

MONITORING RESISTENSI POPULASI *Plutella xylostella*, L TERHADAP RESIDU EMAMEKTIN BENZOAT DI SENTRA PRODUKSI TANAMAN KUBIS PROPINSI JAWA TENGAH

*(Monitoring the Resistance of *Plutella xylostella*, L Population against Emamektin Benzoate Residues in The Cabbage Production Areas of Central Java Province)*

Udi Tarwotjo^{1*}, Jesmandt Situmorang², R.C.Hidayat Soesilohadi² dan Edhi Martono³

¹Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro
Jalan Prof. H. Soedarto, SH Tembalang Semarang, 50275

²Fakultas Biologi, Sekip Utara, Universitas Gadjah Mada Yogyakarta, 55281

³Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada,
Jalan Flora No. 1 Bulak Sumur, Yogyakarta, 55281

Penulis korespondensi. Telp. 024-7474754 Fax. 024-76480923;
Email: udi.tarwotjo@yahoo.com

Diterima: 29 April 2014

Disetujui: 16 Juli 2014

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui tingkat kepekaan populasi lapangan *Plutella xylostella* terhadap residu dari insektisida emamektin benzoat, menetapkan konsentrasi diagnostik untuk memonitor perkembangan resistensi populasi *P. xylostella* terhadap insektisida emamektin benzoat, dan untuk menentukan mekanisme resistensi *P. xylostella* terhadap insektisida tersebut. *P. xylostella* dikoleksi dari sepuluh Kecamatan Provinsi Jawa Tengah sejak Agustus 2010 sampai September 2012. Data dari uji bioassay dianalisis dengan probit analisis untuk mendapatkan nilai LC₅₀. Hasil uji kepekaan menunjukkan, bahwa populasi Puasan (Ngablak) nilai Faktor resistensi (FR) 3,97 kali merupakan populasi dengan nilai FR paling tinggi, dan nilai FR yang paling rendah adalah populasi Selo (Boyolali) dan merupakan populasi yang paling peka. Hasil pengujian validasi konsentrasi diagnostik menunjukkan, bahwa nilai χ^2 hitung semua populasi yang diuji lebih kecil dari nilai χ^2 tabel, maka konsentrasi diagnostik yang ditetapkan (2443,99 ppb) sesuai untuk monitoring kepekaan populasi *P. xylostella*. Resistensi *P. xylostella* terhadap insektisida emamektin benzoat disebabkan oleh laju peningkatan detoksifikasi di dalam tubuh serangga oleh enzim MFO, tetapi aktivitas enzim esterase non spesifik tidak mencerminkan aktivitas esterase.

Kata kunci: monitoring, resistensi, insektisida *Plutella xylostella*, emamektin benzoat, detoksifikasi, pencemaran.

Abstract

*The objectives of this research to know the susceptible of *P. xylostella* population against emamektin benzoate insecticide, to monitor the resistance development of *P. xylostella* against insecticides by determine of a diagnostic concentration, to determine the resistance mechanism of *P. xylostella* population. *P. xylostella* was collected from central of Java areas from August 2011 up to September 2012. The data from bioassay test was analyzed using Probit analysis to obtain LC₅₀ value. The susceptibility test of the insect resulted show that Puasan population (Ngablak) FR value was 3.97 and it was higher than the Selo population (Cepogo). The concentration of 2443.99 ppb as selected diagnostic concentration. The test result of diagnostic concentration validation indicated that the value of calculated χ^2 of all the tested population was lower than the value of χ^2 table. Therefore the diagnostic concentration of 2443.99 ppb can be used monitoring device of susceptible *P. xylostella* population. The resistance mechanism of the *P. xylostella* to the insecticide resulted from the increase in the detoxification rate in the insect body by MFO enzyme, but non-specific esterase enzyme activity did not reflect the esterase activity.*

Keywords: monitoring, resistance, insecticide, *Plutella xylostella*, emamektin benzoate, detoksifikasi, pollution.

PENDAHULUAN

Kubis adalah salah satu tanaman hortikultura yang banyak dibutuhkan masyarakat dan mempunyai nilai ekonomi cukup tinggi, karena tanaman kubis sebagai sumber vitamin, mineral, karbohidrat, protein, dan lemak. Tanaman kubis

(Familia: Brassicaceae) mengandung sulfosida S-metilsistein yang dapat menurunkan kolesterol darah. Faktor penghambat dalam usaha meningkatkan produksi kubis antara lain adalah gangguan hama, penyakit, dan gulma (Sastroswojo, 1987). Larva *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae) dan *Crociodolomia*

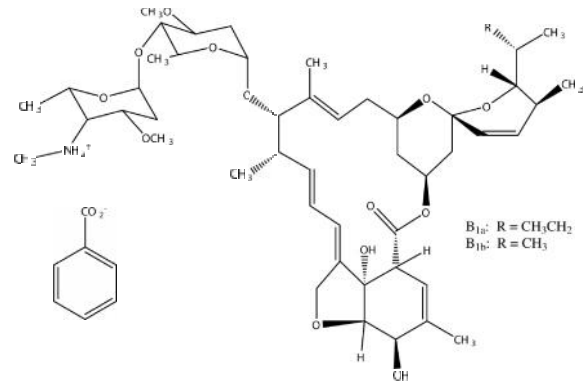
binotalis Zeller (Lepidoptera: Pyralidae)) adalah dua jenis hama perusak tanaman kubis pada musim kemarau (Elzinga, 2004).

Larva *P. xylostella* merupakan hama utama pada tanaman Brassicaceae menyerang tanaman kubis yang masih muda maupun crop kubis (Shelton dan Wyman, 1990). Serangan *P. xylostella* dapat mengakibatkan tanaman kubis tidak membentuk crop, sehingga panen gagal. Kehilangan hasil kubis di Malaysia oleh *P. xylostella* mencapai 87,5 % apabila tidak digunakan insektisida (Ho, 1997). Kehilangan hasil kubis di Indonesia oleh *P. xylostella* bersama dengan *Cr. binotalis* di musim kemarau mencapai 100% tanpa digunakan insektisida (Winarto dan Nazir, 2004).

Pengendalian hama kubis di Indonesia masih banyak bergantung pada penggunaan insektisida. Meskipun pestisida memiliki banyak keuntungan, seperti cepat menurunkan populasi hama, mudah penggunaannya, dan secara ekonomis menguntungkan, namun dampak negatif penggunaannya semakin lama semakin dirasakan oleh masyarakat. Efek pestisida terhadap kesehatan masyarakat antara lain menyebabkan terjadinya keracunan pada manusia, baik keracunan akut ataupun kronis, sedangkan dampak terhadap kelestarian lingkungan hidup antara lain kematian jasad berguna yang membantu pengemburan tanah karena penggunaan insektisida granuler. Demikian pula pembuangan bahan sisa pestisida ke dalam air, ataupun pencucian alat-alat aplikasi di dalam saluran irigasi atau lingkungan air lainnya merupakan ancaman terhadap biota air. Penggunaan pestisida di dataran tinggi terutama dalam pengendalian hama tanaman, penggunaannya sangat intensif, baik jenis insektisida yang digunakan, dosis penggunaan yang tinggi maupun interval penyemprotan yang sangat pendek. Keadaan ini dapat menimbulkan berbagai masalah serius, di antaranya adalah munculnya resistensi, resurgensi, peletusan hama kedua (Djojsumarto, 2008).

Akhir-akhir ini dikembangkan insektisida yang bersifat lebih selektif dan ramah lingkungan dibandingkan insektisida konvensional, yaitu emamektin benzoat (Gambar 1)

Emamektin benzoat termasuk dalam golongan avermektin. Avermektin merupakan hasil fermentasi mikroorganisme tanah yaitu *Streptomyces avermitilis* (Clark dkk., 1994). Emamektin benzoat juga merupakan racun perut dan digunakan untuk mengendalikan hama *Spodoptera exigua* pada tanaman bawang merah, *Spodoptera litura*, *Heliothis* sp dan *Thrips*, sp pada tanaman cabai, *P. xylostella* pada tanaman



Gambar 1: Struktur molekul emamektin benzoat B1a: C₄₉H₇₅NO₁₃-C₇H₆O₂ B1b: C₄₈H₇₃NO₁₃-C₇H₆O₂ (Dybas, dkk., 1989)

kubis, dan *H. armigera* pada tanaman tomat (Dybas dan Rabu, 1989).

Petani kubis di Kecamatan Getasan, Kopeng dan Ngablak mengatakan bahwa efektivitas emamektin benzoat (Proclaim 5 SG*, Syngenta Indonesia) terhadap *P. xylostella* telah menurun dibandingkan dengan saat insektisida tersebut dipakai pertama kali. Penggunaan emamektin benzoat yang intensif diduga menjadi salah satu faktor penyebab terjadinya resistensi. Oleh karena itu pengujian kepekaan populasi *P. xylostella* terhadap insektisida emamektin benzoat perlu dilakukan agar diketahui tingkat resistensinya.

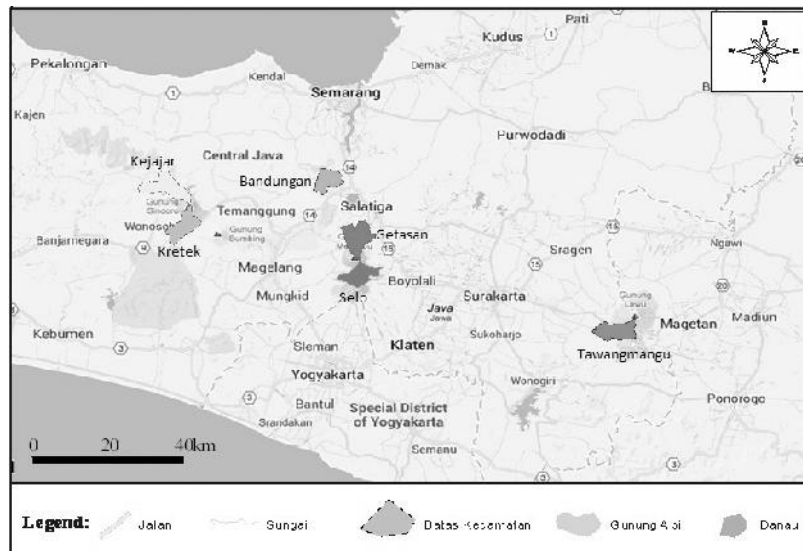
Monitoring resistensi perlu dilakukan untuk melihat perubahan status resistensi populasi terhadap suatu insektisida, dan biasanya monitoring dilakukan dengan menggunakan 3-4 seri konsentrasi untuk mendapatkan nilai *Lethal Concentration* (LC), namun metode ini kurang peka terhadap peristiwa resistensi yang baru muncul. Oleh karena itu dikembangkan metode yang lebih sensitif terhadap perubahan kecil frekuensi resistensi, yaitu dengan penetapan konsentrasi diagnostik (Mascarenhas dan Boethel, 2000).

Penelitian bertujuan untuk mengetahui status resistensi populasi *P. xylostella* dari sepuluh kecamatan di propinsi Jawa Tengah terhadap insektisida emamektin benzoat, monitoring resistensi populasi *P. xylostella* terhadap emamektin benzoat dengan penetapan konsentrasi diagnostik, dan analisis biokimiawi untuk menentukan mekanisme resistensi *P. xylostella* terhadap insektisida tersebut.

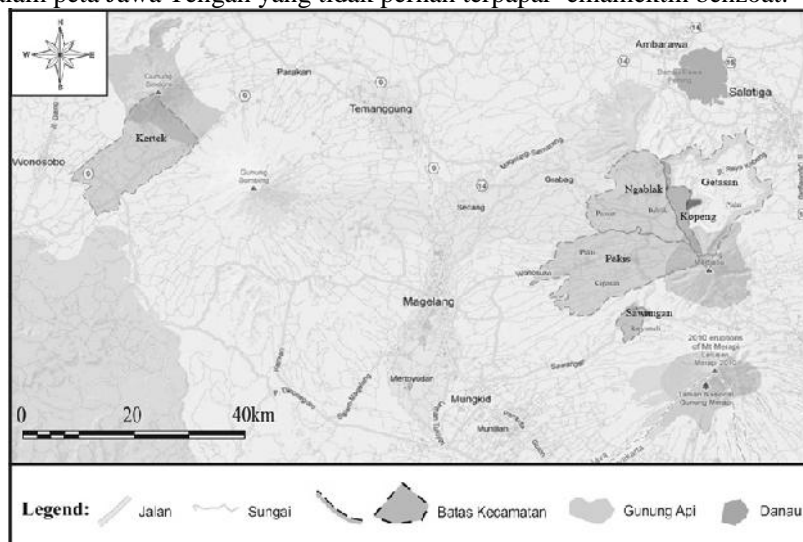
METODE PENELITIAN

Lokasi dan waktu penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Entomologi Fakultas Biologi Universitas Gadjah



Gambar 2: Lokasi pengambilan sampel *P. xylostella* di Kecamatan Kejajar, Kertek, Cepogo, Bandungan, Tawangmangu dalam peta Jawa Tengah yang tidak pernah terpapar emamektin benzoat.



Gambar 3: Lokasi pengambilan sampel *P. xylostella* di Kecamatan Getasan, Ngablak, Pakis, Sawangan yang terpapar emamektin benzoat pada peta Kabupaten Magelang.

Mada dari bulan Agustus 2010-November 2012. Suhu ruangan berkisar antara 26-31 °C dengan kelembaban 64-84%.

Penyediaan populasi *P. xylostella*

Populasi *P. xylostella* dikoleksi dari daerah sentra produksi tanaman kubis yang berasal dari Kopeng, Bandungan (Semarang), Ngablak, Pakis, Ketep (Magelang), Cepogo (Boyolali), Kejajar, Garung, Kertek (Wonosobo), Tawangmangu (Karanganyar).

Penangkaran populasi *P. xylostella*

Pupa pada setiap populasi dipelihara pada tanaman kubis yang berumur 30-35 hari yang ditanam dalam polybag, dan dipelihara di dalam sangkar kasa yang berbingkai kayu (50cm x 50cm

x 100cm) di ruang *massrearing* laboratorium Entomologi. Pakan imago berupa cairan madu 10%, larva instar tiga hasil pemeliharaan ini digunakan sebagai serangga uji.

Uji kepekaan populasi *P. xylostella* terhadap emamektin benzoat

Setiap populasi lapangan diuji kepekaannya terhadap insektisida emamektin benzoat. Pengujian dilakukan dalam 2 tahap, yaitu uji pendahuluan dan uji utama.

Uji pendahuluan

Pengujian dilakukan untuk mengetahui seri konsentrasi yang akan digunakan dalam uji utama. Konsentrasi yang digunakan adalah konsentrasi anjuran 5000 ppb bahan aktif yang diencerkan

sepuluh kali sampai diperoleh lima seri konsentrasi.

Pakan larva berupa daun kubis yang dipotong seluas 5 cm² sebanyak tiga potong dicelupkan ke dalam masing-masing seri konsentrasi selama 10 detik, kontrol dicelup air. Daun kubis yang telah dikeringanginkan dan lima belas ekor larva F₁ instar tiga dimasukkan ke dalam botol pengujian yang telah berlabel konsentrasi. Setiap perlakuan diulang tiga kali. Pengamatan mortalitas dilakukan 24 jam setelah perlakuan dan dilanjutkan tanpa perlakuan insektisida sampai semua serangga uji mati.

Uji utama

Uji utama dilakukan dengan metode yang sama dengan uji pendahuluan, sedangkan konsentrasi yang digunakan, adalah konsentrasi yang dapat mematikan 5-99% larva uji yang telah ditentukan berdasarkan uji pendahuluan.

Analisis data

Data yang diperoleh dari uji utama (*bioassay*) dianalisis menggunakan Probit analisis untuk mendapatkan nilai LC₅₀ (Finney, 1971). Analisis data dilakukan bila mortalitas kontrol < 20% (Busvine, 1971). Tingkat resistensi suatu populasi terhadap populasi lainnya dibandingkan dengan menghitung faktor resistensi (FR) (Untung, 2006) dengan menggunakan rumus:

$$FR = \frac{LC50 \text{ serangga uji}}{LC50 \text{ serangga peka}} \quad (1)$$

Suatu populasi serangga telah resisten terhadap insektisida tertentu apabila populasi tersebut memiliki nilai FR > 4 (Winteringham, 1969).

Monitoring Resistensi

Monitoring resistensi serangga terhadap insektisida biasanya dilakukan dengan menguji 4-5 seri konsentrasi yang menyebabkan mortalitas 10-90%. Data mortalitas yang diperoleh digunakan untuk mengestimasi nilai LC₅₀ dan nilai probit yang diperoleh dihubungkan satu sama lain. Metode ini hanya digunakan untuk mendokumentasikan tingkat resistensi tinggi, tetapi tidak sensitif terhadap perubahan kecil frekuensi individu resisten, dan kurang sesuai untuk monitoring terhadap resistensi yang baru muncul pada suatu populasi (Halliday dan Burnham, 1990 dalam Marcon dkk., 2000).

Penetapan konsentrasi diagnostik

Cara untuk monitoring resistensi adalah dengan menggunakan LC₉₉ sebagai konsentrasi diagnostik, yaitu suatu konsentrasi yang dapat mematikan 99% populasi peka dan 1% populasi resisten (Mink dan Boethel, 1992). Namun demikian pada kondisi tertentu teknik tersebut

tidak dapat diimplementasikan karena perbedaan tingkat resistensi yang signifikan belum diperoleh. Oleh karena itu modifikasi perlu dilakukan, misalnya Mascarenhas dan Boethel (2000) menggunakan persentase kematian populasi 90-95% sebagai konsentrasi diagnostik. Penentuan LC₉₀ ataupun LC₉₅ diuji dengan Probit analisis (Finney, 1971).

Penetapan konsentrasi diagnostik didasarkan pada hasil pengujian kepekaan sebelas populasi *P. xylostella* terhadap insektisida emamektin benzoat. Konsentrasi diagnostik ditentukan dengan membandingkan χ^2 hitung hasil pengujian kepekaan dari sebelas populasi dengan χ^2 tabel. Populasi yang mempunyai χ^2 hitung < χ^2 tabel dipilih untuk penetapan konsentrasi diagnostik. Mortalitas yang disebabkan oleh konsentrasi yang sama dari populasi terpilih dijadikan satu.

Validasi lapangan

Konsentrasi diagnostik diujikan ke sebelas populasi lapangan. Pengujian dilakukan dengan larutan insektisida konsentrasi anjuran 5000 ppb bahan aktif dan konsentrasi diagnostik yang telah ditentukan, dan kontrol digunakan air. Validasi lapangan ditentukan dengan menghitung:

$$\chi^2 = \frac{(\text{observed} - \text{expected})^2}{\text{expected}} \quad (2)$$

Konsentrasi diagnostik valid apabila χ^2 hitung < χ^2 tabel pada $\alpha = 0,05$ dengan derajat bebas = 1 (Trisyono dan Whalon, 1999).

Analisis biokimiawi

Untuk menentukan mekanisme resistensi populasi *P. xylostella* terhadap insektisida emamektin benzoat, dilakukan analisis hambatan oleh insektisida tersebut terhadap aktivitas enzim asetilkolinesterase (AChE) dan analisis aktivitas enzim esterase. Analisis aktivitas enzim asetilkolinesterase ditentukan menurut metode Ellman, dkk. (1961), sedangkan analisis aktivitas enzim esterase ditentukan menurut metode Kresze (1988).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji kepekaan populasi *P. xylostella*, L terhadap insektisida emamektin benzoat

Monitoring resistensi *P. xylostella* terhadap emamektin benzoat dilakukan untuk melihat perkembangan status resistensi populasi *P. xylostella* dan monitoring dilakukan dengan 5 seri konsentrasi untuk mendapatkan nilai LC. Hasil monitoring menunjukkan, bahwa nilai LC₅₀ populasi *P. xylostella* berkisar antara 53,42 ppb sampai 212,13 ppb. Nilai LC₅₀ terendah dijumpai pada populasi Selo (Cepogo) (53,42 ppb) dan

tertinggi pada populasi Puasan (Ngablak) (212,13 ppb).

Populasi Selo (Cepogo) merupakan populasi yang faktor resistensinya paling rendah terhadap emamektin benzoat karena tidak pernah terpapar insektisida emamektin benzoat dan $LC_{50} = 53,42$ ppb jauh di bawah konsentrasi anjuran (5000 ppb), oleh karena itu nilai LC_{50} populasi Selo digunakan sebagai pembandingan untuk menentukan faktor resistensi populasi lapangan *P. xylostella* yang diuji. Populasi Selo merupakan wilayah yang kondisi topografinya tertutup karena terhalang dengan gunung Merbabu, sehingga relatif terpisah dengan populasi lainnya. Lokasi yang terisolasi akan menghambat mobilitas atau migrasi antar populasi, sehingga populasi di daerah tersebut cenderung lebih peka dibandingkan dengan populasi di wilayah terbuka, hal ini terjadi karena di wilayah terbuka terjadi perkawinan antar populasi yang mempunyai keragaman genetik (Trisyono, 2004).

Populasi Tawangmangu yang sama sekali tidak menggunakan emamektin benzoat atau insektisida lain yang mempunyai bahan aktif yang sama, namun berdasarkan hasil uji kepekaan faktor resistensinya cukup tinggi (FR= 1,46). Hal ini disebabkan karena populasi Tawangmangu berhubungan langsung dengan daerah sentra produksi tanaman kubis. Kondisi geografis populasi yang terbuka dan saling berhubungan memungkinkan terjadinya migrasi *P. xylostella* dan terjadi perkawinan individu-individu antar populasi (Nuryanti, 2001).

Populasi Kertek meskipun tidak pernah terpapar dengan insektisida emamektin benzoat sama sekali dan tidak berhubungan secara langsung, namun faktor resistensinya cukup tinggi. Hal ini mungkin disebabkan karena faktor transportasi, dimana hasil produksi tanaman kubis oleh petani kubis Getasan, Ngablak dan Pakis sebagian dijual ke daerah Kertek (Wonosobo).). Selain itu faktor kecepatan angin juga mempermudah ngengat *P. xylostella* tersebar ke berbagai daerah (Mau dan Kessing 2007), memungkinkan terjadinya mobilisasi atau migrasi populasi *P. xylostella* ke populasi yang faktor resistensinya rendah, sehingga terjadi perkawinan individu-individu antar populasi yang mempunyai keragaman genetik. Menurut Georghiou dan Taylor (1986) bahwa perkawinan antara individu resisten dan individu peka dalam populasi peka akan meningkatkan frekuensi alel, sehingga pada generasi berikutnya akan memiliki genotip yang sebagian besar terdiri atas individu heterosigot (RS) yang membawa sifat resisten.

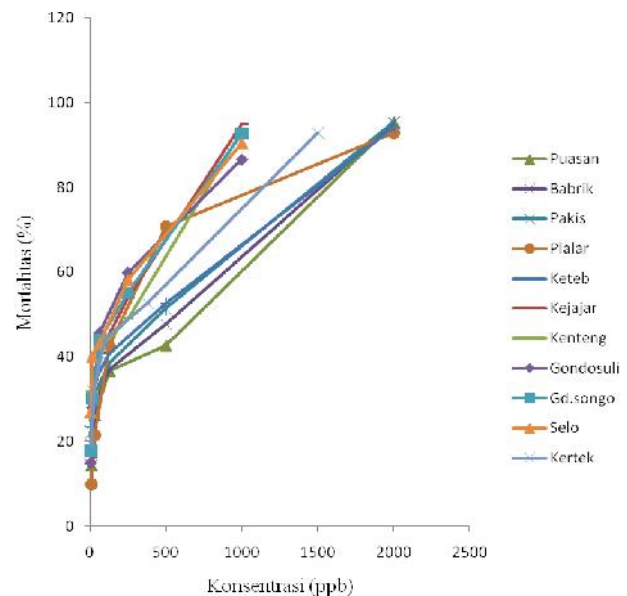
Populasi Puasan mempunyai nilai FR tertinggi, yakni 3,97 kali populasi Selo, karena

frekuensi aplikasi insektisida emamektin benzoat di desa Puasan dilakukan 2-3 kali seminggu jika terjadi serangan berat, sedangkan serangan ringan biasa dilakukan seminggu sekali. Penggunaan nsektisida secara berlebihan akan mendorong terjadinya resistensi, karena individu-individu peka akan tereliminasi oleh insektisida (Trisyono, 2004).

Populasi Plalar (Getasan), Kaponan (Pakis), dan Puasan (Ngablak) merupakan populasi yang intensif menggunakan emamektin benzoat, dan merupakan lokasi yang wilayah geografisnya terbuka serta saling berhubungan antar lokasi, sehingga faktor resistensi cukup tinggi dibandingkan dengan lokasi populasi lainnya (Tabel 1).

Larva yang digunakan adalah larva instar 3 (± 14 hari) setelah tampak adanya gerakan pada jaringan permukaan atas daun; LC_{50} yang diikuti dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata; FR= faktor resistensi; Nilai t^2 tabel ($\alpha = 0,05$)= 7,81.

Hasil pengujian kepekaan dari sebelas populasi yang diuji menunjukkan bahwa populasi-populasi tersebut masih peka terhadap insektisida emamektin benzoat. Terbukti dari hasil pengujian terjadi mortalitas > 90% dengan perlakuan di bawah konsentrasi 5000 ppb bahan aktif. Perbedaan faktor resistensi 3 kali merupakan tanda awal munculnya resistensi terhadap insektisida emamektin benzoat. Perbedaan tingkat resistensi pada populasi yang berbeda secara geografis ini mungkin menggambarkan variasi alami diantara populasi dan tekanan seleksi karena pemaparan insektisida (Siegfried dkk. 2000, Siegfried dkk. 2005).



Gambar 4. Tanggapan ke sebelas populasi *P. xylostella* terhadap insektisida emamektin benzoat.

Tabel 1. Kepekaan populasi *P. xylostella* kesebelas populasi di Jawa Tengah terhadap insektisida emamektin benzoat (N= 270).

Populasi	Kecamatan	Mortalitas kontrol	Slope \pm SE	LC ₅₀ (SK 95%) (ppb)	FR	χ^2
Puasan	Ngablak 1	2,27	0,89 \pm 0,13	212,13(128,15-351,16) ^b	3,97	16,61
Babrik	Ngablak 2	2,27	0,74 \pm 0,14	152,13 (96,30-242,83) ^b	2,85	13,29
Kaponan	Pakis	2,27	0,80 \pm 0,12	149,77 (86,74-258,58) ^b	2,80	14,18
Plalar	Getasan	2,27	1,13 \pm 0,14	144,44 (88,96-199,71) ^b	2,70	1,12
Kertek	Kertek	4,65	0,73 \pm 0,12	137,85 (75,11-252,99) ^b	2,58	19,65
Ketep	Sawangan	2,27	0,75 \pm 0,12	133,30 (75,50-235,34) ^b	2,50	12,08
Kejajar	Kejajar	9,09	0,83 \pm 0,11	82,81 (70,70 - 96,99) ^c	1,55	6,94
Kenteng	Sumowono	0,00	0,80 \pm 0,12	78,32 (45,86-123,75) ^a	1,47	14,04
Gondosuli	Tawangmangu	4,65	0,85 \pm 0,12	78,16 (45,71-121,83) ^a	1,46	1,94
Gd. songo	Bandungan	2,27	0,84 \pm 0,12	75,46 (63,84 - 89,14) ^a	1,41	6,01
Selo	Cepogo	2,27	0,67 \pm 0,11	53,42 (44,95 - 63,45) ^a	1,00	5,85

Keterangan : Larva yang digunakan adalah larva instar 3 (\pm 14 hari) setelah tampak adanya gerakan pada jaringan permukaan atas daun; LC₅₀ yang diikuti dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata; FR= faktor resistensi; Nilai ² tabel ($\alpha = 0,05$)= 7,81.

Berdasarkan tingkat kemiringan (*slope*) populasi terhadap emamektin benzoat (gambar 4) menunjukkan bahwa populasi *P. xylostella* yang dikoleksi dari sepuluh kecamatan mempunyai tingkat kemiringan yang bervariasi antara 0,667-1,127. Populasi *P. xylostella* yang dikoleksi dari lokasi daerah sentra produksi tanaman kubis yang terpapar dengan insektisida emamektin benzoat yaitu populasi Puasan, Babrik, Kaponan, Plalar, dan Ketep mempunyai tingkat kemiringan yang berkisar antara 0,741-1,127 lebih besar jika dibandingkan tingkat kemiringan dari populasi yang sama sekali tidak menggunakan emamektin benzoat dalam mengendalikan *P. xylostella*, yaitu populasi Selo, Gedongsongo, Gondosuli, Kenteng, dan Kejajar yang berkisar antara 0,667- 0,846. Hal ini menunjukkan bahwa suatu populasi yang tingkat kemiringannya kecil menunjukkan tingkat heterogenitasnya tinggi, karena terdapat keragaman genetik yang tinggi sehingga populasi kurang stabil dan berpotensi untuk menjadi suatu populasi yang resisten.

Populasi yang heterogen menunjukkan adanya keragaman tanggapan suatu populasi terhadap insektisida dan apabila populasi tersebut diberi tekanan seleksi terus menerus dengan jenis insektisida yang sama maka populasi akan cepat berkembang menjadi resisten. Populasi yang tingkat kemiringannya lebih besar, menunjukkan bahwa tanggapan populasi *P. xylostella* terhadap insektisida emamektin benzoat bersifat homogen. Semakin besar nilai slope, berarti populasi tersebut homogenitasnya relatif sama yang terdiri atas individu-individu resisten dengan tingkat resistensi yang relatif sama (Kerns dkk. 1998).

Penetapan konsentrasi diagnostik

Penetapan konsentrasi diagnostik didasarkan pada hasil pengujian kepekaan *P. xylostella* terhadap emamektin benzoat. Penentuan LC₉₅ dari sebelas populasi melebihi konsentrasi anjuran 5000 ppb bahan aktif sehingga tidak dapat digunakan sebagai konsentrasi diagnostik, karena hasil uji kepekaan menunjukkan bahwa populasi-populasi yang diuji masih peka terhadap emamektin benzoat. Apabila konsentrasi diagnostik melebihi 5000 ppb akan terjadi mortalitas 100%, sehingga tidak akan peka terhadap perubahan kecil frekuensi resistensi, karena tidak diketahui secara pasti batas terendah konsentrasi yang menyebabkan mortalitas 100%. Tidak semua populasi hasil uji kepekaan digunakan untuk penetapan konsentrasi diagnostik, dan jika digunakan untuk penetapan konsentrasi diagnostik akan menghasilkan LC₉₀ sebesar 4007,74 ppb, dan LC₉₅ sebesar 16291,02 ppb. Hasil ini terlalu tinggi bila dilihat dari hasil pengujian kepekaan, karena dengan konsentrasi 2000 ppb telah menyebabkan kematian > 90%, sehingga tidak dapat digunakan sebagai konsentrasi diagnostik. Hasil uji kepekaan menunjukkan bahwa populasi-populasi yang diuji masih peka terhadap emamektin benzoat.

Lima populasi dari kesebelas populasi yang χ^2 hitung < χ^2 tabel digunakan untuk penetapan konsentrasi diagnostik, yaitu populasi Selo (Cepogo), Gedongsongo (Bandungan), Gondosuli (Tawangmangu), Kejajar (Wonosobo) dan Plalar (Getasan). Konsentrasi diagnostik yang ditetapkan adalah LC₉₀ = 2443,99 ppb dengan batas konsentrasi terendah 1213,67 ppb dan tertinggi 4921,53 ppb. Berdasarkan hasil uji kepekaan

semua populasi yang diuji masih peka pada konsentrasi 2000 ppb dengan mortalitas > 90%.

Validasi lapangan

Monitoring dilakukan dengan membandingkan data awal dengan data pengamatan pada periode tertentu. Data awal menunjukkan bahwa konsentrasi 5000 ppb menyebabkan terjadinya mortalitas 100% dan pada periode tertentu kemungkinan masih menyebabkan mortalitas 100%, padahal sebenarnya telah terjadi perubahan frekuensi resistensi. Hal ini disebabkan karena pada konsentrasi 5000 ppb tidak diketahui batas terendah konsentrasi yang menyebabkan mortalitas 100%, sehingga akibatnya terjadi kesalahan dalam menyimpulkan hasil monitoring.

Hasil uji validasi konsentrasi diagnostik menunjukkan, bahwa dengan konsentrasi diagnostik 2443,99 ppb menyebabkan terjadinya mortalitas 90% sebesar 51,52% dari tujuh belas kali ulangan diantara 33 kali pengujian (yaitu

Pakis II, Plalar I, Kejajar, Garung, dan Bandungan), sedangkan mortalitas 90% sebesar 48,48% dari enam belas kali ulangan diantara 33 kali pengujian (Pakis I, Plalar II, Puasan I, dan Puasan II) dengan nilai χ^2 hitung kesebelas populasi lebih kecil daripada χ^2 tabel (df = 1; $\alpha = 0,05$) = 3,84. (Tabel 2).

Pengujian dengan konsentrasi anjuran 5000 ppb terjadi mortalitas berkisar antara 95,33-100%, sedangkan pengujian dengan konsentrasi 5000 ppb yang menyebabkan mortalitas 100% sebesar 72,73% dari 24 kali ulangan diantara 33 kali pengujian, sehingga terbukti bahwa populasi tersebut masih peka terhadap emamektin benzoat.

Monitoring diperlukan alat pengukur yang peka sehingga akan memberikan hasil yang optimal untuk pengambilan keputusan. Konsentrasi 2443,99 ppb lebih peka terhadap perubahan kecil frekuensi resistensi dibandingkan konsentrasi 5000 ppb.

Tabel 2. Validasi konsentrasi diagnostik untuk monitoring kepekaan populasi *P. xylostella* terhadap insektisida emamektin benzoat.

Populasi	Kecamatan	Harapan	Mortalitas terkoreksi (%)		Observasi 5000 (ppb)
			Observasi 2443,99 (ppb)	χ^2 hitung	
Kenteng	Sumowono	90	88,39	0,03	100
Gondosuli	Tawangmangu	90	85,81	0,20	100
Pakis 1	Pakis	90	86,35	0,15	100
Pakis 2	Pakis	90	91,90	0,04	97,23
Plalar 1	Getasan	90	92,67	0,08	95,33
Plalar 2	Getasan	90	86,67	0,12	100
Kejajar	Kejajar	90	94,25	0,20	100
Garung	Garung	90	94,87	0,26	97,73
Puasan 1	Ngablak	90	82,76	0,58	100
Puasan 2	Ngablak	90	84,49	0,34	97,61
Bandungan	Bandungan	90	95,00	0,28	95,33

Mortalitas hasil pengamatan dikoreksi dengan formula Abbott (1925) jika mortalitas kontrol < 20%. χ^2 tabel (df = 1; $\alpha = 0,05$) = 3,84

Tabel 3. Kandungan protein, aktivitas enzim asetilkolinesterase (AChE) dalam homogenat larva *P. xylostella* instar tiga, dan persentase hambatan aktivitas enzim oleh insektisida emamektin benzoat pada $\lambda = 405$ nm

Populasi	Absorbansi rerata	Kandungan protein ($\mu\text{g/mL}$)	Aktivitas AChE (M substrat/menit/ μg protein)		Hambatan Aktivitas AChE (%)
			Perlakuan insektisida	Tanpa insektisida	
Kaponan	0,340	1,089	0,023	0,024	4,17
Kertek	0,307	0,957	0,020	0,021	4,76
Keteb	0,224	1,029	0,014	0,015	6,67
Babrik	0,153	0,938	0,010	0,014	28,57
Puasan	0,186	1,282	0,012	0,019	36,84
Plalar	0,182	0,914	0,012	0,014	14,29
Kejajar	0,227	1,383	0,015	0,015	0,00
Gondosuli	0,209	1,230	0,014	0,014	0,00
Kenteng	0,246	1,338	0,016	0,012	0,00
Gdongsongo	0,220	0,936	0,015	0,014	0,00
Selo	0,240	1,515	0,016	0,015	0,00

Analisis biokimiawi

Kandungan protein dalam homogenat *P. xylostella* ditentukan dengan metode Lowry (Kresze, 1988), sedangkan untuk menentukan mekanisme resistensi dilakukan analisis hambatan oleh insektisida emamektin benzoat terhadap aktivitas enzim asetilkolinesterase dan analisis aktivitas enzim esterase.

Hasil pengamatan kandungan protein dalam homogenat larva *P. xylostella* instar tiga pada populasi Kaponan, Kertek, Keteb, Babrik, Plalar, dan Puasan berkisar antara 0,914-1,282 µg/mL dengan kisaran aktivitas enzim asetilkolinesterase 0,014-0,024 M substrat/menit/µg protein. Untuk populasi Kejajar, Gondosuli, Kenteng, Gedongsongo, dan Selo kisaran kandungan protein adalah 0,936-1,515 µg/mL dengan kisaran aktivitas enzim asetilkolinesterase antara 0,012-0,015 M substrat/menit/µg protein (Tabel 3).

Hasil pengujian hambatan aktivitas enzim asetilkolinesterase oleh insektisida emamektin benzoat, bahwa tingkat resistensi *P. xylostella* terhadap insektisida tersebut pada sebelas populasi yang diuji berkaitan dengan tingkat ketidakpekaan asetilkolinesterase. Tingkat hambatan aktivitas asetilkolinesterase oleh emamektin benzoat pada populasi yang diuji berkisar antara 4,17-36,84 %, hambatan yang paling besar terjadi pada populasi Plalar (Getasan), dimana persentase hambatannya sebesar 36,84%, sedangkan hambatan yang terkecil terjadi pada populasi Pakis sebesar 4,17%. Tingkat resistensi yang rendah ini jika dibandingkan dengan tingkat hambatan asetilkolinesterase terhadap emamektin benzoat mengisyaratkan adanya mekanisme lain yang terlibat dalam resistensi *P. xylostella* terhadap insektisida tersebut, yaitu adanya peningkatan aktifitas metabolisme detoksifikasi. Metabolisme oksidasi adalah jalur utama detoksifikasi emamektin benzoat pada *P. xylostella*. Insektisida yang diserap dan masuk ke dalam usus, seluruh atau sebagian insektisida mengalami perubahan kimiawi secara enzimatik dan hasil perubahannya (metabolit) menjadi tidak atau kurang aktif lagi, disebut proses detoksifikasi atau bioinaktivasi (*first pass effect*), ada juga hasil perubahannya justru diperkuat (bio-aktivasi) atau sama aktivitasnya (Smaghe, dkk. 1998; Smaghe, 2004). Metabolisme detoksifikasi oksidasi dilakukan oleh suatu enzim mikrosomal yang berperan dalam mekanisme resistensi (Sun, 1990).

Aplikasi emamektin benzoat pada populasi yang masih peka menghambat aktivitas asetilkolinesterase, sehingga persimpangan saraf tidak mampu menghentikan rangsangan saraf. Enzim akan menghidrolisis asetilkolin menjadi

kolin dan asetat yang berfungsi sebagai neurotransmitter pada sambungan saraf kolinergik. Apabila asetilkolin terakumulasi maka proses transmisi saraf akan terganggu dan menyebabkan kematian (Georghiou dan Mellon, 1983). Hal ini berakibat terjadi rangsangan saraf yang berkelanjutan yang akhirnya serangga yang teracuni menjadi gemeteran dan gerakannya tidak terkontrol (Sigit dan Hadi, 2006). Berbeda dengan ketidakpekaan enzim AChE terhadap insektisida emamektin benzoat diantara populasi *P. xylostella*, aktivitas enzim esterase tidak digunakan untuk menjelaskan perbedaan tingkat resistensi. Hal ini karena dalam pengujian digunakan substrat -naftil asetat, sehingga yang tercatat adalah aktivitas enzim esterase non-spesifik dan tidak mencerminkan aktivitas esterase yang khusus menguraikan emamektin benzoat.

Hasil pengujian menunjukkan, bahwa aktivitas enzim esterase non spesifik baik pada substrat ataupun naftil asetat terhadap insektisida emamektin benzoat pada ke sebelas populasi yang diuji sebagian besar masih rentan. Persentase populasi rentan sebesar 72,73% dan kerentanan populasi yang tertinggi dijumpai pada populasi Kenteng (Sumowono) dimana nilai AV nya sebesar 0,671 dan yang terendah dijumpai pada populasi Babrik (Ngablak) dengan nilai AV sebesar 0,083. Persentase populasi toleran pada populasi yang diujikan sebesar 27,27%, populasi toleran tertinggi dijumpai pada populasi Gedongsongo dengan nilai AV sebesar 1,504, dan terendah pada populasi Selo dimana nilai AV nya sebesar 0,485 (Tabel 4).

Perbedaan status kerentanan secara biokimia berdasarkan aktivitas enzim esterase non spesifik pada populasi *P. xylostella* dapat terjadi karena perbedaan gen masing-masing populasi lokasi penelitian mengakibatkan perbedaan aktivitas enzim esterase non spesifik pada setiap individu. Secara molekuler peningkatan enzim esterase pada strain disebabkan oleh adanya amplifikasi gena yang menyandi (mengkode) enzim esterase (esterase -2 dan esterase -2), sehingga menyebabkan peningkatan persentase ekspresi gen (Hemingway, dkk. 2004). Menurut Georghiou dan Taylor (1976) bahwa penurunan status kerentanan serangga dipengaruhi tiga faktor, yaitu faktor genetik, adanya gen khusus pengendali resisten (R-gen), baik dominan ataupun resesif. faktor biologis dan ekologis, yaitu perkawinan individu antar lokasi, dan faktor operasional, meliputi bahan yang digunakan (jenis, rumus kimia, kesamaan sifat, persistensi residu dan formulasi) serta aplikasi (cara,

Tabel 4. Aktivitas enzim esterase non spesifik dalam homogenat populasi lapangan larva *P. xylostella* instar tiga terhadap -naftil asetat

Populasi	Rerata nilai absorbansi		Status enzim	
	Enzim non-spesifik esterase		Substrat	
	-naftil asetat	-naftil asetat	-naftil asetat	-naftil asetat
Kaponan	0,232	0,179	Rentan	Rentan
Kertek	0,323	0,213	Rentan	Rentan
Ketep	0,219	0,155	Rentan	Rentan
Babrik	0,083	0,081	Rentan	Rentan
Plalar	0,264	0,193	Rentan	Rentan
Puasan	0,207	0,177	Rentan	Rentan
Kejajar	1,399	0,967	Toleran	Toleran
Gondosuli	0,773	0,488	Rentan	Rentan
Kenteng	0,563	0,671	Rentan	Toleran
Gedongsongo	1,504	0,743	Toleran	Toleran
Selo	1,281	0,485	Toleran	Rentan

Data uji biokimia intensitas warna aktivitas enzim esterase non-spesifik dan secara kuantitatif diukur dengan pembacaan *absorbance value* (AV) menggunakan ELISA reader pada $\lambda = 450$ nm.

frekuensi, intensitas dan rentang waktu pemakaian).

Menurut Georghiou dan Melon (1983) jika terjadi perbedaan status kerentanan dimana gen resisten bersifat dominan, maka pertumbuhan populasi larva akan meningkat. Penurunan status kerentanan terjadi karena serangga memiliki sistem enzim yang mampu menetralkan toksikan (insektisida). Kompleksitas gen berpengaruh terhadap penurunan status kerentanan, dimana semakin banyak gen yang mengatur kemampuan resistensi serangga terhadap suatu insektisida, maka akan semakin lambat terjadinya resistensi, demikian sebaliknya (Lee, 1991). Menurut Hemingway dkk. (1986) perbedaan status kerentanan serangga tidak hanya dipengaruhi oleh lama dan frekuensi paparan insektisida saja, tetapi juga frekuensi gen yang ada, interaksi antar gen-gen pembawa sifat tersebut dan adanya seleksi dari insektisida sebelumnya dapat mempengaruhi proses perkembangan resistensi.

KESIMPULAN

Kesimpulan yang dapat diambil dari hasil monitoring resistensi populasi *P. xylostella* terhadap insektisida emamektin benzoat di daerah sentra produksi tanaman kubis di Jawa Tengah adalah bahwa populasi *P. xylostella* yang diujikan masih peka terhadap emamektin benzoat dengan LC_{50} bervariasi antara 53,42 – 212,13 ppb dan nilai FR (3,97) masih di bawah 4. Konsentrasi diagnostik yang ditetapkan ($LC_{90} = 2443,99$ ppb) sesuai untuk monitoring kepekaan populasi lapangan *P. xylostella*.

Resistensi populasi *P. xylostella* terhadap insektisida emamektin benzoat ditentukan terutama oleh laju peningkatan metabolisme detoksifikasi di dalam tubuh serangga oleh enzim

MFO, tetapi aktivitas enzim esterase non spesifik tidak mencerminkan aktivitas esterase yang khusus menguraikan emamektin benzoat

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan kepada bapak: Ir. May Tun MSc., Ir. Agus Wahyu Widodo, Suparmin, Dodo Prayitno yang telah membantu penelitian ini hingga berakhir.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbott, W.S. 1925. A Method of Computing The Effectiveness of An Insecticide. *J. Econ. Entomol.* 18: 265-267.
- Anonim, 2010, *Analisis Kebijakan Komoditas Pertanian Strategis di Jawa Tengah*. Balai Pengkajian Teknologi Pertanian dan Hortikultura Jawa Tengah, Semarang.
- Busvine, J.R. 1957. *A Critical Review of The Techniques for Testing Insecticides*. Commonwealth Agricultural Bureau. Eastern Press Ltd. London.
- Clark, J.M., Scott, J.G., Campos, F., dan Bloomquist, J.R. 1994. Resistance to avermectin: Extent, Mechanism, and Management Implication *In*: Mittler T.E., F.J. Radovsky, V.H. Resh (Eds.), *Annual Review Entomology* 40: 1-30.
- Dybas, R.A, dan Rabu, J.R. 1989. 4'' deoxy-4''methyl amino-4''epiavermectin B1 hydroclorid (MK 423): A Novel Avermectin Insecticide for Crop Protection. *In*: *British Crop Protection Conference Pest and Disease*. British Crop Protection Council Croydon. London. p. 57-64
- Djojosumarto, P. 2008. *Pestisida dan Aplikasinya*. Agromedia Pustaka. Jakarta.

- Ellman, G.L., Courtney, D.K., Andres, V.A., dan Featherstone, R.M. 1961. A New and Rapid Calorimetric Determination of Acetylcholinesterase Activity. *Biochem. Pharmacol* 7: 88.
- Elzinga, R.J. 2004. *Fundamentals of Entomology*. Prentice Hall. New Jersey.
- Finney, D.J. 1971. *Probit Analysis* 3rd ed Cambridge University Press London.p. 37
- Georghiou, G.P., dan Mellon, R.B. 1983. *Peptidic Resistance in Time and Space in: Pest Resistance to Pepticides*. Plenum press. New York.
- Georghiou, G.P., dan Taylor, C.E. 1986. *Factors Influencing the Evolution of Resistance*, pp. 156-159. In *Pesticide Resistance Strategies and Tactics for Management* National Academy Press. Washington, D.C.
- Halliday, W.R., dan Burnham, K.P. 1990. Choosing the Optimal Diagnostic Dose for Monitoring Insecticide. *J. Econ. Entomol.* 83: 1151-1159.
- Hemingway, J., Hawkes, N.J., McCarroll, I., and Ranson, H. 2004. The Molecular Basis of Insecticides Resistance in Mosquitoes. *Insect Biochemistry and Molecular Biol.* 34: 653-665.
- Ho, T.H. 1997. The Life History and Control of The Diamond-back Moth in Malaya. *Bull. Div. of Agric. Malaysia.* 118: 26.
- Kerns, D.L., Palumbo, J.C., dan Tellez, T. 1998. Resistance of Field Strains of Beet Armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) from Arizona and California to Carbamate Insecticides. *J. Econ. Entomol.* 91: 1038-1043.
- Kresze, G.B. 1988. Methods for Protein Determination. In Bergmeyer HU, dan Gal M (ed). *Methods of Protein Enzymatic Analysis*. 3rd, Voll II. Weinheim: VCH.
- Lee, H.L. 1991. Esterase Activity and Temephos Susceptibility in *Aedes aegypti* (L) Larvae. *Mosquito Borne Disease Bull.* 8: 91-94.
- Marcon, P.C.R.G., Siegfried, B.D., Spencer, T., dan Hutchinson, W.D. 2000. Development of Diagnostic Concentration for Monitoring *Bacillus thuringiensis* Resistance in European Corn Borer (Lepidoptera: Cerambycidae). *Jurnal Econ. Entomol.* 93: 925-930.
- Mascarenhas, R.N., dan Boethel, D.J. 2000. Development of Diagnostic Concentration of Insecticide. Resistance Monitoring in Soybean Looper (Lepidoptera: Noctuidae) Larvae Using An Artificial Diet Overlay Bioassay. *Jurnal Econ. Entomol.* 93: 897-904.
- Mau, R.F.L., dan Kessing, J.L.M. 2007. *Crop Knowledge Master. Plutella xylostella* (Linnaeus). Department of Entomology Honolulu, <http://www.extento.hawaii.edu> (diakses 26 Oct 2009)
- Murray, T., McLeod, R., dan Quinn, M. 2008. *Species Plutella xylostella-diamondback Moth-hodges* <http://bugguide.net>. [diakses 15 Oktober 2009].
- Nuryanti, N.S.P. dan Trisyono, Y.A. 2001. *Kepekaan beberapa populasi lapangan Plutella xylostella, L. di Jawa Tengah dan Yogyakarta terhadap deltamethrin*. Tesis. Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Sastrosiswojo, S. 1987. *Perpaduan Pengendalian secara Hayati dan Kimiawi Hama Ulat Daun Kubis (Plutella xylostella) pada Tanaman Kubis*. Disertasi. Fakultas Pertanian, Universitas Padjadjaran, Bandung.
- Shelton, A.M., Sances, F.V., Hawley, J., Tang, J., Boune, M., Jungers, D., Collins, H.L., dan Farias, J. 2000. Assessment of Insecticide Resistance after the Outbreak of Diamondback Moth (Lepidoptera; Plutellidae) in California in 1997 *Jurnal Econ. Entomol.* 93: 931-936.
- Shelton, A.M., dan Wyman, J.A. 1990. Insecticide Resistance of Diamondback Moth in North America In: Taleker NS (Ed.), *Proceeding of The Second International Workshop Diamondback Moth and Other Crucifer Pests*. Asian Vegetable Research and Development Center. Taiwan
- Siegfried, B.D., Spencer, T., dan Nearman, J. 2000 Baseline Susceptibility of the Corn Earworm (Lepidoptera: Noctuidae) to the Cry 1 Ab Toxin from *Bacillus thuringiensis*. *J. Econ. Entomol.* 93: 1265-1268.
- Siegfried, B.D., Vaughn, T., dan Spencer, T. 2005. Baseline Susceptibility of Western Corn Rootworm (Coleoptera; Crysomelidae) to Cry 3Bb1 *Bacillus thuringiensis*. *J. Econ. Entomol.* 98: 1320-1324.
- Sigit, S.H., dan Hadi, U.K. 2006. *Hama Pemukiman Indonesia (Pengenalan Biologi dan Pengendalian)*, Unit Kajian Pengendalian Hama Pemukiman FJH – IPB. Bogor.
- Smagghe, G., Dhadialla, T.S., Derycke, S., Tirry, L., dan Degheele, D. 1998. Action of the ecdysteroid Agonist Tebufenokzida in Susceptible and Artificially Selected Beet Armyworm. *Pest Management Science* 54: 27-34.
- Smagghe, G. 2004. Synergism of Diacylhydrazine Insecticides with Metryapone and Diethylmaleate. *JEN* 128 : 465-468.
- Sun, C.N. 1990. Insecticides Resistance in Diamondback Moth in Malaysia. Pp. 419-426. In N.S. Talekar (ed.), *Proceeding of The Second International Workshop, Diamondback*

- Moth and Other Crucifer Pest* Asian Vegetable Research and Development Center.Taiwan.
- Trisyono, Y.A. 2004. Resistensi serangga dan tungau terhadap insektisida dan akarisisida: Perkembangan dan Mekanisme. Dalam: *Prosiding Seminar Nasional Manajemen Resistensi Pestisida dalam Penerapan Pengelolaan Hama Terpadu*.Yogyakarta, 24-25 Februari 2004.
- Trisyono, Y.A., dan Whalon, M.E. 1999. Toxicity of neem applied alone and in combination with *Bacillus thuringiensis* to colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) *J. Econ. Entomol.* 92: 1281-1288.
- Untung, K. 2006. *Pengantar Pengelolaan Hama Terpadu*. Gadjah Mada Press. Yogyakarta.
- Winarto, L., dan Nazir, D. 2004. Teknologi pengendalian hama *Plutella xylostella* dengan insektisida dan agensia hayati pada kubis di Kabupaten Karo. *Jurnal Pengkajian dan Pengembangan TeknologiPertanian.* 7:27-33.
- Winteringham, F.P.W. 1969. FAO International Collaborative Programme for The Development Standardized Test for Resistance of Agricultural Pests to Pesticides. FAO. *Plant Prot. Bull.* 7: 73-75.