

Ekstrak Metanol Daun Waru (*Hibiscus tiliaceus* L.) untuk Mengendalikan Ulat Grayak (*Spodoptera litura* F.)

Methanolic Extracts of Waru Leaves (*Hibiscus tiliaceus* L.) for Controlling Armyworms (*Spodoptera litura* F.)

¹*Diah Asta Putri, ²Arib Cahyo Saputra

ARTICLE INFO

Article history

Received : 24 May 2021

Revised : 24 June 2021

Accepted : 30 June 2021

Corresponding Author* :

diah.putri@bio.uad.ac.id

¹Laboratorium Botani, Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi Terapan, Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta. Jl. Ringroad Selatan, Tamanan; Yogyakarta, 55191; Indonesia.

² Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi Terapan, Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta. Jl. Ringroad Selatan, Tamanan; Yogyakarta, 55191; Indonesia.

Cara Sitasi :

Putri, D.A., dan Saputra, A.C., (2021). Ekstrak Metanol Daun Waru (*Hibiscus tiliaceus* L.) untuk Mengendalikan Ulat Grayak (*Spodoptera litura* F.). Journal of Biotechnology and Natural Science. 1 (1): 59-68.

ABSTRAK

Ekstrak tumbuhan telah banyak diteliti sebagai biopestisida yaitu sebagai penolak makan, mempengaruhi pertumbuhan dan pengusir hama. Ekstrak tumbuhan sebagai biopestisida, menawarkan solusi yang lebih berkelanjutan untuk pengendalian hama karena pestisida kimia memiliki masalah residu dan rentan terhadap resistensi hama. Penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi kemampuan ekstrak daun waru untuk mengendalikan larva *S. litura* secara in vitro. Ekstrak dibuat dengan cara maserasi menggunakan pelarut metanol. Larva *S. litura* instar III dikelompokkan secara acak ke dalam 6 perlakuan terdiri dari 0%, 3%, 6%, 9%, 12% dan kontrol positif (Lannate). Setiap perlakuan terdiri dari 3 ulangan. Metode perlakuan yaitu *Leaf Dipping*. Pengamatan dilakukan sampai 4 hari. Parameter yang diamati yaitu perubahan morfologi larva, mortalitas, LC₅₀ dan LT₅₀. Data dianalisis menggunakan *One Way ANOVA* (dilandjutkan dengan BNT) dan analisis Probit. Hasil menunjukkan aktivitas tertinggi ekstrak daun waru dijumpai pada konsentrasi 12% yaitu menyebabkan kematian larva sebanyak 53%. Nilai LC₅₀ pada konsentrasi 11,72% dan nilai LT₅₀ yaitu 3,287. Dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun waru berpotensi untuk mengendalikan larva *S. litura*.

Kata Kunci: *Spodoptera litura*, daun waru, maserasi, ekstrak metanol.

ABSTRACT

Botanical extracts have been reported as biopesticides, which act as antifeedants, insect growth regulators and repellents. As biopesticides, botanical extracts offer a more sustainable solution to pest control as chemical pesticides have a residual problem and are prone to pest resistance. The present study was conducted to evaluate the efficacy of waru leaves extract to control *S. litura* larvae in vitro conditions. The extract was prepared by maceration with methanol as a solvent. Third instar larvae of *S. litura* were randomly grouped into 6 treatments consisting of 0%, 3%, 6%, 9%, 12% and positive control (Lannate). Each treatment consisted of 3 replications. Leaf Dipping method was used in the treatment. Observations were made for up to 4 days. The parameters observed were changes in larval morphology, mortality, LC₅₀ and LT₅₀. Data were analyzed using *One Way ANOVA* (followed by LSD) and Probit analysis. The results showed that the highest activity of waru leaf extract was found at a concentration of 12%, which caused a mortality of 53% larvae. The LC₅₀ value was at a concentration of 11.72%, and the LT₅₀ value was 3.287. It can be concluded that the leaf extract has the potential to control *S. litura* larvae.

Keyword: *Spodoptera litura*, waru leaves, macration, methanolic extract.

Pendahuluan

Ulat grayak (*Spodoptera litura* F.) merupakan hama yang menyebabkan kerusakan pada tanaman hortikultura. Reviantika *et al.*, (2017) mengungkapkan ulat grayak memiliki sifat polifag, yaitu dapat memakan berbagai jenis tanaman hortikultura demi kelangsungan hidupnya. Daun merupakan bagian yang menjadi sasaran. Kerusakan daun oleh ulat grayak mengganggu proses fotosintesis dan akhirnya mengakibatkan kehilangan hasil panen. Kehilangan hasil panen akibat serangan ulat grayak dapat mencapai 80%, bahkan dapat menyebabkan kegagalan panen (Hendrival *et al.*, 2013). Petani mengatasi ulat grayak dengan penggunaan pestisida kimia sintetis yang tidak hanya menyebabkan kerusakan serius bagi lingkungan dan kesehatan manusia tetapi juga menyebabkan resistensi hama (Aydin dan Gurkan, 2006; Shad *et al.* 2012; Ahmad dan Mehmood, 2015). Sehingga diperlukan alternatif pestisida ramah lingkungan yang lebih aman.

Daun waru (*H. tiliaceus* L.) memiliki kandungan senyawa fitokimia yaitu saponin, flavonoid, polifenol, dan tanin. Menurut Rustini *et al.*, (2015) ekstrak daun waru bersifat toksik terhadap larva *Artemia salina*. Berdasarkan penelitian Febrian (2016) bahwa ekstrak daun waru memiliki potensi sebagai insektisida terhadap nyamuk *Aedes* sp. Dalam bidang pertanian khususnya di bidang pengendalian hama ulat grayak, potensi daun waru sebagai biopestisida ulat grayak belum dipelajari, sehingga dalam penelitian ini dibuat ekstrak daun waru, dengan cara maserasi dan penguapan kemudian formulasi diuji terhadap larva *S. litura* instar ketiga. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberi informasi tentang potensi ekstrak daun waru untuk mengendalikan larva *S. litura*.

Metode

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan yaitu toples plastik berwarna bening (transparent) ukuran diameter 12 cm tinggi 5 cm sebagai kandang uji in vitro, gelas ukur 100 mL, timbangan analitik, blender, corong gelas, rotary evaporator, waterbath, cawan porselin, pinset, spatula, penggaris, pisau, gunting, dan kamera.

Bahan yang digunakan yaitu larva ulat grayak (*Spodoptera litura* F.) instar III, simplisia daun waru, methanol, akuades, kertas saring, kertas koran, tissue, kertas label, kertas milimeter block, plastik PE 20×35 cm, karet gelang, alumunium foil, dan insektisida sintetis (DuPont™ Lannate® 25 WP).

Pembuatan Simplisia

Daun waru disiapkan sebanyak 300 gram yang telah disortir, kemudian dikeringanginkan dengan sinar matahari hingga kering konstan. Simplisia daun waru yang telah kering di potong kecil-kecil kemudian dihaluskan sehingga menjadi serbuk.

Pembuatan Ekstrak

Serbuk simplisia daun waru ditimbang 100 gram, kemudian dimasukkan ke dalam botol maserasi dan dicampur dengan metanol sebanyak 1 liter. Maserasi dilakukan selama 48 jam, setiap 12 jam dilakukan pengadukan. Hasil maserasi disaring dan didapat filtrat, kemudian diuapkan dalam *rotary evaporator* suhu 37°C selama 3 jam. Filtrat dikentalkan dalam *waterbath* suhu 60°C sampai menjadi pasta. Ekstrak kasar daun waru dibuat konsentrasi 3%, 6%, 9% dan 12%. Masing-masing konsentrasi dalam 50 ml (% w/v). Sedangkan kontrol positif/Lannate: 0,0225 gr dalam 50 ml.

Pengujian Ekstrak

Pengujian dilakukan dengan metode pencelupan daun (*Leaf Dipping Methods*) (Musyahadah *et al.*, 2015). Kandang uji disiapkan dan diberi alas. Diletakkan 10 ekor larva ulat grayak instar III ke dalam kandang uji dan dilaporkan 1-2 jam. Pakan (daun sawi) dipotong ukuran 5x5 cm, setiap 5 lembar pakan direndam pada masing-masing perlakuan selama 2 menit dan tiriskan pada suhu ruang, kemudian diberikan pada larva dalam kandang uji sesuai konsentrasi perlakuan. Pengamatan 1x24 jam selama 4 hari.

Metode Pengumpulan Data Mortalitas Ulat Grayak

Menurut Rusdy (2009) persentase mortalitas ulat grayak dapat diketahui dengan rumus :

$$P = \frac{a}{a+b} \times 100\%$$

Keterangan :

P : Persentase mortalitas larva ulat grayak.

a : Jumlah larva ulat grayak yang mati.

b : Jumlah larva ulat grayak yang hidup.

Tingkat kesalahan perlakuan (kontrol negatif) adanya kematian larva uji bukan karena pestisida dikoreksi dengan rumus *Abbots*:

$$A_1 = \frac{A-B}{100-B} \times 100\%$$

Keterangan:

A₁ : % kematian larva setelah dikoreksi.

A : % larva uji (pada perlakuan dan kontrol positif).

B : % kematian larva pada kontrol negatif.

Bila persentase kematian larva < 5% maka data kematian adalah benar, bila persentase kematian 5-20% maka perlakuan dikoreksi dengan rumus *Abbots* (Lestari *et al.*, 2014).

Analisis data

Analisis variansi (One Way ANOVA) dilakukan terhadap jumlah mortalitas ulat grayak yang teramati, dan bila terdapat perbedaan rata-rata dilanjutkan dengan uji BNT. Analisis *Lethal Concentration* (LC₅₀) dan *Lethal Time* (LT₅₀) dilakukan dengan analisis Probit.

Hasil dan Pembahasan

Rata-rata mortalitas ulat grayak selama 4 hari yaitu terdapat perbedaan secara signifikan antara kontrol negatif (Kn) dan kontrol positif (Kp) dengan perlakuan ekstrak daun waru. Peningkatan rata-rata mortalitas ulat grayak terjadi pada setiap perlakuan ekstrak daun waru. Konsentrasi 3% (P1) merupakan konsentrasi yang dapat membunuh ulat grayak dengan rata-rata mortalitas terendah dan konsentrasi 12% (P4) merupakan konsentrasi yang dapat membunuh ulat grayak dengan rata-rata mortalitas tertinggi (Tabel 1).

Tabel 1. Hasil pengamatan jumlah dan persentase mortalitas ulat grayak (*S. litura* F.)

Perlakuan	Ulangan			Σ mortalitas	Rata-rata	Mortalitas
	I	II	III			
Kn	1	0	0	1	0,33 ^a	3,0%
P1	2	2	2	6	2,00 ^b	20%
P2	4	3	3	10	3,33 ^c	33%
P3	4	4	4	12	4,00 ^c	40%
P4	5	7	4	16	5,33 ^d	53%
Kp	10	9	10	29	9,67 ^e	97%

Keterangan :

^{a,b,c,d,e} Superscript yang berbeda pada nilai rata-rata menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0,05) dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

Kn : Kontrol negatif 0% (aquades).

P1 : Ekstrak daun waru 3%.

P2 : Ekstrak daun waru 6%.

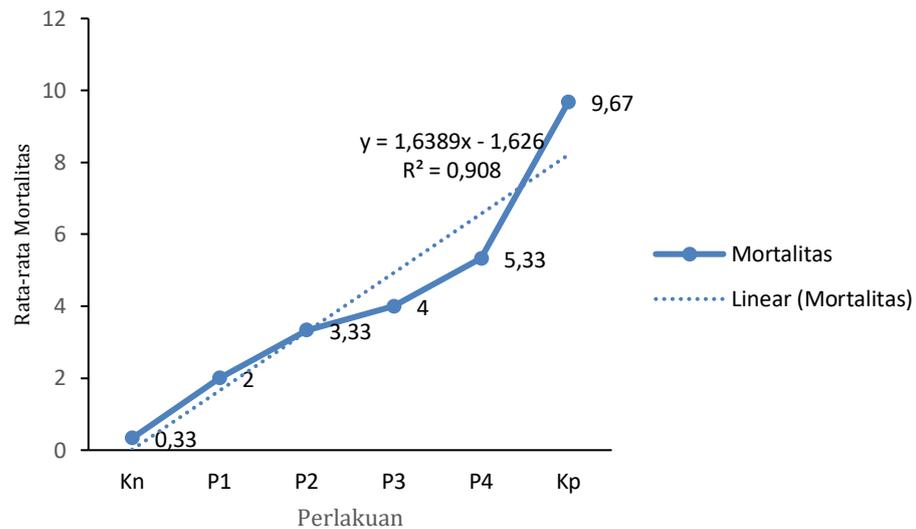
P3 : Ekstrak daun waru 9%.

P4 : Ekstrak daun waru 12%.

Kp : Kontrol positif (insektisida sintetis).

Berkaitan dengan konsentrasi yang digunakan maka semakin tinggi konsentrasi yang digunakan, peningkatan efek racun juga semakin tinggi. Hal ini sesuai dengan pernyataan Purba (2007) bahwa peningkatan konsentrasi berbanding lurus dengan peningkatan bahan racun tersebut, sehingga daya bunuh semakin tinggi. Analisis regresi linier (Gambar 1.) menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi yang digunakan maka semakin besar nilai rata-rata mortalitas. Berdasarkan persamaan regresi linier didapat nilai R² yaitu 0,908

mendekati nilai 1. Data analisis perlakuan konsentrasi terhadap rata-rata mortalitas ulat grayak (*S. litura* F.) 90,8% dikatakan baik.



Gambar 1. Grafik Persamaan Regresi Linier antara Rata-rata Mortalitas Ulat Grayak dengan Perlakuan (Kn : Kontrol negatif 0% (aquades), P1 : Ekstrak daun waru 3%, P2 : Ekstrak daun waru 6%, P3 : Ekstrak daun waru 9%, P4 : Ekstrak daun waru 12%, Kp : Kontrol positif (insektisida sintesis)).

Pengamatan bentuk fisik (morfologi) dari hewan uji ulat grayak pada kondisi awal sebelum pemberian perlakuan bahwa memiliki warna tubuh hijau kecoklatan tampak cerah (Gambar 2a). Pengamatan mortalitas ulat grayak dengan perlakuan ekstrak daun waru menunjukkan terjadinya perubahan warna menjadi coklat kehitaman tampak gelap serta tubuh menjadi lembek apabila disentuh (Gambar 2b). Kondisi tersebut dimungkinkan akibat efek yang ditimbulkan oleh pemberian ekstrak daun waru. Zat aktif yang termakan oleh hewan uji akan terakumulasi dalam saluran pencernaan. Menurut Gokok (2017), flavonoid menyerang sistem pencernaan menyebabkan organ pencernaan rusak. Cairan coklat yang berupa senyawa toksik dan kotoran pada tubuh ulat keluar melalui kulit sehingga tubuh ulat menjadi coklat kehitaman tampak gelap. Kondisi bagian sisi luar ulat grayak yang melindungi tubuh serangga (kutikula) terlihat mengalami pengikisan, sehingga cairan tubuh keluar dan berakibat serangga tersebut mati (Gambar 2c). Menurut Saleh *et al.*, (2017) saponin adalah senyawa yang dapat mengganggu proses pergantian kulit (ekdisis).



Gambar 2. Pengamatan mortalitas Ulat Grayak. (a) Gambar Ulat Grayak pada Keadaan Awal Sebelum Perlakuan, (b) Terjadi Perubahan Warna menjadi Gelap, (c) Menunjukkan Kutikula yang Lisis.

Nilai LC_{50} yang didapatkan yaitu 11,72% efektif membunuh ulat grayak sebanyak 50% populasi (Tabel 2). Semakin tinggi log konsentrasi maka nilai probit mortalitas ulat grayak semakin meningkat. Hal ini berarti log konsentrasi dengan nilai probit mortalitas berbanding lurus.

Tabel 2. Analisis Probit Ekstrak Daun Waru terhadap Mortalitas Ulat Grayak

Analisis Probit	Konsentrasi (%)	Kisaran Batas	
		Batas Bawah	Batas Atas
<i>Lethal Concentration 50</i>	11,72	8,011	57,348

Periode Waktu Mortalitas Ulat Grayak (*Spodoptera litura* F.)

Pengamatan waktu mortalitas mendapatkan hasil pada perlakuan 3% (P1) belum menunjukkan kerja aktif sebagai insektisida nabati selama 4 HSP. Perlakuan 6% (P2) dan 9% (P3) mampu menunjukkan kerja aktif sebagai insektisida nabati selama 4 HSP (Table 3). Semakin tinggi konsentrasi ekstrak nabati yang terkandung maka akan mendapatkan waktu mortalitas yang semakin singkat.

Tabel 3. Rata-rata mortalitas ulat grayak terhadap pemberian perlakuan

Perlakuan	Rata-rata mortalitas setiap hari			
	1 HSP	2 HSP	3 HSP	4 HSP
Kn	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a	0,33 ^a
P1	0,00 ^a	0,33 ^a	0,67 ^a	1,00 ^a
P2	0,33 ^a	0,67 ^a	1,00 ^a	1,33 ^b
P3	0,33 ^a	1,00 ^b	1,33 ^a	1,33 ^b
P4	0,67 ^a	1,33 ^b	1,67 ^b	1,67 ^b
Kp	2,00 ^b	2,33 ^c	2,67 ^b	2,67 ^c

Keterangan :

^{a,b,c,d,e} Superscript yang berbeda pada nilai rata-rata menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$) dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

Kn : Kontrol negatif 0% (aquades).

P1 : Ekstrak daun waru 3%.

P2 : Ekstrak daun waru 6%.

P3 : Ekstrak daun waru 9%.

P4 : Ekstrak daun waru 12%.

Kp : Kontrol positif (insektisida sintetis).

Menurut Arisanti dan Dono (2015) efek dari penggunaan ekstrak insektisida nabati sebagai *antifeedant* seringkali tidak mematikan hama pada saat setelah perlakuan, namun memerlukan beberapa hari untuk mati, biasanya 4 sampai 5 hari untuk masuk ke fase kematian. Perlakuan 12% (P4) mampu menunjukkan kerja aktif sebagai insektisida nabati selama 3 HSP. hal tersebut terjadi karena tingkat konsentrasi yang tinggi sehingga tubuh ulat grayak tidak mampu mentoleran racun yang tinggi dan berakibat kematian lebih cepat.

Lethal Time (LT₅₀)

Nilai LT₅₀ adalah waktu kematian yang diperlukan untuk membunuh 50% individu-individu spesies uji terhadap pemberian pestisida dalam kondisi percobaan. Berdasarkan analisis probit, nilai LT₅₀ yaitu 3,287 hari yang berarti bahwa total kematian 50% ulat grayak terjadi pada waktu 3 hari, 4 jam, 47 menit (Tabel 4). Hubungan jumlah mortalitas ulat grayak dengan waktu kematian berbanding lurus. Total kematian ulat grayak yang semakin banyak akan membutuhkan waktu kematian yang panjang. Hal tersebut akan berkaitan dengan aktivitas senyawa yang terdapat dalam ekstrak daun waru dan tingkat konsentrasi yang diberikan.

Tabel 4. Analisis probit waktu kematian terhadap mortalitas ulat grayak

Analisis Probit	Hari Setelah Perlakuan	Kisaran Batas	
		Batas Bawah	Batas Atas
<i>Lethal Time</i> 50	3,287	2,533	5,510

Kematian ulat grayak dikarenakan senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak daun waru yang berpotensi sebagai insektisida nabati. Saponin adalah senyawa yang dapat mengganggu proses pergantian kulit (ekdisis). Saponin dapat mengikat sterol dalam saluran makanan yang akan mengakibatkan penurunan laju sterol dalam hemolimfa, peran sterol bagi ulat grayak adalah sebagai prekursor bagi hormon ekdisin, dengan adanya penurunan persediaan sterol maka proses pergantian kulit larva juga akan terganggu (Saleh *et al.*, 2017).

Menurut Safirah *et al.*, (2016) Flavonoid berperan penting dalam mencegah intensitas serangan larva ulat grayak, karena rasa pahit yang ditimbulkan senyawa tersebut dapat mengurangi nafsu makan atau bisa disebut senyawa yang berfungsi sebagai antifeedant. Begitupun senyawa fenol menurut Sa'diyah *et al.*, (2013) senyawa fenol memiliki fungsi sebagai penolak makan serangga namun bisa juga berperan sebagai racun perut. Serangga yang tubuhnya terakumulasi senyawa fenol dalam jumlah besar dapat menyebabkan pengaruh pada metabolisme tubuh serangga dan pada akhirnya menyebabkan kematian.

Senyawa alkaloid bekerja sebagai racun kontak, namun dalam jumlah sedikit alkaloid hanya bersifat sebagai antifeedant yang membunuh ulat grayak secara perlahan-lahan karena menurunnya nafsu makan dan baru akan menyebabkan kematian dalam beberapa waktu karena kelaparan (Gokok, 2017).

Kesimpulan dan saran

Ekstrak daun waru konsentrasi 11,72% memiliki efektifitas membunuh ulat grayak sebanyak 50% dalam waktu 3,287 (3 hari, 4 jam, 47 menit). Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun waru memiliki potensi sebagai biopestisida untuk mengendalikan ulat grayak (*S. litura*). Penelitian ini perlu evaluasi lebih lanjut dalam kondisi lapangan untuk mengetahui efeknya terhadap hama target, hama non-target dan tanaman inang.

Daftar Pustaka

- Ahmad M, Mehmood R (2015) Monitoring of resistance to new chemistry insecticides in *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) in Pakistan. *J Econ Entomol* 108(3):1279–1288.
- Arisanti I. M., dan Dono D. (2015). Bioaktivasi Campuran Ekstrak Biji *Barringtonia asiatica* L. (Kurz) (Lecythidaceae) dan Getah *Azadirachta indica* A. Juss. (Meliaceae) terhadap Larva *Spodoptera litura* F. (Lepidoptera: Noctuidae). *Jurnal Agrikultura*. 26. (1): 30-40.
- Aydin MH, Gurkan MO (2006) The efficacy of Spinosad on different strains of *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lepidoptera: Noctuidae). *Turkish J Biol* 30:5–9.
- Febrian S. (2016). Uji Potensi Ekstrak Etanol Daun Waru (*Hibiscus tiliaceus*) sebagai Insektisida terhadap Nyamuk *Aedes sp.* Menggunakan Metode Semprot. *Thesis*. Malang. Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Brawijaya.
- Gokok S., (2017). Uji Toksisitas Bioinsektisida Ekstrak Metanol Buah Bintaro (*Cerbera odollam* L.) terhadap Mortalitas Ulat Grayak (*Spodoptera litura*) pada Pakan Daun Tomat. *Skripsi*. Yogyakarta. 21 Juli 2017. Yogyakarta: Program Studi Pendidikan Biologi, Jurusan PMIPA, Fakultas KIP, Universitas Sanata Dharma.
- Hendriani, Latifah, dan Hayu R. (2013). Perkembangan *Spodoptera litura* F. (Lepidoptera: Noctuidae) pada Kedelai. *Jurnal Floratek*. 1. (8): 88-100.
- Lestari M. S., Himawan T., Abdi A. L., dan Retnowati R. (2014). Potensi Ekstrak *Piper methysticum* (Piperaceae) sebagai Insektisida Botani untuk Pengendalian Hama *Plutella xylostella*. *Jurnal Sains dan Matematika*. 3. (1): 26-32.
- Musyahadah N., Hariani N., dan Hendra M. (2015). Uji Efektifitas Ekstrak Daun Tigaron (*Crateva religiosa* G. Forst.) terhadap Mortalitas Ulat Grayak (*Spodoptera litura* F.) (Lepidoptera: Noctuidae) di Laboratorium. Samarinda. *Prosiding Seminar Sains dan Teknologi FMIPA Unmul*. 1. (1): 1-7.
- Purba Sardes. (2007). Uji Efektivitas Ekstrak Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia*) terhadap *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera : Plutellidae) di Laboratorium. *Skripsi*. Medan.

November 2007. Departemen Ilmu Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Sumatera Utara.

- Reviantika F., Suryadarma., dan Suhartini M. S. (2017). Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Kendal (*Cordia dichotoma*) sebagai Pengendali Hama *Spodoptera litura* F. pada Tanaman Sawi Caisim (*Brassica juncea* L.). *Jurnal Prodi Biologi*. 6. (8): 489-497.
- Rusdy A. (2009). Efektivitas Ekstrak Mimba Dalam Pengendalian Ulat Grayak (*Spodoptera litura* F.) Pada Tanaman Selada. *Jurnal Floratek*. 1. (4): 41-54.
- Rustini N. L., Ariati K., Dewi A. A. I. P., dan Swatantra I Made D. (2015). Uji Toksisitas Ekstrak Daun Waru (*Hibiscus tiliaceus* L.) terhadap Larva *Artemia salina* Leach serta Identifikasi Golongan Senyawanya. *Jurnal Kimia*. 9. (1): 47-52.
- Sa'diyah N. A., Purwani K. I., dan Wijayawati L. (2013). Pengaruh Ekstrak Daun Bintaro (*Cerbera odollam*) terhadap Perkembangan Ulat Grayak (*Spodoptera litura* F.). *Jurnal Sains dan Seni Pomits*. 2. (2): 2337-3520.
- Safirah R., Widodo N., dan Budiyanto M. A. K. (2016). Uji Efektifitas Insektisida Nabati Buah *Cressentia cujete* dan Bunga *Syzygium auromaticum* terhadap Mortalitas *Spodoptera litura* secara In vitro sebagai Sumber Belajar Biologi. *Jurnal Pendidikan Biologi Indonesia*. 2. (3): 265-276.
- Saleh M., Susilawaty A., Syarfaini, dan Musdalifah. (2017). Uji Efektivitas Ekstrak Kulit Buah Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) sebagai Insektisida Hayati terhadap Nyamuk *Aedes aegypti*. *Jurnal Higiene*. 3. (1): 30-36.
- Shad SA, Sayyed AH, Fazal S, Saleem MA, Zaka SM, Ali M (2012) Field evolved resistance to carbamates, organophosphates, pyrethroids, and new chemistry insecticides in *Spodoptera litura* Fab. (Lepidoptera: Noctuidae). *J Pest Sci* 85:153–162.