Bionatura – Jurnal Ilmu-ilmu Hayati dan Fisik
ISSN 1411 - 0903
Vol. 12, No. 1, Maret 2010 : 50 - 56

EFEK ANTIFIDAN ANDROGRAFOLIDA TERHADAP AKTIVITAS KELENJAR PENCERNAAN LARVA *Plutella xylostella* L.

Wawan Hermawan, Erik Surya Erawan, dan Cucu Hadiansyah
Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Padjadjaran
Kampus Jatinangor, Bandung 40600
E-mail: *a359@unpad.ac.id*

ABSTRAK

Penelitian dilakukan untuk mengetahui mekanisme pengaruh antifidan andrografolida sebagai komponen aktif dari tanaman sambiloto, *Andrographis paniculata* terhadap kelenjar pencernaan pada usus tengah larva instar ke-4, *Plutella xylostella* L**.** Pengujian dilakukan secara eksperimental di laboratorium. Konsentrasi Andrografolida yang digunakan adalah 1000, 1600, 2500, 4000 dan 6500 ppm dengan ulangan sebanyak empat kali. Setelah pendedahan selama 24 jam, larva difiksasi kemudian ditanam dalam blok parafin untuk disayat dan diwarnai dengan teknik pewarnaan Mallory-Azan. Parameter yang diamati adalah perubahan intensitas warna sekret sel goblet sebagai salah satu kelenjar pencernaan dan perubahan diameter lumen pada usus larva. Sayatan diamati di bawah mikroskop pada perbesaran 100× dan 400×. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat penurunan intensitas warna sekret pada sel goblet dan pembesaran diameter lumen seiring dengan meningkatnya konsentrasi Andrografolida. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa antifidan Andrografolida menyebabkan kerusakan sel dan penurunan aktivitas sekresi kelenjar pencernaan pada jaringan usus tengah larva *P. xylostella* L**.**

Kata Kunci: Antifidan, Adrografolida, *Andrographis paniculata* , *Plutella xylostella,* Sel Goblet.

EFFECT OF ANDROGRAPHOLIDE AS AN ANTIFEEDANT TO THE DIGESTIVE GLAND'S ACTIVITY OF THE *Plutella xylostella* L. LARVAE

ABSTRACT

A study to reveal the mechanism of andrographolide antifeedant as an active component of *Andrographis paniculata* against digestive gland of midgut of the 4th-stadium larvae of the *Plutella xylostella* L. has been carried out experimentally in laboratory. The andrographolide concentrations used were 1000, 1600, 2500, 4000, and 6500 ppm in four replicates. At 24 hrs after the treatments, the fixated larvae were embedded in parafin blocks to be sliced and then dyed by the Mallory-Azan staining technique. The research parameters observed were the color intensity transformation of the secrete of goblet cells and the change of lumen diameter of the larvae gut. The objects were observed under a microscope at 100× and 400× magnification. The result showed that there was a decrease at the color intensity of goblet cells's secrete, the lumen diameter was enlarged, in accordance with the increase of andrographolide concentrations. These indicated that the antifeedant compound of andrographolide caused damage to the cell and decreased the secretion activity of digestive gland in the midgut of *P. xylostella*. larvae.

Keywords: Antifeedant, Andrographolide, *Andrographis paniculata, Plutella xylostella*, Goblet Cells.

PENDAHULUAN

Ulat kol atau larva *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Yponomeutidae), adalah salah satu hama utama tanaman famili Cruciferae seperti kol, sawi, petsai dan brokoli yang tersebar di seluruh dunia (Shelton, 2001). Ulat ini sulit untuk dikendalikan karena sifatnya yang mudah resisten dan memiliki fenomena *cross-resistance* sehingga menurunkan efikasi dari berbagai jenis insektisida sintetik (Miyata *et al*., 1986; Talekar and Shelton., 1993; Chen and Kao, 1999). Fakta inilah yang membuat para peneliti mencari metode alternatif yang aman dan selektif untuk mengontrol larva *P. xylostella,* di antaranya dengan menggunakan insektisida alami dari tumbuhan. Insektisida botanis, karena memiliki keuntungan dibandingkan dengan pestisida sintetik, seperti tidak berbahaya terhadap musuh alami dan mudah terdegradasi sehingga aman bagi lingkungan termasuk manusia (Finney, 1990). Hermawan *et al.,* (1997) melaporkan bahwa andrografolida sebagai senyawa utama yang berasal dari tanaman sambiloto, *Andrographis paniculata*, memiliki

aktivitas antifidan terhadap larva *P. xylostella*. Secara umum cara kerja antifidan adalah menghambat datangnya rangsangan makan sebagai akibat terganggunya sistem saraf dan sistem pencernaan serangga, sehingga larva mengkonsumsi makanan dalam jumlah lebih sedikit, yang selanjutnya dapat mempengaruhi proses pencernaan makanan (Schoonhoven, 1982).

Sejauh ini mekanisme dari antifidan andrografolida terhadap sistem saraf dan pencernaan larva *P. xylostella* belum banyak dipublikasikan. Partaya (2000) melaporkan bahwa ekstrak *Azadirachtin* sebagai senyawa utama tumbuhan nimba dapat menyebabkan kerusakan pada usus tengah ulat kol berupa pemisahan membran peritropik epitelium usus, kerusakan sel-sel epitelium dan terlepasnya sel-sel epitelium dari membran basal. Kemudian, Agresti dkk. (2001), melaporkan bahwa andrografolida pada konsentrasi 1000 dan 2500 ppm menyebabkan kerusakan jaringan usus tengah dan reduksi ukuran sel goblet pada larva *P. xylostella*. Walaupun demikian, dalam penelitian tersebut belum diteliti gangguan andrografolida terhadap produk sel seperti perubahan aktivitas sekresi kelenjar pencernaan dan kerusakan yang terdapat pada jaringan usus tengah larva *P. xylostella*.

Kelenjar pencernaan dalam usus larva berperan dalam sekresi senyawa, seperti enzim pencernaan yang berperan dalam proses pencernaan makanan secara kimia (Richard & Davies, 1957). Terganggunya aktivitas sekresi dan kerusakan sel dalam jaringan usus larva dapat mengganggu aktivitas kelenjar pencernaan secara langsung sehingga akan mempengaruhi proses pencernaan dari mulai hambatan sampai dengan terhentinya proses pencernaan. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek pemberian andrografolida terhadap aktivitas kelenjar pencernaan dan kerusakan jaringan usus tengah pada larva. *P. xylostella*. Adapun tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh berbagai konsentrasi andrografolida terhadap aktivitas kelenjar dan kerusakan jaringan pada usus larva. *P. xylostella*. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan gambaran awal mengenai mekanisme kerja andrografolida yang dapat dikembangkan sebagai salah satu metode pengelolaan atau pemberantasan hama secara terpadu.

BAHAN DAN METODE

Penyediaan dan pemeliharaan serangga percobaan, *Plutella xylostella*.

Populasi awal serangga percobaan adalah pupa dan larva instar ke-4, *P. xylostella*. yang diambil dari kebun kol di Desa Pasigaran, Kecamatan Tanjungsari, Kabupaten Sumedang, Jawa Barat. Di laboratorium, larva instar ke-4 ditempatkan dalam sebuah kotak plastik berukuran 20×10×8 cm^3 , dengan lubang udara pada bagian atasnya. Sebagai pakan larva, ditempatkan daun kol komersial yang diganti setiap hari. Untuk memudahkan pemeliharaan larva, bagian dasar kotak diberi kertas saring. Pemeliharaan pupa dilakukan dengan cara menempatkan pupa dalam kotak kaca berukuran 60×40×25 cm^3, yang diberi lubang udara. Setelah pupa menetas, ngengat dewasa diberi pakan larutan madu 10% yang ditempatkan pada cawan petri diameter 2 cm. Pada bagian atas kotak kaca digantungkan sebuah kantung yang terbuat dari kertas saring berisi daun kol yang berfungsi sebagai media peletakan telur ngengat betina dewasa. Telur-telur yang menempel pada kantung kemudian dipindahkan ke dalam kotak plastik (20×10×8 cm^3) untuk dipelihara hingga menetas. Segera setelah telur menetas, larva diberi pakan kol secukupnya. Kegiatan ini berlangsung terus menerus dan berulang sampai diperoleh *culture stock* untuk bahan penelitian, yaitu stadium larva instar ke-4.

Metode Penelitian

Percobaan dilakukan terhadap enam kelompok larva *P. xylostella*, lima kelompok larva diberi perlakuan dengan andrografolida dan satu kelompok kontrol hanya diberi larutan metanol 90%. Setiap perlakuan diulang empat kali. Andrografolida (*andrographolide*, $C_{20}H_{20}O_5$), berupa kristal murni diperoleh dari Wako Research Chemical Ltd, Jepang. Untuk kepentingan perlakuan, kristal andrografolida diencerkan dengan larutan metanol 90% sampai diperoleh konsentrasi yang diinginkan yaitu, 1000, 1600, 2500, 4000 dan 6500 ppm. Sedangkan preparat sayatan usus tengah larva *P. xylostella* dibuat dengan menggunakan metode parafin dengan pewarnaan Mallory-Azan (Brauer, 1964). Standardisasi luas daun kol pada saat perlakuan, dilakukan dengan menggunakan alat pencetak (*cork borer*, ϕ 1,8 cm), sehingga besarnya daun kol pakan untuk setiap perlakuan seragam (Hermawan *et al*., 1997). Parameter yang diamati adalah penurunan tingkat intensitas warna sekret sel goblet yang menunjukkan adanya perubahan aktivitas kelenjar pencernaan dan pembesaran diameter lumen yang menunjukkan adanya kerusakan struktur usus tengah.

Perlakuan Andrografolida

Daun kol yang telah dicetak (ϕ 1,8 cm) dicelupkan ke dalam setiap konsentrasi andrografolida selama ± 2 detik. Prosedur yang sama dilakukan pada kelompok kontrol, tetapi

hanya dicelupkan kedalam pelarut saja. Daun yang telah dicelupkan kedalam masing-masing perlakuan dikeringkan dalam suhu ruangan, kemudian ditempatkan pada cawan petri beralaskan kertas saring yang telah diberi akuades sampai jenuh agar daun kol terhindar dari kekeringan. Kemudian, semua larva *P. xylostella* instar ke-4, yang sebelumnya telah dilaparkan selama 3 jam, ditempatkan dalam cawan petri selama 24 jam.

Pengamatan Preparat Penurunan Aktivitas Kelenjar Pencernaan

Setiap penurunan aktivitas kelenjar pencernaan (ditunjukkan dari kualitas warna yang tampak pada sel goblet) yang ditimbulkan oleh setiap konsentrasi andrografolida kemudian disusun dalam tabel serta ranking penurunan setiap konsentrasi ditunjukkan dalam tabel nilai kerusakan (0-2) (Tabel 1).

Tabel 1. Nilai penurunan aktivitas kelenjar pencernaan pada usus larva *Plutella xylostella* L. setelah didedahkan pada berbagai konsentrasi Andrografolida

Nilai	Warna
0	Biru
1	Biru muda
2	Pucat

Perubahan Diameter Lumen Usus Tengah

Perubahan diameter lumen usus tengah diukur dengan menggunakan mikroskop strereo dengan lensa okuler yang memiliki skala okuler. Hasil pengukuran dengan skala okuler yang didapat dari setiap preparat, kemudian dikalibrasi dengan skala objek. Hasil kalibrasi antara skala okuler dengan skala objek merupakan ukuran diameter lumen yang sebenarnya (dalam satuan μm).

Analisis Data

Pengujian statistik untuk data non-parametrik yaitu analisis intensitas warna sekret pada sel goblet, dilakukan dengan menggunakan metode uji Kruskal-Wallis dengan taraf signifikansi $\alpha = 5\%$ (Gasperz, 1991).

Data parametrik yaitu pengukuran diameter lumen usus tengah berdasarkan konsentrasi andrografolida dianalisis dengan uji *ANOVA* dan uji lanjut Dunnett yang dihitung dengan bantuan program SPSS v11.01. Selanjutnya dilakukan analisis Regresi dan Korelasi untuk mengetahui hubungan antara konsentrasi dengan penurunan aktivitas kelenjar pencernaan berupa intensitas warna sekret sel goblet.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Aktivitas Kelenjar Pencernaan Larva *Plutella xylostella* L.

Hasil pengamatan dengan pewarnaan Mallory-Azan memperlihatkan bahwa sel epitel silindris selapis dan sel goblet pada lumen usus tengah larva *P. xylostella*, sekret sel goblet berwarna biru merah. Demikian pula dengan serabut otot melingkar yang memanjang di sekitar lumen usus tengah. Sitoplasma berwarna merah, sedangkan inti berwarna lebih merah dibandingkan dengan sitoplasma yang ada di sekitarnya. Kepekatan warna sekret sel goblet semakin menurun dan terus memucat sejalan dengan meningkatnya konsentrasi andrografolida (Gambar 1).

Berdasarkan skala kerusakan, warna sekret sel goblet kelompok kontrol berwarna biru tua tampak sangat jelas atau normal setelah 24 jam perlakuan, atau kerusakannya memiliki rangking 0 dalam Tabel 1 (Gambar 1 No. 1). Pada perlakuan andrografolida konsentrasi 1000 ppm, terlihat adanya pengaruh terhadap aktivitas sekret sel goblet, yaitu sel goblet berwarna biru muda dan bila dibandingkan dengan kontrol termasuk pada kerusakan ranking 1 (Gambar 1 No. 2). Walaupun demikian, secara statistik tingkat kerusakan ini tidak berbeda nyata dengan kontrol pada taraf nyata $\alpha = 5\%$. Demikian pula pada perlakuan andrografolida konsentrasi 1600 ppm. Tidak tampak adanya pengaruh terhadap penurunan intensitas warna sekret sel goblet, sehingga skor kerusakannya sama seperti pada perlakuan konsentrasi andrografolida 1000 ppm (Gambar 1. No. 3). Pengaruh andrografolida terhadap sekret sel goblet baru tampak pada perlakuan andrografolida konsentrasi 2500 ppm yang ditunjukkan dengan perubahan intensitas warna sel goblet yang berwarna pucat (Gambar 1 No. 4). Selanjutnya, tingkat kerusakan semakin tampak sejalan dengan besarnya konsentrasi yang ditandai dengan warna pucat pada sel goblet (Gambar 1 No. 5 dan No. 6).

Gambar 1. Sayatan melintang pada jaringan usus tengah larva *P. xylostella* L., dan penurunan aktivitas kelenjar pencernaan yang ditunjukkan dengan intensitas warna pada sekret sel goblet setelah didedahkan berbagai konsentrasi Andrografolida. 1. Sayatan kelompok kontrol, 2-6. Sayatan kelompok perlakuan (2. 1000 ppm, 3.1600 ppm, 4. 2500 ppm 5. 4000, 6. 6500 ppm), L. Lumen, G. Sel goblet, MB. Membran basal (Mallory-Azan, Perbesaran 400×)

Tabel 2. Korelasi antara pemberian konsentrasi Andrografolida dan ranking intensitas warna sekret kelenjar pencernaan pada usus larva *P.xylostella* L. dengan bantuan program SPSS v11.01

			Konsentrasi	Ranking
Spearman's rho	Konsentrasi	Koeffisien Korelasi	1.000	0.865**
		Sig. (2 sisi)	,	0.000
		N	24	24
	Ranking	Koeffisien Korelasi	0.865**	1.000
		Sig. (2 sisi)	0.000	,
		N	24	24

Keterangan : ** Korelasi signifikan pada tingkat 0.01 (2 sisi)

Tabel 3. Analisis regresi antara konsentrasi Andrografolida dan rataan skor intensitas warna sekret kelenjar pencernaan pada usus larva *Plutella xylostella* L. (SPSS v11.01)

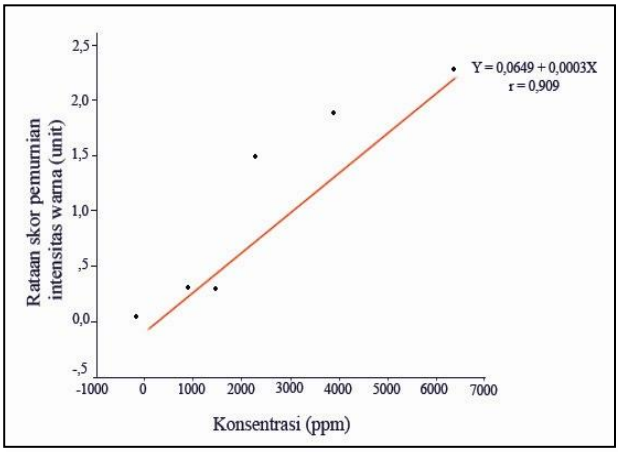
Dependent	Mth	R^2	d.f.	F	Sigf.	b_0	b_1
Rataan Skor	Linear	.827	22	105.11	.000	.0649	.0003

Tabel 4. Penurunan aktivitas kelenjar pencernaan pada usus larva *P. xylostella* L. setelah di-dedahkan pada berbagai konsentrasi Andrografolida

No.	Andrografolida (ppm)	Jumlah larva yang didedahkan	Jumlah larva setelah 24 jam perlakuan	Skor warna histokimia kelenjar pencernaan (Sel Goblet)			Rataan skor ± SD
				biru (0)	biru muda (1)	pucat (2)	
1.	0 (Kontrol)	4	4	4	-	-	0 ± 0,00
2.	1000	4	4	3	1	-	0.25 ± 0.50
3.	1600	4	4	3	1	-	0.25 ± 0.50
4.	2500	4	4	-	2	2	1.50 ± 0.58*
5.	4000	4	4	-	1	3	1.75 ± 0.5**
6.	6500	4	4	-	-	4	2.00 ± 0.00**

Keterangan : * Perlakuan berbeda nyata dengan kontrol pada P < 0,05 dengan Uji Kruskal-Wallis.; ** Perlakuan berbeda sangat nyata dengan kontrol pada P < 0,01 dengan Uji Kruskal Wallis dan Uji Lanjut Dunnett.

Hasil analisis regresi-korelasi dengan bantuan program SPSS v11.01 diperlihatkan pada Tabel 2dan 3. Besarnya koeffisien korelasi (0,5 < + 0,865 < 1,0) menunjukkan kuatnya hubungan berbanding lurus antara konsentrasi andrografolida dengan ranking intensitas warna sekret sel goblet. Semakin tinggi konsentrasi andrografolida yang didedahkan, semakin tinggi ranking penurunan intensitas warna sekret sel goblet. Hal ini berarti bahwa aktivitas kelenjar pencernaan jauh berkurang. Tabel 4 juga menunjukkan tingkat probabilitasnya berada jauh di bawah angka 0,05. Hal ini berarti bahwa terdapat hubungan yang sangat signifikan antara konsentrasi andrografolida yang didedahkan dengan ranking penurunan intensitas warna sekret sel goblet.



Gambar 2. Hubungan antara pemberian konsentrasi Andrografolida dengan rataan skor tingkat penurunan intensitas warna sekret kelenjar pencernaan pada usus larva *P. xylostella* L.

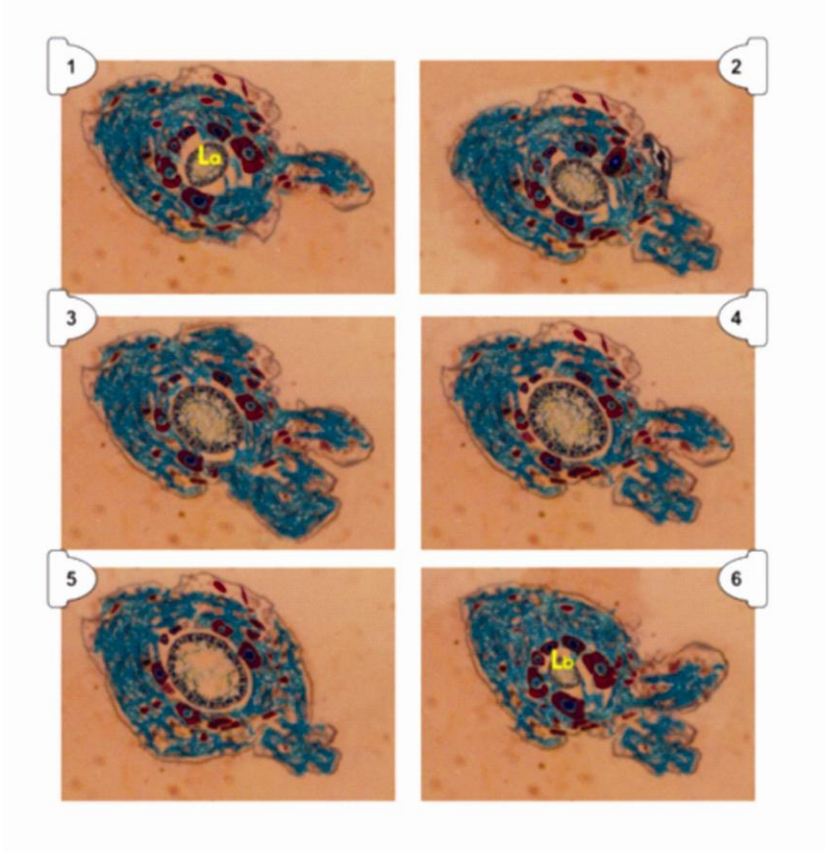
Hasil analisis regresi menghasilkan persamaan garis $Y=b_0+b_1X$ dan dari tabel didapat persamaan Y=0,0649+0,0003X, dan jika divisualisasikan akan menghasilkan grafik pada Gambar 2.

Persamaan garis itu memperlihatkan hubungan yang berbanding lurus antara pemberian berbagai konsentrasi andrografolida dengan tingkat penurunan intensitas warna sekret sel goblet. Pendedahan andrografolida pada seluruh konsentrasi menunjukkan adanya pengaruh konsentrasi andrografolida terhadap penurunan aktivitas kelenjar pencernaan dalam sel goblet pada lumen usus tengah larva *P. xylostella*.

Perubahan Diameter Lumen Usus Tengah Larva *Plutella xylostella* L.

Gambar 3 menunjukkan perubahan yang terjadi di dalam jaringan usus tengah larva *P. xylostella* sejalan dengan meningkatnya konsentrasi andrografolida. Perubahan yang tampak adalah sejalan dengan bertambahnya konsentrasi andrografolida. Pembesaran diameter lumen yang terjadi dalam usus tengah merupakan akibat dari penumpukan makanan dalam usus tengah yang belum dicerna, yang disebabkan karena terdapatnya kerusakan di dalam jaringan usus tengah larva *P. xylostella*. (Agresti dkk., 2001). Pada kelompok kontrol, rata-rata diameter lumen relatif berukuran kecil, berukuran antara 76 – 105 µm, karena makanan yang masuk masih dapat dicerna secara sempurna. Sedangkan kelompok perlakuan diameter lumen ukurannya lebih besar bila dibandingkan dengan kelompok kontrol sejalan dengan besarnya konsentrasi andrografolida (Gambar 3).

Kerusakan sel goblet sebagai kelenjar pencernaan dan perubahan diameter lumen seperti yang telah dijelaskan di atas, menyebabkan terganggungnya proses penyerapan serta sekresi pada saluran pencernaan dan terhambatnya proses pencernaan makanan secara keseluruhan. Penurunan aktivitas kelenjar pencernaan ini, pada gilirannya akan mempengaruhi proses pencernaan secara kimiawi dalam saluran pencernaan akibat rusaknya sel-sel epitel penghasil enzim pencernaan dan rusaknya sel regeneratif yang berfungsi untuk memperbaharui sel epitel yang telah mati atau rusak (Richard & Davies, 1957). Cara kerja andrografolida sebagai antifidan ini, sejalan dengan hasil yang ditemukan Schoonhoven (1982) yaitu bahwa efisiensi pencernaan makanan berkurang diakibatkan terjadinya gangguan berupa kerusakan pada saluran dan jaringan pencernaan larva terutama kerusakan yang terjadi pada sel-sel dan kelenjar yang berada di dalam saluran pencernaan. Lebih jauh, telah banyak dilaporkan bahwa senyawa yang berasal dari tumbuhan memiliki aktivitas biologi yang menjanjikan termasuk aktivitas antifidan. Diantaranya adalah senyawa aktif dari tumbuhan nimba, *Azaditachta indica* L., yang telah menjadi pusat perhatian para ahli entomologi dan fitokimia karena selain memiliki aktivitas antifidan juga bersifat toksik terhadap jenis-jenis serangga hama (Lowery and Isman, 1993). Partaya (2000) melaporkan bahwa ekstrak biji nimba menyebabkan kerusakan pada usus tengah ulat kol *P. xylostella* berupa pemisahan membran peritropik epitelium usus dan kerusakan sel-sel epitelium serta terlepasnya sel-sel epitelium dari membran basal. Produk-produk komersil dari tumbuhan "neem" diidentifikasi memiliki aktivitas antifidan, menghambat peletakan telur, dan keperidian (*fecundity*), walaupun secara fundamental bersifat racun terhadap *P. xylostella*. Oleh karenyanya, aplikasinya disarankan dengan menggunakan konsentrasi atau dosis minimum agar tidak terjadi resistensi serangga hama (Schmutterer, 1990).



Gambar 3. Sayatan melintang pada jaringan usus tengah larva *P. xylostella* L., dan perubahan diameter lumen usus tengah setelah didedahkan berbagai konsentrasi andrografolida. 1. Sayatan kelompok kontrol, 2-6. Sayatan kelompok perlakuan (2. 1000 ppm, 3.1600 ppm, 4. 2500 ppm 5. 4000, 6. 6500 ppm), L_a. Lumen kelompok kontrol, L_b. Lumen kelompok perlakuan andrografolida 6500 ppm, dengan diameter lumen terkecil. (Mallory -Azan, Perbesaran 100×)

Fakta pada azadirachta tersebut berbeda yang dilaporkan oleh Hermawan *et.al* (1997), yaitu selama pengujian tidak ditemukan larva *P. xylostella* yang mati sekalipun didedahkan pada konsentrasi andrografolida yang tinggi. Hal ini mengindikasikan bahwa andrografolida tidak memiliki efek letal secara langsung terhadap serangga hama, sehingga timbulnya resistensi hama akan berjalan lambat atau tidak terjadi sama sekali.

SIMPULAN

Andrografolida pada konsentrasi 1000, 1600, 2500, 4000 dan 6500 ppm dapat menurunkan aktivitas kelenjar pencernaan dan menyebabkan pembesaran diameter lumen *P. xylostella.*

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Yetty Yusri Gani Dra. MS dan Prof. Tarkus Suganda, Ir., M. Sc., Ph.D. yang telah membantu dalam memperbaiki dan penulisan manuscript. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada DP2M Dikti yang telah membantu biaya penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

Agresti, A.T., Kasmara, K., & Hermawan, W. 2001. Efek Andrografolida terhadapJaringan Saluran Pencernaan Larva *Plutella xylostella* L. Makalah Simposium Pengendalian Hayati Serangga. PEI Cabang Bandung.

Brauer, A. 1964. Laboratory Directions for Histological Techniques. Minneapolis 15, Minnesota: Department of Zoology, University of Kentucky. Burgess Publishing Co.

Chen, E.Y. & Kao, C.H. 1999. Recent studies on insecticide resistance in Taiwan. In Challenges to development of insecticides resistance. Proceedings of the International Symposium on Insecticide Resistance (T. Miyata. ed.) Nagoya, Japan. pp. 16-22

Finney, J. 1990. Where do we stand? Where do we go? In World crop protection prospects. Seventh International Conference of Pesticide Chemistry. Hamburg, W. Germany. 26 pp.

Gasperz, V. 1991. Metode Perancangan Percobaan untuk Ilmu-Ilmu Pertanian, Teknik dan Biologi. Bandung: Armico.

Hermawan, W., Nakajima, S.I., Tsukuda, R., Fujisaki, K., & Nakasuji, F. 1997. Isolation of Antifeedant Compound from *Andrographis paniculata* (Acanthaceae) Against The Diamondback Moth, *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Yponomeutidae). Appl. Entomol. Zool, 32(4): 551–559.

Lowery, D. T & Isman, M. B. 1993. Antifeedant activity of extracts from neem, *Azaditachta indica*, to strawbery aphid, Chaetosiphon fragaefolli. J. Chem. Ecol., 8: 1761-1773.

Miyata T., Saito, T. & Noppum, V. 1986. Diamondback Moth Management (N. S. Talekar and T. D. Griggs. Eds.) AVDRC. Taiwan. pp. 347-357

Partaya. 2000. Toksisitas Biji Mimba (Azadirachta indica) terhadap Usus Ulat Kubis *Plutella xylostella* L. serta Pengaruhnya terhadap Usus Ulat. Makalah pada Seminar Nasional Biologi XVI. 25-26 Juli 2000. Bandung.

Richards, O.W. & Davies, R.G. 1957. A General Textbook of Entomology. Ed ke-11. Roma dan London: Butler dan Tanner Ltd.

Schoonhoven, L.M. 1982. Biological Aspect of Antifeedants. Ent. Exp. & Appl. 31, 57-69.

Schmutterer, H. 1990. Properties and potential of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica*. Ann. Rev. Entomol, 35: 1271-1297.

Shelton, A.M. 2001. Management of the diamondback moth: dėjá vu all over again? In Program and Abstract, Fourth International Workshop on the Management of Diamondback Moth and Criciferous Pests. Melbourne, Australia. p. 5

Talekar, N. S & Shelton, A.M. 1993. Biology, ecology, and management of the diamondback moth. Ann. Rev. Entomol, 38: 275-301.