gynura procumbens* (Lour.) Merr. *PLoS ONE*. 8 (7), 10p. doi:10.1371/journal.pone.0068524.
- Hoesen, D.S.H. (2001) Perbanyakan dan Penyimpanan Kultur Sambung Nyawa [*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.] dengan Teknik In-Vitro. *Berita Biologi*. 5 (4), 379–385.
- Kalshoven, L.G.E. & van der Laan, P.A. (1981) *Pests of Crops in Indonesia*. Jakarta, PT Ichtiar Baru van Hoeve.
- Kok, C.C., Eng, O.K., Razak, A.R. & Arshad, A.M. (2011) Microstructure and Life Cycle Of *Metisa plana* Walker (Lepidoptera: Psychidae). *Journal of Sustainability Science and Management*. 6 (1), 51–59.
- Lamatoa, D.C., Koneri, R., Siahaan, R. & Maabuat, P. V (2013) Populasi Kupu-Kupu (Lepidoptera) di Pulau Mantehage, Sulawesi Utara. *Jurnal Ilmiah Sains*. 13 (1), 52–56.
- Morton, A.C. (1979) Rearing Butterflies on Artificial Diets. *Journal of Research on The Lepidoptera*. 18 (4), 221–227.
- Rivai, H., Bakhtiar, A., Nurdin, H., Suyani, H. & Weltasari, D. (2012) Identifikasi Senyawa Antioksidan dari Daun Dewa (*Gynura pseudochina* (Lour.) DC). *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*. 17 (1), 84–91.
- Smetacek, P. (2010) Subspecific Status of the Southern Indian Population of *Nyctemera coleta* (Lepidoptera: Arctiidae). *Journal of Threatened Taxa*. 2 (4), 835–836.
- Specht, A., Angulo, A.O., Olivares, T.S., Fronza, E., Vânia, F., Valduga, E., Albrecht, F., Poletto, G. & Barros, N.M. (2013) Life Cycle of *Agrotis malefida* (Lepidoptera: Noctuidae): A Diapausing Cutworm. *Zoologia*. 30 (4), 371–378. doi:10.1590/S1984-46702013000400002.
- Vane-Wright, R.I. & de Jong, R. (2003) *The Butterflies of Sulawesi. Annotated Checklist for a Critical Island Fauna. Invertebrate Systematics*. 18 (3), Leiden, Zoo.Verh. doi:10.1071/ISv18n3_BR.
- de Vos, R. (2007) Revision of the *Nyctemera clathratum* Complex (Lepidoptera: Arctiidae). *Tijdschrift voor Entomologie*. 150, 39–54. doi:10.1163/22119434-900000211.

**KEEFEKTIFAN *Beauveria bassiana* DAN PUPUK ORGANIK CAIR
TERHADAP *Nilaparvata lugens***
*The Effectiveness of the Mixture of Beauveria bassiana and Liquid Organic Fertilizer
on Nilaparvata lugens*

Molide Rizal, Tri Eko Wahyono dan Cucu Sukmana

Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat
Jalan Tentara Pelajar No. 3 Bogor 16111
Telp 0251-8321879 Faks 0251-8327010
molide2012@gmail.com

(diterima 08 Maret 2017, direvisi 16 Maret 2017, disetujui 29 Mei 2017)

ABSTRAK

Wereng batang cokelat adalah hama utama pada tanaman padi yang dapat menyebabkan gagal panen. Pengendalian wereng batang cokelat (WBC) masih ditekankan pada penggunaan varietas tahan dan insektisida. Perlu upaya alternatif menggunakan cara pengendalian yang lebih ramah lingkungan, diantaranya agens hayati, seperti cendawan entomopatogen *Beauveria bassiana* dan pupuk organik cair (POC). Penelitian bertujuan untuk mengetahui keefektifan campuran cendawan entomopatogen *B. bassiana* dan POC terhadap hama WBC. Penelitian dilakukan di Laboratorium dan Rumah Kasa Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (Balittro) Bogor sejak Juli sampai September 2015. Penelitian terdiri atas dua kegiatan. Kegiatan pertama adalah percobaan kompatibilitas yang dirancang secara Acak Lengkap (RAL), empat perlakuan dan diulang lima kali. Perlakuan yang diuji adalah tiga konsentrasi larutan POC (5, 10 dan 20 ml.l⁻¹), dan air sebagai kontrol. Pengujian dilakukan terhadap pertumbuhan cendawan *B. bassiana* pada medium yang mengandung POC. Kegiatan kedua adalah pengujian keefektifan cendawan *B. bassiana* untuk mengontrol WBC di rumah kaca, dirancang menggunakan RAL, lima perlakuan dan diulang lima kali. Perlakuan yang diuji adalah *B. bassiana* (kerapatan spora 10⁸ ml⁻¹); *B. bassiana* + POC (10 ml.l⁻¹); minyak seraiwangi (5 ml.l⁻¹) dan minyak cengkeh (5 ml.l⁻¹) sebagai pembanding, serta air (kontrol). Aplikasi dilakukan dengan cara menyemprotkan larutan perlakuan dengan konsentrasi 5 ml.l⁻¹ pada nimfa instar 2 WBC yang diinfestasikan pada tanaman padi dalam polibag. Hasil penelitian menunjukkan bahwa POC menghambat 46,64% pertumbuhan *B. bassiana* secara *in vitro*. Namun, keefektifan campuran *B. bassiana* + POC sama baiknya dengan *B. bassiana* secara tunggal. Hal ini menunjukkan POC dapat diaplikasikan berselang-seling dengan *B. bassiana* untuk mengendalikan WBC pada padi.

Kata kunci: *Nilaparvata lugens*, pengendalian, POC

ABSTRACT

Brown planthopper is the main pest of rice causing harvest failure. The control of brown planthopper (BPH) is mainly focused on using resistant variety and insecticide application. Thus, it is necessary to apply the environmentally and more friendly control techniques, including the use of entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and liquid organic fertilizer (LOF). The experiment to evaluate the effectiveness of *B. bassiana* and LOF mixture to control BPH was conducted at laboratory and screen house of Indonesian Spices and Medicinal Crops Research Institute (ISMCR) Bogor, from July to September 2015. The experiment consisted of two activities. The first activity was compatibility trial arranged in Completely Randomized Design (CRD), four treatments and repeated five times. The treatments were three concentration of LOF 5, 10 and 20 ml.l⁻¹ and water as control, tested on the growth of *B. bassiana*. The second activity was the effectiveness trial arranged in CRD, consisting of five treatments and five replications. The treatments were *B. bassiana* (spore density 10⁸ ml⁻¹); *B. bassiana* + LOF (10 ml.l⁻¹); citronella oil (5 ml.l⁻¹) and clove oil (5 ml.l⁻¹) for comparisons, and water (control). The tested solutions (5 ml.l⁻¹) were sprayed to BPH nymphs infested at rice plants grown in polybag. The LOF inhibited the development of fungal colonies of *B. bassiana* by 46.64% on agar medium. The

effectivity of B. bassiana + LOF mixture was similar to individual B. bassiana treatment. This indicated that LOF could be applied intermittently with B. bassiana to control brown planthopper on rice.

Key words: Nilaparvata lugens, control, LOP

PENDAHULUAN

Wereng batang cokelat (WBC), *Nilaparvata lugens* Stahl. (Homoptera: Delphacidae), sering menyerang tanaman padi di Asia Selatan, Asia Tenggara, dan Asia Timur. Umumnya serangan terjadi pada tanaman padi yang telah dewasa, tetapi belum memasuki masa panen. Serangan wereng pada tanaman padi yang masih muda mengakibatkan daun menguning, pertumbuhan terhambat, dan tanaman menjadi kerdil. Serangan sangat berat, akan mengakibatkan tanaman menjadi layu dan akhirnya mati dengan gejala puso.

Usaha strategis yang dilakukan untuk pengendalian WBC adalah perakitan varietas tahan, pengetatan seleksi galur tahan, tanam serempak, pemakaian lampu perangkap yang dapat dipakai sebagai monitoring dan mengurangi populasi hama serta penggunaan insektisida. Pengendalian wereng cokelat dengan insektisida harus dipandu dengan monitoring ambang ekonomi terbaru berdasarkan harga gabah saat panen (Baehaki dan Mejaya 2014).

Begitu pentingnya hama WBC, maka Pemerintah mengeluarkan beberapa kebijakan untuk mengatasi hama ini. Pada tahun 1986 dikeluarkan Inpres No. 3 yang melarang penggunaan 57 formulasi insektisida untuk mengendalikan wereng cokelat, karena dampak penggunaan berbagai pestisida menimbulkan gejala resurgensi. Pada tahun 2011 keluar Inpres No. 5 yang salah satu isinya adalah Bantuan Penanggulangan Padi Puso (BP3) oleh serangan hama WBC (Baehaki and Mejaya 2014). Penggunaan pestisida kimia secara berlebihan telah menjadi penghalang bagi terwujudnya pertanian yang berkelanjutan (Hong-xing *et al.* 2017).

Cendawan penyebab penyakit pada serangga (entomopatogen) *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill dan *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok, umum digunakan dalam pengendalian hama pada budidaya tanaman secara organik (Hirose *et al.* 2001). Pada tanaman padi, *B. bassiana* dapat digunakan untuk pengendalian WBC (Baehaki 2009). Dalam aplikasi di lapangan, masih dirasa perlu untuk mengetahui tingkat konservasi dan kompatibilitas entomopatogen tersebut terhadap tindakan budidaya lainnya untuk menghindari kehilangan daya pengendaliannya (Hirose *et al.* 2001). Cendawan *B. bassiana* adalah patogen serangga yang memiliki kisaran inang luas dan mampu bersimbiosis dengan tanaman. Kemampuan untuk bersimbiosis dengan tanaman menjadi faktor yang dominan dalam memparasitasi serangga yang melibatkan sumber karbon dan nitrogen yang tinggi yang terkandung di dalam tubuh serangga (Ortiz-Urquiza dan Keyhani 2016).

Pupuk organik cair (POC) telah umum digunakan dalam budidaya tanaman, termasuk tanaman padi. Aplikasi POC pada pertanaman padi yang dibudidayakan dengan sistem SRI (*System Rice Intensification*) di lahan pasang surut dilaporkan mampu meningkatkan hasil padi sebesar 38,98% dibanding metode konvensional (Budianta *et al.* 2012). Apabila aplikasi POC dapat dilakukan secara simultan dengan cendawan *B. bassiana*, maka diharapkan akan menghemat waktu, tenaga, dan biaya sehingga petani dapat memupuk tanaman sekaligus mengendalikan hama secara ramah lingkungan.

Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui keefektifan cendawan *B. bassiana* dan POC terhadap hama wereng cokelat pada padi di rumah kaca.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan tempat

Penelitian dilakukan di laboratorium dan rumah kaca Kelompok Peneliti Proteksi Tanaman, Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (Balitro) Bogor sejak Juli sampai September 2015.

Beauveria bassiana

Cendawan *B. bassiana* (Ed6) merupakan koleksi kultur agens hayati laboratorium Entomologi Balitro Bogor yang diisolasi dari serangga *Leptocoris* spp. (Atmaja et al. 2010). Cendawan tersebut dibiakkan pada medium agar dekstrosa kentang (ADK) setelah dimurnikan.

Pupuk organik cair

Pupuk organik cair yang digunakan mengandung campuran hara makro dan mikro dengan kadar hara makro: N 0,12%; P_2O_5 0,03%; dan K 0,31%; kandungan hara mikronya adalah: Ca 60,40 ppm; S 0,12%; Mg 16,88 ppm; Cl 0,29%; Mn 2,46 ppm; Fe 12,89 ppm; Cu <0,03 ppm; Zn 4,71 ppm; Na 0,15%; B 60,84 ppm; Si 0,01%; Co <0,05 ppm; Al 6,38 ppm; NaCl 0,98%; Se 0,11 ppm; Arsen 0,11 ppm; Chrom <0,06 ppm; Mo < 0,2 ppm; V <0,04 ppm, dan SO_4 0,35%. Karakteristik lainnya adalah: C/N rasio 0,86%; pH 7,5; lemak 0,44%, protein 0,72%; asam-asam organik (asam humat 0,01%, asam vulvat), zat perangsang tumbuh (auksin, giberelin, sitokinin) (Nurahmi et al. 2010).

Rancangan perlakuan

Penelitian ini terdiri atas dua kegiatan percobaan, yaitu pengujian kompatibilitas antara cendawan *B. bassiana* dengan POC yang dilakukan secara *in vitro* dan uji efikasi campuran *B. bassiana* dengan POC pada wereng cokelat yang dilakukan di rumah kaca.

Kompatibilitas *B. bassiana* dengan POC

Pengujian dilakukan di laboratorium disusun dalam rancangan acak lengkap, yang terdiri atas empat perlakuan dan diulang lima kali. Perlakuan yang diuji adalah tiga tingkat konsen-

trasi larutan POC (5, 10 dan 20 ml.l⁻¹ air) yang masing-masing dikombinasikan dengan cendawan *B. bassiana* dan air sebagai kontrol. POC ditambahkan ke dalam medium ADK steril yang masih mencair (suhu 45°C) sesuai dengan perlakuan yang diuji, selanjutnya dituang ke dalam cawan petri (10 ml/cawan petri). Setelah medium mengeras diinokulasi dengan isolat *B. bassiana* dengan cara meletakkan potongan koloni kultur cendawan (diameter 5 mm) berumur tiga minggu pada permukaan medium yang telah mengandung berbagai tingkat konsentrasi POC. Parameter yang diamati adalah diameter koloni cendawan *B. bassiana*, selama 10 hari setelah perlakuan.

Efektivitas terhadap WBC

Percobaan dirancang secara acak lengkap, terdiri atas lima perlakuan dan lima ulangan. Perlakuan yang diujikan adalah, 1) *B. bassiana* (kerapatan spora 10⁸), 2) *B. bassiana* (10⁸ spora) + POC (10 ml.l⁻¹); minyak seraiwangi (5 ml.l⁻¹) dan minyak cengkeh (5 ml.l⁻¹) sebagai pembanding, serta air (kontrol). Masing-masing perlakuan diaplikasikan dengan cara disemprotkan langsung kepada nimfa WBC yang dipelihara pada tanaman padi di dalam kurungan kasa. Tanaman padi yang digunakan adalah varietas Cisadane umur 55 hari, berjumlah dua anakan tiap rumpun. Serangga uji yang digunakan adalah nimfa WBC instar tiga sebanyak 10 ekor tiap rumpun tanaman padi. Parameter yang diamati tingkat kematian WBC yang terinfeksi *B. bassiana*, diamati selama 10 hari dihitung menggunakan rumus:

$$P = A/B \times 100\%$$

Keterangan/Note:

P = persentase kematian serangga uji (Percentage of insect death).

A = jumlah serangga uji mati selama 10 hari pengamatan (The number of dead test insects for 10 days of observation).

B = jumlah serangga uji awal per unit percobaan (The number of initial test insects per unit experiment).

Data yang diperoleh dianalisis dengan Anova dan apabila pengaruh perlakuan nyata maka dilanjutkan dengan uji nilai tengah dengan

metode Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kompatibilitas *B. bassiana* dengan POC

Penambahan POC pada medium ADK tidak berpengaruh nyata pada pertumbuhan koloni cendawan *B. bassiana* (Tabel 1). Secara umum, diameter pertumbuhan koloni cendawan *B. bassiana* tidak terpengaruh dengan penambahan konsentrasi POC ke dalam medium. Sampai hari keempat, diameter koloni *B. bassiana* pada semua perlakuan POC tidak terlihat berbeda dibandingkan dengan sesama POC, namun lebih kecil daripada perlakuan kontrol (Gambar 1). Sutanto (2007) menyatakan pengaruh pestisida terhadap *B. bassiana* lebih terlihat pada jumlah produksi konidia, bukan pada pertumbuhan miselia.

Cendawan entomopatogen umumnya membutuhkan oksigen, air, bahan organik karbon sebagai sumber energi dan bahan anorganik seperti nitrogen sebagai sumber mineral untuk pertumbuhannya. Unsur karbon biasanya didapat dari dekstrosa yang dapat digantikan oleh polisakarida (seperti zat tepung) atau lipid. Nitrogen didapat dari nitrit, amonia atau kandungan organik seperti asam amino atau protein. Kandungan esensial unsur hara makro berupa senyawa yang mengandung fosfor (fosfat), potasium, magnesium, sulfur dan sedikit sekali membutuhkan bahan anorganik dari sulfat atau

organik (sistein atau mionin). Cendawan dari kelompok Deuteromycetes membutuhkan syarat pertumbuhan yang relatif mudah karena mampu tumbuh sebagai saprofit, sehingga dengan sedikit hara pada medium sudah cukup bagi cendawan ini untuk tumbuh. Cendawan *B. bassiana* dan *M. anisopliae* yang juga merupakan kelompok Deuteromycetes membutuhkan media yang hanya mengandung dekstrosa, nitrat dan larutan mineral makro untuk tumbuh dan berkembang (Taborsky 1992).

Hasil percobaan ini menunjukkan bahwa POC bersifat fungistatik atau menghambat pertumbuhan cendawan *B. bassiana* sebesar 46,64%. Oleh karena itu, penggunaan POC tidak dapat dilakukan bersamaan dengan aplikasi *B. bassiana*. Menurut Celar dan Kos (2012), efek fungistatik sebesar 25-50% dapat dikategorikan sebagai agak berbahaya. Hal ini sedikit berbeda dengan jenis pupuk organik cair lainnya, yang juga menekan pertumbuhan koloni cendawan tersebut pada kisaran 9,34-12,20%. Celar dan Kos (2012) juga berpendapat bahwa *B. bassiana* sangat peka terhadap beberapa senyawa bahan aktif pada herbisida kimia yang diuji, karena dosis rekomendasi terendah di lapang sudah mampu menekan lebih dari 75% pertumbuhan kedua entomopatogen tersebut. Rashid *et al.* (2010) melaporkan bahwa perlakuan insektisida kimia hexaflumuron pada konsentrasi 120 ppm telah menghentikan pertumbuhan vegetatif cendawan *M. anisopliae* (100%),

Tabel 1. Diameter koloni *Beauveria bassiana* pada media agar kentang dekstrosa dengan berbagai konsentrasi pupuk organik cair.

Table 1. Colony diameters of *Beauveria bassiana* on potato dextrose agar medium at various liquid organic fertilizer concentrations.

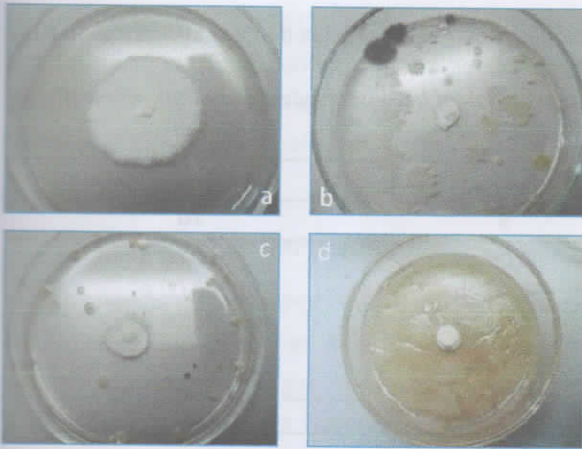
Perlakuan	Diameter koloni pada hari ke- (mm)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Bb + 5 ml POC.l ⁻¹	5,00 a	5,80 a	8,20 b	8,30 b	8,37 b	8,37 c	8,37 c	8,30 b b	8,30 b	8,30 b
Bb + 10 ml POC.l ⁻¹	5,00 a	6,00 a	10,20 a	12,60 a	12,60 ab	13,30 ab	13,37 b	13,30 b b	13,30 b	14,30 b
Bb + 20 ml POC.l ⁻¹	5,00 a	5,80 a	8,70 ab	10,80 a	10,80 bc	11,10 bc	11,10 bc	11,10 b b	11,10 b	11,10 b
Kontrol (Air)	5,00 a	5,80 a	9,10 ab	11,80 a	14,30 a	17,13 a	19,50 a	21,00 a a	24,20 a	26,80 a
KK (%)	22.66%	17.32%	12.47%	13.12%	17.25%	21.50%	22.81%	28.66%	27.29%	32.47%

Keterangan: Angka-angka rata-rata pada kolom dan huruf yang sama tidak berbeda pada pada taraf 5% uji Duncan.

Note : Numbers followed by same letter in the same column were not significantly different at 5% level of DMRT

Bb = *Beauveria bassiana*

POC = pupuk organik cair/liquid organic fertilizer



Gambar 1. Diameter koloni *B. bassiana* pada media PDA dengan konsentrasi POC, (a) Kontrol (0), (b) 5 ml/l, (c) 10 ml/l, dan (d) 20 ml/l.

Figure 1. Colony diameters of *B. bassiana* on PDA at various liquid organic fertilizer concentrations, (a) Control (0), (b) 5 ml/l, (c) 10 ml/l, and (d) 20 ml/l.

tertinggi dibanding pyriproxyfen (24,59%) dan fipronil (24,31%). Oleh karena itu, Rashid et al. (2010) tidak merekomendasikan penggunaan insektisida berbahan aktif hexaflumuron bersamaan dengan cendawan entomopatogen.

Minyak seraiwangi dan minyak cengkeh juga dilaporkan menurunkan efektivitas *B. bassiana* jika dicampurkan dengan cendawan tersebut dan diaplikasikan terhadap hama pengisap pucuk jambu mete *Helopeltis antonii* Sign (Hemiptera: Miridae). Sampai saat ini, pestisida nabati yang dinilai aman dan sinergis kerjanya dengan cendawan *B. bassiana* adalah minyak mimba (Rohimatun et al. 2015).

Efektivitas formula kombinasi *Beauveria bassiana* dan pupuk organik cair terhadap wereng batang coklat

Perlakuan kombinasi cendawan entomopatogen *B. bassiana* dan POC mampu mengakibatkan mortalitas nimfa WBC hingga 100% sampai hari ke 10 setelah aplikasi (Tabel 2). Hal ini menunjukkan bahwa pencampuran POC dengan cendawan *B. bassiana*, meskipun menghambat pertumbuhan koloninya, namun tidak mengurangi virulensi agensia hayati tersebut terhadap WBC.

Pencampuran cendawan *B. bassiana* dengan POC pada hari ke-10 setelah aplikasi masih menunjukkan mortalitas WBC tertinggi (100%), dibanding perlakuan minyak cengkeh (60%) dan minyak seraiwangi (70%) yang diaplikasikan secara terpisah (Tabel 2). Wereng yang terparasit dicirikan dengan adanya masa koloni pada permukaan wereng yang telah mati. Selain itu, pada kondisi lingkungan yang lembap koloni cendawan dapat tumbuh sangat subur sehingga membentuk bantalan warna putih yang menutupi permukaan wereng yang sudah terparasit (Gambar 2). Wereng yang terparasit lebih banyak ditemukan pada bagian pelepah daun padi dibanding dengan yang ada di helaian daun. Diduga, selain koloni wereng banyak ditemukan pada bagian bawah tanaman padi, juga kondisi kelembapan di daerah tersebut lebih tinggi sehingga sesuai untuk pertumbuhan *B. bassiana*. Keberhasilan cendawan *B. bassiana* dalam mengendalikan hama dipengaruhi oleh viabilitas cendawan entomopatogen di lingkungan. Viabilitas cendawan entomopatogen sendiri sangat dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain suhu, kelembapan, pH, radiasi matahari, dan senyawa kimia (Prayogo dan Tengkanu 2002).

Menurut Wahyono (2013) cendawan *B. bassiana* strain *Lophobaris* sp. dapat mengakibatkan kematian *N. lugens* hingga 50% dan 60% pada hari ke-6 dan ke-7 setelah aplikasi. Samson (1998) dalam Hasnah et al. (2012) menyatakan bahwa mekanisme penetrasi biopestisida dimulai dengan pertumbuhan konidia pada integumen, selanjutnya hifa cendawan mengeluarkan enzim lipolitik, proteolitik dan khitinase yang menyebabkan hidrolisis integumen serangga yang tersusun dari protein dan khitin.

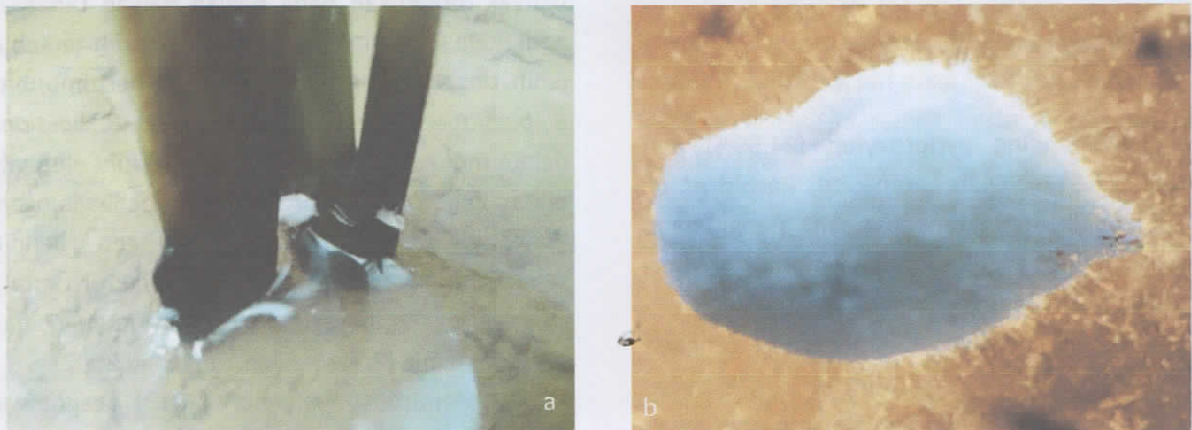
Genus-genus cendawan entomopatogen seperti *Metarhizium*, *Beauveria*, *Nomuraea*, *Paecilomyces* dan *Verticillium* menularkan infeksi diantara populasi serangga inang dengan melalui konidia yang membutuhkan kelembapan untuk perkecambahan mereka guna memulai terjadinya penyakit pada serangga inang. Beberapa parameter seperti waktu aplikasi dan formulasi dapat

Tabel 2. Mortalitas nimfa wereng batang cokelat pada beberapa perlakuan bioinsektisida dan insektisida nabati pada padi.

Table 2. The mortality of brown planthopper nymph at various application of bio-insecticide and botanical insecticides on rice.

Perlakuan	Mortalitas pada hari ke - (%)		
	8	9	10
<i>B. bassiana</i>	96,00 a	96,00 a	100,00 a
<i>B. bassiana</i> + POC	83,00 abc	83,00 ab	100,00 a
Minyak seraiwangi	70,00 cd	70,00 cd	70,00 b
Minyak cengkeh	60,00 d	60,00 d	60,00 bc
Kontrol (%)	0,00 e	0,00 e	0,00 e
KK (%)	7.26%	7.26%	6.78%

Keterangan: Angka-angka rata-rata pada kolom dan yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda pada taraf 5% Uji Duncan.
Note : Numbers followed by same letter in the same column were not significantly different at 5% level of DMRT.
POC = pupuk organik cair/liquid organic fertilizer.



Gambar 2. Nimfa wereng batang cokelat terinfeksi *B. bassiana* yang diaplikasikan dengan pupuk organik cair, (a) koloni wereng pada pangkal batang padi yang terparasit *B. bassiana*, (b) koloni *B. bassiana* tumbuh pada wereng yang terparasit.
Figure 2. The infected brown planthopper nymphs after the application of *B. bassiana* mixed with liquid organic fertilizer, (a) infected brown planthopper nymphs colonized by *B. bassiana* on rice stem basal, (b) *B. bassiana* colony grown on infected brown planthopper nymphs.

dimanfaatkan untuk mempertahankan tingkat kelembapan untuk merangsang terjadinya perkecambahan dari propagul infeksi (Ghormade *et al.* 2011). Diharapkan, kombinasi aplikasi dengan POC ini dapat menyediakan kondisi lembab yang dibutuhkan di sekitar kanopi tanaman padi bagi bekerjanya entomopatogen tersebut pada hama WBC secara efektif.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa keefektifan campuran *B. basiana* dan POC ini lebih baik dari perlakuan pembanding pestisida nabati,

seperti minyak seraiwangi dan cengkeh yang hanya mampu menimbulkan mortalitas WBC sebesar 86-94% (Rizal *et al.* 2011). Oleh karena itu, perlu dilakukan pengujian skala lapangan untuk mengetahui efektivitas campuran POC dengan *B. bassiana* terhadap WBC di daerah endemik serta uji keamanan terhadap organisme bukan sasaran dan pengaruhnya terhadap lingkungan.

Di pihak lain, aplikasi cendawan entomopatogen bersama POC ini diharapkan juga mampu meningkatkan produksi tanaman padi. Hasil pene-

litian Supartha et al.(2012) menunjukkan bahwa penambahan pupuk organik cair pada pertanaman padi sistem pertanian organik mampu meningkatkan hasil gabah kering panen sebesar 4,4-17,4%.

KESIMPULAN

Pencampuran POC dengan cendawan *B. bassiana* menghambat 46,64% pertumbuhan cendawan pada media agar. Keefektifan campuran *B. bassiana* + POC sama baiknya dengan aplikasi *B. bassiana* secara tunggal, mengakibatkan mortalitas WBC 100%. POC dapat diaplikasikan bersama dengan *B. bassiana* untuk mengendalikan WBC pada padi. Perlu pengujian lebih lanjut untuk mengetahui keefektifan POC dan *B. bassiana* pada pertanaman padi di lapangan.

DAFTAR PUSTAKA

- Atmaja, W.R., Wahyono, T.E. & Dhalimi, A. (2010) Aplikasi beberapa Strain *Beauveria bassiana* terhadap *Helopeltis antonii* Sign pada Bibit Jambu Mete. *Bul Littro*. 21 (1), 37–42.
- Baehaki, S.E. (2009) Strategi Pengendalian Hama Terpadu Tanaman Padi dalam Perspektif Praktek Pertanian yang Baik (Good Agricultural Practices). *Jurnal Pengembangan Inovasi Pertanian*. 2 (1), 65–78.
- Baehaki, S.E. & Mejaya, M.J. (2014) Wereng Cokelat sebagai Hama Global Bernilai Ekonomi Tinggi dan Strategi Pengendaliannya. *Iptek Tanaman Pangan*. 9 (1), 1–12.
- Budianta, D., Napoleon & Ristiani, D. (2012) *SRI di lahan Pasang Surut*. In: Marwanto et al. (eds.) *Prosiding Seminar Nasional Menuju Pertanian Berdaulat*. Bengkulu, Fakultas Pertanian Universitas Bengkulu, pp.19–25.
- Celar, F. & Kos, K. (2012) Compatibility of Selected Herbicides with Entomopathogenic Fungus *Beauveria bassiana*. *Acta Agriculturae Slovenica*. 99 (1), 57–63.
- Ghormade, V., Deshpande, M.V. & Paknikar, K.M. (2011). Perspectives for nano-biotechnology enabled protection and nutrition of plants. *Biotechnology Advances* 29 (11), 792-803
- Hasnah, Susanna & Sably, H. (2012) Keefektifan Cendawan *Beauveria bassiana* Vuill terhadap Mortalitas Kepik Hijau *Nezara viridula* L. pada *Stadia* Nimfa dan Imago. *Jurnal Floratek*. 7 (1), 13–24.
- Hirose, E., Neves, P.M.O.J., Zequi, J.A.C., Martins, L.H., Peralta, C.H. & Moino Jr, A. (2001) Effect of Biofertilizers and Neem Oil on The Entomopathogenic Fungi *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. and *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 44 (4), 419–423.
- Hong-xing, X.U., Ya-jun, Y., Yan-hui, L.U., Xu-song, Z., Jun-ce, T., Feng-xiang, L., Qiang, F.U. & Zhong-xian, L. (2017) Sustainable Management of Rice Insect Pests by Non-Chemical-Insecticide Technologies in China. *Rice Science*. 24 (2), 61–72.
- Nurahmi, E., Hasinah & Mulyani, S. (2010) Pertumbuhan dan Hasil Kubis Bunga akibat Pemberian Pupuk Organik Cair NASA dan Zat Pengatur Tumbuh Hormonik. *Agrista*. 14 (1), 8–13.
- Ortiz-Urquiza, A. & Keyhani, N.O. (2016) Molecular Genetics of *Beauveria bassiana* Infection of Insects. In: Lovet, B. & St Leger, R.J. (eds.) *Genetics and Molecular Biology of Entomopathogenic Fungi*. 1st ed. 94, Elsevier Inc., pp.165–249.
- Prayogo, Y. & Tengkan, W. (2002) Pengaruh Media Tumbuh terhadap Daya Kecambah, Sporulasi dan Virulensi *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) Sorokin Isolat Kendalpayak pada Larva *Spodoptera litura*. *Jurnal Ilmiah Ilmu-ilmu Pertanian*. 9 (4), 233–242.
- Rashid, M., Baghdadi, A., Sheikhi, A., Pourian, H.-R. & Gazavi, M. (2010) Compatibility of *Metarhizium anisopliae* (Ascomycota: Hypocreales) with Several Insecticides. *Journal of Plant Protection Research*. 50 (1), 22–27.
- Rizal, M., Laba, I.W., Mardiningsih, T.L., Darwis, M., Sukmana, C. & Sugandi, E. (2011) *Pemanfaatan Pestisida Nabati untuk Menurunkan Populasi Hama Wereng Coklat Nilaparvata lugens Stal (Homoptera: Delphacidae) pada Tanaman Padi*. In: *Prosiding Seminar Nasional Pestisida Nabati IV*. Jakarta, pp.223–232.
- Rohimatusun, Willis, M., Wahyono, T.E. & Ahyar (2015) Efektivitas Kombinasi Cendawan Entomopatogen dan Pestisida Nabati terhadap *Helopeltis antonii*

- Sign (Hemiptera: Miridae) pada Bibit Jambu Mete. In: *Prosiding Seminar Perbenihan Tanaman Rempah dan Obat*. Bogor, Badan Litbang Pertanian, pp.211–221.
- Supartha, I.N.Y., Wijana, G. & Adnyana, G.M. (2012). Aplikasi jenis pupuk organik pada tanaman padi sistem pertanoan organik. *E-J. Agroteknologi Tropika* 1(2), 98-106.
- Sutanto, H. (2007) *Pengaruh Insektisida Nabati terhadap Viabilitas Jamur Entomopatogen Beauveria Bassiana Bals*. Universitas Islam Negeri Malang.
- Taborsky, V. (1992) *Small-scale Processing of Microbial Pesticides*. *FAO Agricultural Services Bulletin*. (96), Rome, Food and Agriculture Organization of United Nations.
- Wahyono, T.E. (2013) *Tehnik Pengujian Patogenisitas beberapa Strain Jamur Beauveria bassiana terhadap Wereng Batang Coklat (Nilaparvata lugens)*. *Buletin Teknik Pertanian*. 18 (1), 36–39.