

**LAPORAN TAHUN TERAKHIR
PENELITIAN HIBAH FUNDAMENTAL**



**PENGEMBANGAN BIOPESTISIDA DARI FLORA LOKAL UNTUK
MENINGKATKAN KUALITAS AGROEKOSISTEM
SAWAH PADI ORGANIK**

Tahun ke 2 dari rencana 2 tahun

**Dr. Yuliani, M.Si
Lisa Lisdiana, S.Si ,M.Si**

**NIDN 0021076801
NIDN 0007028303**

**UNIVERSITAS NEGERI SURABAYA
LEMBAGA PENELITIAN & PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT
2016**

HALAMAN PENGESAHAN

Judul : Pengembangan Biopestisida dari Flora Lokal untuk meningkatkan Kualitas Agroekosistem Sawah Padi Organik

Peneliti/Pelaksana

Nama Lengkap : YULIANI
Perguruan Tinggi : Universitas Negeri Surabaya
NIDN : 0021076801
Jabatan Fungsional : Lektor Kepala
Program Studi : Pendidikan Biologi
Nomor HP : 08123188703
Alamat surel (e-mail) : yuliani.ap@gmail.com

Anggota (1)

Nama Lengkap : LISA LISDIANA S.Si., M.Si.
NIDN : 0007028303
Perguruan Tinggi : Universitas Negeri Surabaya
Institusi Mitra (jika ada) : -
Nama Institusi Mitra : -
Alamat : -
Penanggung Jawab : -
Tahun Pelaksanaan : Tahun ke 2 dari rencana 2 tahun
Biaya Tahun Berjalan : Rp 60.000.000,00
Biaya Keseluruhan : Rp 120.000.000,00

Mengetahui,
Ketua FMIPA Unesa

(Prof. Dr. H. I Wayan Susila, M.Pd)
NIP/NIK 196006201985031003

Surabaya, 9 - 11 - 2016

Ketua,

(YULIANI)
NIP/NIK 196807211993032002

Menyetujui,
Ketua LPPM Unesa

(Prof. Dr. H. I Wayan Susila, M.T)
NIP/NIK 195312151980021002

RINGKASAN

Penelitian ini bertujuan untuk 1) mengidentifikasi flora lokal yang digunakan oleh petani padi organik di Jawa Timur sebagai biopestisida, 2) mengembangkan biopestisida, 3) mendeskripsikan efektivitas biopestisida yang dikembangkan terhadap organisme target dan non target (uji bioaktivitas), 4) mendeskripsikan dampak penggunaan biopestisida dari flora lokal terhadap profil protein organisme target, 5) mendeskripsikan dampak penggunaan biopestisida dari flora lokal terhadap perubahan struktur komunitas mikroba tanah. Penelitian tahun pertama terdiri dari tahap 1, tahap 2 dan tahap 3, dan tahun kedua terdiri dari tahap 4 dan tahap 5.

Tahun pertama diperoleh hasil penelitian sebagai berikut 1) Spesies flora yang dikembangkan oleh petani padi organik sebanyak 30 spesies dan meliputi 20 famili yaitu Annonaceae, Araceae, Liliaceae, Solanaceae, Dioscoreaceae, Euphorbiaceae, Gramineae, Rutaceae, Asteraceae, Myrtaceae, Palmae, Papillionaceae, Piperaceae, Meliaceae, Moraceae, Achariaceae, Fabaceae, Bombaceae, Sapindaceae, Moringaceae, Menispermaceae, dan Musaceae, 2) Spesies hama yang menyerang tanaman padi organik di 4 daerah Jawa timur yang sering dijumpai adalah penggerek batang (sundep), ulat daun, walangsangit, wereng dan tikus, 3) Biopestisida yang dikembangkan dari tanaman *Elephantopus scaber* (tapak liman) dan tumbuhan *Tithonia diversifolia* (paitan) efektif sebagai biopestisida. Konsentrasi 2%, 4% dan 6 % dari ekstrak daun tanaman Paitan sudah dapat mengakibatkan mortalitas *S. litura* sebesar 96,67% dan mortalitas *P. xylostella* sebesar 83,33%, sedangkan ekstrak daun tanaman tapak liman sebesar 4% dan 6 % mampu secara efektif mematikan *S. litura* sebesar 90 % dan mortalitas *P. xylostella* sebesar 83,3-100%, 4) Dampak biopestida dari ekstrak tanaman paitan dan tapak liman terhadap cacing tanah hanya mematikan cacing tanah sebesar 26,6-33,3% pada pengamatan hari ke sepuluh.

Tahun kedua telah dilakukan penelitian dalam skala laboratorium mengenai dampak biopestisida terhadap organisme yang berada dalam satu ekosistem sawah padi organik, yaitu terhadap profil protein organisme target, serta perubahan struktur komunitas mikroba. Hasil penelitian menunjukkan bahwa a) penggunaan biopestisida dari ekstrak tumbuhan dapat menurunkan kandungan protein pada hewan coba yaitu *S. litura* dan *P. xylostella*, b) penggunaan biopestisida dari ekstrak *E. scaber* dan *T. diversifolia* memberikan pengaruh terhadap struktur komunitas mikrobial. Pengaruhnya terhadap jumlah mikrobial dan keanekaragamannya. Pemberian ekstrak tanaman tapak liman dan tanaman paitan menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi yang diberikan maka jumlah mikrobialnya semakin berkurang. Demikian pula pada konsentrasi ekstrak tanaman 6 % membuat keanekaragaman bakteri berkurang dibandingkan dengan konsentrasi 4 % ataupun 2 %.

Kata kunci : Flora lokal, biopestisida, sawah padi organik, Agroekosistem

THE DEVELOPMENT OF BIOPESTICIDE FROM LOCAL FLORA TO IMPROVE ORGANIC RICE FIELD AGROECOSYSTEM

ABSTRACT

This study aims 1) to identify local flora used as biopesticide by organic rice farmers in East Java, 2) to develop biopesticide, 3) to describe the effectiveness of developed biopesticide against target and non-target organisms (bioactivity test), 4) to describe the effect of biopesticide made of local flora against target organisms protein profile, 5) to describe the effect of biopesticide made of local flora to soil microbial community structure changes. Stage 1, stage 2 and stage 3 were conducted in first year, while stage 4 and stage 5 were conducted in second year of the study.

The first year following results were obtained 1) species of flora developed by growers of organic rice included 30 species from 20 families. Those were Annonaceae, Araceae, Liliaceae, Solanaceae, dioscoreaceae, Euphorbiaceae, Gramineae, Rutaceae, Asteraceae, Myrtaceae, Palmae, Papillionaceae, Piperaceae, Meliaceae, Moraceae, achariaceae, Fabaceae, Bombaceae, Sapindaceae, Moringa, Menispermaceae, and Musaceae, 2) species of organic rice crop pests found in four regions of east Java were white stem borer (sundep), rice leafroller, earhead bug, leafhopper, and mice, 3) biopesticide developed from *Elephantopus scaber* (tapak liman) and *Tithonia diversifolia* (tree marigold) was effective as biopesticide. Concentration of 2%, 4% and 6% of tree marigold plant leaf extract resulted in 96.67% mortality of *Spodoptera litura* and 83.33% mortality of *Plutella xylostella*, while 4% and 6% tapak liman plant leaf extract resulted in 90% mortality of *S. litura* and 83.3% to 100% mortality of *P. xylostella*, 4) The effect of biopesticide made of tree marigold and tapak liman leaf extract against earthworm caused merely 26.6 %to 33.3% mortality at tenth day observation.

The second year laboratory scale study was conducted to determine the effects of biopesticide against organisms within organic rice field ecosystem, specifically on the protein profile of target organisms, as well as changes in the structure of microbial communities. The results showed that a) the use of biopesticides made from plant extract could reduce protein content in experimental animals *S.litura* and *P. xylostella*, b) the use of biopesticide made from *E.scaber* and *T. diversifolia* extract affected microbial community structure. The biopesticide affected the number and diversity of microbes. The addition of tree marigold and tapak liman extract showed that the more the concentration of extract added, the fewer the number of microbes. Similarly, at addition of 6% concentration of plant extract, the diversity of microbe was fewer compared to 4% or 2% concentration of plant extract.

Keywords: local flora, biopesticide, organic rice field, agroecosystem

PRAKATA

Puji syukur kepada Allah SWT atas segala rahmat dan hidayahNya sehingga penelitian yang berjudul “ Pengembangan Biopestisida dari Flora Lokal untuk Meningkatkan Kualitas Agroekosistem Sawah Padi Organik ”dapat diselesaikan.

Dalam kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih kepada Kemenristek yang telah membantu pendanaan sehingga penelitian ini dapat dilaksanakan. Penulis juga menyampaikan terima kasih kepada:

1. Bapak Prof.Dr. Warsono, selaku Rektor UNESA yang memberikan sarana dalam penelitian ini.
 2. Bapak Prof. Dr.Wayan Susila MT. selaku Ketua Lembaga Penelitian UNESA yang mengkoordinasikan penelitian-penelitian di UNESA
 3. Mahasiswa Biologi dan laboran yang telah membantu penelitian
 4. Teman-teman yang telah membantu penelitian baik secara langsung ataupun tidak langsung.
- Semoga hasil penelitian ini dapat bermanfaat bagi yang memerlukan.

Surabaya, November 2016

Peneliti

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN	2
DAFTAR ISI	3
ABSTRAK	4
BAB I. PENDAHULUAN	6
A. Latar Belakang	6
B. Permasalahan yang akan diteliti	9
C. Tujuan Khusus	10
D. Urgensi masalah	10
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	
A. Kajian Pustaka	
1. Kajian mengenai hama Padi organik	13
2. Peningkatan Kualitas Agroekosistem Sawah padi organik	14
3. Senyawa metabolit sekunder sebagai Biopestisida	15
4. Mekanisme mortalitas pada hama	16
5. Kajian Profil Protein	17
6. Perubahan Struktur Komunitas Mikroba	18
B. Road Map penelitian	18
BAB III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	22
BAB IV. METODE PENELITIAN	24
A. Pendekatan dan prosedur penelitian	24
B. Rancangan penelitian	29
C. Analisis data	30
D. Luaran yang diinginkan	30
E. Bagan Alir penelitian	31
BAB V. HASIL DAN LUARAN YANG DICAPAI	32
BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN	44
DAFTAR PUSTAKA	45
LAMPIRAN	48

BAB I.

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Kerusakan Lingkungan hidup yang disebabkan oleh aktivitas pertanian telah meningkatkan kesadaran manusia dan mendorong timbulnya paradigma baru dalam sistem pertanian. Dalam paradigma sebelumnya pertanian dipandang efisien apabila dapat memberikan produksi yang setinggi-tingginya dengan tingkat keuntungan yang maksimum, hal ini menyebabkan pengurasan potensi lahan dan lingkungan (abiotik dan biotik) melebihi kemampuan ekosistem tersebut untuk memulihkannya.

Agroekosistem yang merupakan suatu ekosistem pertanian dapat dikatakan produktif jika terjadi keseimbangan antara tanah, hara, sinar matahari, kelembaban udara dan organisme yang ada sehingga dihasilkan suatu pertanaman yang sehat dan hasil yang berkelanjutan. Jika terdapat gangguan pada suatu agroekosistem pathogen, serangga hama atau degradasi lahan maka untuk mencegah kerentanan pada agroekosistem tersebut perlu dilakukan pengembalian keseimbangan yaitu dengan mengembalikan fungsi dari masing-masing komponen yang ada dalam agroekosistem tersebut (Altieri dan Altieri, 2004).

Sejalan dengan strategi pengelolaan agroekosistem dan keinginan masyarakat untuk kembali ke alam, maka pertanian organik semakin dikembangkan. Pertanian Organik adalah sistem produksi pertanian yang holistik dan terpadu dengan cara mengoptimalkan kesehatan dan produktivitas agroekosistem secara alami sehingga menghasilkan pangan dan serat yang cukup, berkualitas dan berkelanjutan. Tujuan utama pertanian organik adalah menyediakan produk-produk pertanian, terutama bahan pangan yang aman bagi kesehatan produsen dan konsumennya serta tidak merusak lingkungan. Gaya hidup sehat telah melembaga secara internasional yang mensyaratkan jaminan bahwa produk pertanian harus beratribut aman dikonsumsi (*food safety attributes*), kandungan nutrisi tinggi (*nutritional attributes*) dan ramah lingkungan (*eco-labelling attributes*). Preferensi konsumen seperti ini menyebabkan permintaan produk pertanian organik dunia meningkat pesat.

Indonesia memiliki potensi yang cukup besar untuk bersaing di pasar internasional walaupun secara bertahap. Hal ini karena berbagai keunggulan komparatif antara lain : 1) masih banyak sumberdaya lahan yang dapat dibuka untuk mengembangkan sistem pertanian organik, 2) teknologi untuk mendukung pertanian organik sudah cukup tersedia seperti pembuatan kompos, tanam tanpa olah tanah, pestisida hayati dan lain-lain.

Pertanian organik secara universal dipahami sebagai pertanian tanpa menggunakan pupuk, herbisida serta pestisida sintetis buatan manusia. Sebagai penggantinya, para petani merotasi jenis tanaman, menggunakan pupuk hijau, kompos, dan biopestisida yang berarti juga bahwa pertanian

organik menghindari terjadinya polusi tanah, air dan udara. Kegiatan pertanian organik menyebabkan terjadi restorasi, pemeliharaan, dan peningkatan harmoni ekologi yang akan mengoptimalkan kesehatan dan produktivitas kehidupan dalam tanah, tumbuhan, hewan dan manusia.

Penanaman Padi Organik telah banyak dilakukan, permintaan pasar akan padi organik cukup baik akan tetapi seperti halnya pertanian organik yang lain, kendala utama yang dihadapi untuk meningkatkan produktivitas dan kualitas tanaman adalah adanya hama dan penyakit pada tanaman, kendala yang lain dalam sistem pertanian organik yang diterapkan, ternyata tidak diikuti oleh semua petani, sehingga fakta yang ada lahan pertanian organik bersebelahan dengan lahan pertanian anorganik, akibatnya hama dari pertanian anorganik menyerang pula pada pertanian organik selain itu residu pestisida dari pertanian anorganik ikut mencemari pengairan yang diberikan pada pertanian organik karena irigasi yang tidak terpisah.

Dari studi pendahuluan diperoleh informasi bahwa pertanian organik untuk tanaman padi di Jawa timur meliputi sebelas kabupaten (BPTP, 2011). Dari observasi sawah padi organik di kabupaten Malang, diperoleh bahwa pada umumnya padi yang dikembangkan jenis padi merah, raja lele, pandan wangi, mentik, bengawan. Pada pertanian padi organik, petani dihadapkan pada permasalahan ketersediaan pupuk, bibit dan biopestisida. Hama yang menyerang tanaman padi organik adalah penggerek batang (sundep), ulat daun, walangsangit, wereng dan tikus. Untuk mengatasi hama, maka selama ini petani sudah berupaya membuat pestisida nabati dengan bahan baku tanaman yang ada di lingkungan sekitar seperti menggunakan sirih, gadung, mindi, walaupun dengan cara sederhana yaitu merendam dengan air, kapur barus atau gamping. Cara tersebut belum mampu menahan serangan hama karena serangan hama terjadi pada waktu yang berbeda untuk setiap jenis hama, sehingga ada kekurangan produksi 10 - 20% per hektar.

Penggunaan pestisida nabati atau senyawa bioaktif yang berasal dari tumbuhan telah dikembangkan karena lebih aman dan ramah bagi lingkungan dan tidak membunuh organisme non target. Selain menghasilkan senyawa primer dalam metabolismenya, tumbuhan juga menghasilkan senyawa metabolit sekunder yaitu senyawa fenolik, alkaloid, terpenoid, dan senyawa sulfur. Senyawa metabolit sekunder ini merupakan pertahanan tumbuhan terhadap serangan hama (Rukmana dan Oesman, 2002). Dalam 30 tahun terakhir, tidak kurang dari 1500 tanaman telah dilaporkan aktif terhadap serangga (Jacobson, 1990; Hedin *et al.*, 1997), atau berpengaruh buruk terhadap organisme pengganggu tanaman, diantaranya terdapat paling sedikit 850 jenis tanaman yang aktif terhadap serangga. Berbagai bagian tanaman dapat digunakan sebagai pestisida nabati misalnya daun, batang, bunga, biji, dan buah.

Sifat bahan nabati pada umumnya mudah terurai di alam sehingga residunya tidak berdampak negatif terhadap lingkungan, sebagai contoh piretrin merupakan zat yang cepat terdegradasi di alam

khususnya apabila terkena sinar matahari sehingga zat ini tidak persisten di lingkungan maupun pada bahan makanan. Keadaan tersebut juga dapat menekan organisme bukan sasaran terkena residu. Pada umumnya bahan alami yang mengandung senyawa bioaktif dapat digolongkan menjadi tiga yaitu a) bahan alami dengan kandungan senyawa tanaman bersifat fitotoksik atau mengatur tumbuh tanaman (hormon, fitotoksin dan sejenisnya), b) bahan alami dengan kandungan senyawa antifitopatogenik (antibiotik pertanian), c) bahan alami dengan kandungan senyawa bersifat aktif terhadap serangga (feromon, antifidan, repelen, atraktan dan insektisida).

Berbagai penelitian telah dilakukan untuk memanfaatkan senyawa metabolit sekunder sebagai biopestisida. Sebagai contoh tanaman yang secara etnobotani dapat dimanfaatkan sebagai pestisida nabati adalah Brotowali (*Tinospora tuberculata*). Tumbuhan ini diketahui mengandung senyawa pikoretin, berberin, dan palmatin, yang termasuk senyawa golongan alkaloid, pikroretosid dan tinokrisposid yang merupakan suatu senyawa glikosida serta senyawa triterpenoid (Krenady, 2003). Batang tumbuhan brotowali mengandung senyawa pestisida nabati khususnya yang bersifat antimakanan. Tumbuhan *Dioscorea hispida* Dennst dikenal dengan nama gadung, getahnya digunakan untuk mengobati gigitan ular serta sisa pengolahan tepungnya digunakan sebagai insektisida (Heyne, 1987; Patcharaporn *et al.*, 2010). Sifat racun umbi gadung disebabkan oleh kandungan dioskorin, rasanya yang menggigit disebabkan oleh kandungan taninnya. Tumbuhan dari genus yang sama yaitu *Dioscorea bulbifera* Linn juga bersifat toksik terhadap *Artemia salina* Leach dengan LC_{50} sebesar 0,7460 ppm (Puspawati, 1997). *Pluchea indica* L. atau beluntas diketahui mengandung senyawa alkaloid, flavonoida, fenol hidrokuinon, tannin, dan minyak atsiri yang dapat digunakan sebagai herbisida ataupun insektisida. Genus *Pluchea* dengan ekstrak methanol mempunyai efek insektisida dan dengan ekstrak kloroform dapat sebagai antinematoda dan antibakteri (Traithip, 2005). Berdasarkan hal tersebut maka peluang penggunaan pestisida nabati di Indonesia cukup luas apalagi ditunjang oleh keanekaragaman hayati tumbuhan yang mengandung bahan aktif pestisida.

Hasil penelitian tahun pertama menunjukkan bahwa berbagai tumbuhan telah digunakan sebagai biopestisida oleh petani padi organik. Hasil survey dan wawancara dengan petani organik di 4 daerah di Jawa Timur yaitu Malang (Ds. Sumber ngepoh Lawang dan Kepanjen), Mojokerto (Ds. Kesemen Ngoro dan Ds. Seloliman- Trawas), Jombang (Ds. Pojok kulon Kesamben dan Ds Ngagri Megaluh) dan Madiun (Ds Kaibon Geger) menunjukkan bahwa petani organik telah menggunakan berbagai tanaman di lingkungan sekitar sebagai biopestida, dengan berbagai formula dan cara pembuatan yang berbeda. Adapun spesies flora yang dikembangkan oleh petani padi organik sebanyak 30 spesies dan meliputi 20 famili yaitu Annonaceae, Araceae, Liliaceae, Solanaceae, Dioscoreaceae, Euphorbiaceae, Gramineae, Rutaceae, Asteraceae, Myrtaceae, Palmae, Papillionaceae, Piperaceae, Meliaceae, Moraceae, Achariaceae, Fabaceae, Bombaceae, Sapindaceae, Moringaceae, Menispermaceae, dan Musaceae. Selain itu diperoleh spesies hama yang menyerang

tanaman padi organik yang sering dijumpai adalah penggerek batang (sundep), ulat daun, walangsangit, wereng dan tikus.

Berdasarkan Flora local yang digunakan oleh petani organik maka peneliti membuat biopestisida yang dikembangkan dari tanaman *Elephantopus scaber* (tapak liman) dan tumbuhan *Tithonia diversifolia* (paitan). Kedua tanaman tersebut efektif sebagai biopestisida. Konsentrasi 2%, 4% dan 6 % dari ekstrak daun tanaman Paitan sudah dapat mengakibatkan mortalitas *S. litura* sebesar 96,67% dan mortalitas *P. xylostella* sebesar 83,33%, sedangkan ekstrak daun tanaman tapak liman sebesar 4% dan 6 % mampu secara efektif mematikan *S. litura* sebesar 90 % dan mortalitas *P. xylostella* sebesar 83,3-100%. Biopestisida yang dikembangkan juga dicobakan ke cacing tanah dan dampak biopestisida dari ekstrak tanaman paitan dan tapak liman terhadap cacing tanah hanya mematikan cacing tanah sebesar 26,6-33,3% pada pengamatan hari ke sepuluh.

Hasil penelitian tahun pertama menunjukkan bahwa biopestisida yang dikembangkan efektif, karena itu sebelum diaplikasikan di lapang, maka pada tahun kedua, penelitian fundamental ini akan bertujuan mengetahui dampak biopestisida terhadap profil protein organisme target, dan mendeskripsikan dampak penggunaan biopestisida terhadap struktur komunitas mikroba tanah dalam skala laboratorium. Sehingga diharapkan dalam jangka panjang, sawah dapat menjadi agroekosistem yang menyehatkan petani dan meningkatkan kualitas panen padi organik.

Penggunaan pestisida nabati pada pertanian diharapkan dapat memelihara sumber daya alam dan produktivitas pertanian dalam jangka waktu yang lama, menjaga dampak lingkungan secara minimal, produksi tanaman yang optimal dengan masukan bahan kimia yang minimal, memberikan keuntungan ekonomis yang sepadan bagi para petani. Pengendalian hama secara permanen diharapkan dapat membantu menciptakan suatu ekosistem pertanian yang seimbang dan pertanian yang berkelanjutan.

B. Permasalahan penelitian yang dikaji dalam penelitian ini adalah

1. Apakah spesies flora lokal yang digunakan oleh petani padi organik dan berpotensi dikembangkan sebagai biopestisida?
2. Apakah spesies hama yang menyerang tanaman padi organik di Jawa Timur?
3. Bagaimanakah efektivitas biopestisida dari flora local terpilih yang dikembangkan, dalam mengendalikan hama padi organik?
4. Bagaimanakah dampak biopestisida yang dikembangkan terhadap organisme non target (cacing tanah)
5. Bagaimanakah dampak pemberian biopestisida dari flora lokal pada profil protein organisme target ?
6. Bagaimanakah dampak pemberian biopestisida dari flora lokal pada struktur komunitas mikroba tanah?

Pada tahun kedua, penelitian ini akan menjawab permasalahan penelitian no. 5 dan 6.

C. Tujuan Khusus

Penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan biopestisida dari flora lokal yang ramah terhadap lingkungan, sehingga sawah menjadi agroekosistem yang menyehatkan petani dan meningkatkan kualitas panen padi organik. Secara khusus penelitian ini bertujuan untuk :

1. Tahun pertama

- a. Mengidentifikasi flora lokal yang digunakan oleh petani padi organik sebagai biopestisida, dengan tujuan :
 - 1) Menentukan spesies flora lokal yang digunakan sebagai biopestisida
 - 2) Identifikasi hama yang menyerang padi organik
 - 3) Identifikasi kearifan local petani padi organik dalam membuat biopestisida dari flora disekitar dan membuat pupuk organik.
 - 4) Identifikasi bahan aktif dari flora lokal yang digunakan petani padi organik sebagai biopestisida
- b. Mengembangkan biopestisida dari flora lokal dan menentukan efektivitas biopestisida dalam mengendalikan hama padi organik, yang dijabarkan sebagai berikut:
 - 1) Pengembangan biopestisida dari flora lokal pada skala laboratorium.
 - 2) Uji Fitokimia ekstrak tumbuhan Biopestisida
 - 3) Analisis kandungan Fenol dan Flavonoid dari kedua tumbuhan yang digunakan sebagai Biopestisida
 - 4) Uji efektifitas ekstrak flora lokal pada hama target
 - 5) Uji subakut ekstrak flora lokal pada organisme non target
 - 6) Penentuan dosis yang tepat yang bisa membunuh hama tanpa mematikan hewan non target.

2. Tahun kedua

- a. Mendeskripsikan dampak penggunaan biopestisida terhadap perubahan profil protein organisme target
- b. Mendeskripsikan dampak penggunaan biopestisida terhadap struktur komunitas mikroba tanah, yang dijabarkan sebagai berikut:
 - 1) Mendeskripsikan struktur komunitas mikroba tanah sebelum penggunaan biopestisida.
 - 2) Mendeskripsikan dampak penggunaan biopestisida terhadap komunitas mikroba tanah dalam skala laboratorium

D. Urgensi Masalah

Agroekosistem padi yang konvensional dengan bertumpu pada ekstensifikasi dan intensifikasi pertanian mengakibatkan ekosistem yang labil. Keberadaan pestisida sintesis dapat meningkatkan resistensi hama, resurgensi hama, dan kematian organisme non target. Pupuk Sintesis dapat mempengaruhi struktur tekstur tanah, ketersediaan unsur hara dan aktivitas mikroba tanah, sedangkan adanya bibit unggul dapat mengurangi ketahanan tumbuhan terhadap serangan hama dan penyakit. Residu yang ditimbulkan sebagai dampak penggunaan pestisida dan pupuk sintesis dapat berakibat pada: produktivitas pertanian menurun, biodiversitas menurun, pencemaran air dan tanah (kerusakan lingkungan), kerusakan potensial tanaman, produk pertanian tidak memenuhi standar keamanan pangan (*food safety*). Kondisi tersebut menyebabkan berkembangnya pertanian organik, yang secara universal dipahami sebagai pertanian tanpa menggunakan pupuk, herbisida serta pestisida sintetis buatan manusia. Sebagai penggantinya, para petani merotasi jenis tanaman, menggunakan pupuk hijau, dan biopestisida yang berarti juga bahwa pertanian organik menghindari terjadinya polusi tanah, air dan udara.

Permintaan pasar akan padi organik cukup baik akan tetapi kendala utama yang dihadapi untuk meningkatkan produktivitas dan kualitas tanaman adalah hama dan penyakit pada tanaman. Dari studi pendahuluan diperoleh informasi bahwa hama penyakit yang sering menyerang tanaman padi hitam adalah penggerek batang (*sundep*), ulat daun, walangsangit dan jamur *Sclerotium* yang mengakibatkan busuk batang. Selama ini petani sudah berupaya membuat pestisida nabati dengan bahan baku tanaman sirih, gadung dan mindi walaupun dengan cara sederhana yaitu merendam dengan air atau gamping. Cara tersebut belum mampu menahan serangan hama, sehingga ada kekurangan produksi hampir 20%. Kendala yang lain dalam sistem pertanian organik yang diterapkan, ternyata tidak diikuti oleh semua petani, sehingga fakta yang ada lahan pertanian organik bersebelahan dengan lahan pertanian anorganik, akibatnya hama dari pertanian anorganik menyerang pula pada pertanian organik selain itu residu pestisida dari pertanian anorganik ikut mencemari pengairan yang diberikan pada pertanian organik.

Berdasarkan hal tersebut perlu dikembangkan penggunaan pestisida nabati atau senyawa bioaktif yang berasal dari tumbuhan. Walaupun demikian pengembangan biopestisida haruslah diimbangi dengan kajian ilmiah untuk menentukan flora yang tepat, kemampuan mematikan hama tetapi tidak mengakibatkan mortalitas pada organisme non target, konsentrasi/dosis serta efek biopestisida terhadap perubahan profil protein organisme target dan non target (terkait dengan adaptasi organisme non target terhadap perubahan lingkungan) serta dampaknya terhadap mikroba tanah.

Selama ini penelitian biopestisida pada umumnya hanya terbatas pada uji coba laboratorium terhadap organisme target (hama) selain itu belum memonitor efek biopestisida terhadap organisme

non target dan mikrobia tanah ataupun dampak pemberian biopestisida terhadap perubahan profil protein organisme target. Hal ini sangat penting untuk mengetahui seberapa besar daya adaptasi organisme non target terhadap biopestisida dan untuk mengetahui dampak biopestisida pada keanekaragaman hayati mikrobia tanah yang memberi manfaat bagi padi organik. Temuan dari penelitian ini akan memberi gambaran biopestisida yang dikembangkan untuk dapat diaplikasikan pada agroekosistem sawah padi organik.

Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan terdapat pengaruh yang positif dari pemberian biopestisida berbagai tanaman terhadap organisme target. Pemberian ekstrak daun beluntas pada konsentrasi 12 % dapat menyebabkan mortalitas *Spodoptera litura* 80 %. Sementara daun babadotan dengan konsentrasi 10% mengakibatkan mortalitas *S. Litura* sebesar 83 % dan konsentrasi 12 % mengakibatkan mortalitas 90 % (Yuliani, 2013). Penelitian ekstrak daun suren dan mahoni mengakibatkan mortalitas *Plutella xylostella* sebesar 78,33% (Hidayati *et al.*, 2013). Hasil penelitian tahun pertama juga menunjukkan bahwa konsentrasi 2%, 4% dan 6 % dari ekstrak daun tanaman Paitan sudah dapat mengakibatkan mortalitas *S. litura* sebesar 96,67% dan mortalitas *P. xylostella* sebesar 83,33%, sedangkan ekstrak daun tanaman tapak liman sebesar 4% dan 6 % mampu secara efektif mematikan *S. litura* sebesar 90 % dan mortalitas *P. xylostella* sebesar 83,3-100%. Biopestisida yang dikembangkan juga dicobakan ke cacing tanah dan dampak biopestida dari ekstrak tanaman paitan dan tapak liman terhadap cacing tanah hanya mematikan cacing tanah sebesar 26,6-33,3% pada pengamatan hari ke sepuluh.

Temuan penelitian yang berupa biopestisida diharapkan dapat memperkaya IPTEK dalam mengatasi pencemaran Agroekosistem yang diakibatkan oleh penggunaan pestisida sintetik, dan menciptakan suatu ekosistem pertanian yang seimbang dan berkelanjutan. Selain itu diharapkan dapat meningkatkan kualitas panen padi organik sehingga mendukung terciptanya produk pertanian yang beratribut aman dikonsumsi (*food safety attributes*), kandungan nutrisi tinggi (*nutritional attributes*) dan ramah lingkungan (*eco-labelling attributes*).

BAB II.

TINJAUAN PUSTAKA

A. Kajian Pustaka

1. Kajian mengenai hama padi organik

Padi (bahasa latin: *Oryza sativa* L.) adalah salah satu tanaman budidaya terpenting yang diduga berasal dari India atau Indocina dan masuk ke Indonesia sekitar 1500 SM. Pemuliaan padi dilakukan secara sistematis dengan mengembangkan berbagai kultivar padi dengan produksi yang tinggi untuk memenuhi kebutuhan pangan. Selain perbaikan potensi hasil, sasaran pemuliaan padi mencakup pula tanaman yang lebih tahan terhadap berbagai organisme pengganggu tanaman (OPT) dan tekanan (stres) abiotik (seperti kekeringan, salinitas, dan tanah masam). Pemuliaan yang diarahkan pada peningkatan kualitas padi juga dilakukan, misalnya dengan perakitan kultivar mengandung karoten (provitamin A). Setiap kultivar padi memerlukan sistem budidaya yang berbeda, sebagai contoh dikenal kultivar padi yang cocok untuk lahan kering yang dikenal dengan nama padi gogo. Maka pada budidaya padi akan mencakup persemaian, pemindahan atau penanaman, pemeliharaan (termasuk pengairan, penyiangan, perlindungan tanaman, serta pemupukan), dan panen. Aspek lain yang penting namun bukan termasuk dalam rangkaian bercocok tanam padi adalah pemilihan kultivar, pemrosesan biji dan penyimpanan biji.

Salah satu aspek penting dalam budidaya padi adalah keberadaan Hama dan penyakit yang meliputi 1) Hama padi wereng cokelat (*Nilaparvata lugens* stal.), yang dikendalikan dengan berbagai cara. Pertama adalah menggunakan varietas tahan akan hama padi wereng cokelat. Unsur pengendalian lainnya dengan mengatur pola tanam, menanam secara serentak, rotasi tanaman secara serentak untuk memutus siklus hidup hama padi wereng cokelat, pembakaran sisa tanaman yang terserang. Dan cara yang terakhir dengan menggunakan pestisida nabati atau kimia (insektisida). 2) Hama padi penggerek batang yang paling sering menyerang dan merugikan tanaman padi adalah jenis penggerek batang padi putih dan penggerek batang padi kuning. Pengendalian hama tanaman padi ini dilakukan dengan cara memunguti telur yang terdapat di persemaian dan daun padi dilapangan. Penanaman yang serentak juga dapat mengurangi tingkat serangan. 3) Hama padi Tikus sawah (*Rattus argantiventer* rob), penyebab utama kerusakan terbesar, terutama di dataran rendah. Kerusakan terjadi apabila tikus menyerang padi pada stadium pertumbuhan, karena tanaman sudah tidak mampu membentuk anakan baru. Ciri khas serangan tikus sawah adalah kerusakan tanaman dari tengah petak, kemudian meluas ke arah pinggir. Pengendalian hama tikus dilakukan pada awal musim tanam untuk menekan populasi tikus sejak awal pertanaman sebelum tikus memasuki masa reproduksi. 4) Hama walang sangit (*Leptcorisa oratorius*) adalah hama yang menyerang tanaman padi setelah berbunga dengan cara menghisap

cairan bulir padi menyebabkan hampa atau pengisiannya tidak sempurna. Hama walang sangit mengakibatkan kehilangan hasil sekitar 50 %.

2. Peningkatan Kualitas Agroekosistem Sawah Padi Organik

Seiring dengan meningkatnya populasi manusia, maka kebutuhan akan pangan juga meningkat. Untuk mencukupi kebutuhan pangan yang semakin besar maka diperlukan usaha peningkatan produksi pertanian dengan program ekstensifikasi dan intensifikasi pertanian. Program ini secara langsung telah mengubah ekosistem lingkungan dengan menurunkan atau memperkecil keragaman hayati fauna dan flora yang sekaligus menyederhanakan ekosistem. Penyederhanaan ekosistem pertanian dengan sendirinya akan mengubah ekosistem tersebut menjadi lebih labil dibandingkan dengan ekosistem alami yang biasanya lebih stabil. Ekosistem yang labil akan menimbulkan dampak negatif terhadap lingkungan seperti timbulnya hama dan penyakit baru serta hilangnya musuh alami serta kerugian atau kerusakan yang dialami akibat serangan hama dan penyakit tidak pernah berkurang justru dirasakan semakin meningkat.

Agroekosistem yang merupakan suatu ekosistem pertanian dapat dikatakan produktif jika terjadi keseimbangan antara tanah, hara, sinar matahari, kelembaban udara dan organisme yang ada sehingga dihasilkan suatu pertanian yang sehat dan hasil yang berkelanjutan. Jika terdapat gangguan pada suatu agroekosistem maka perlu dilakukan pengembalian keseimbangan yaitu dengan mengembalikan fungsi dari masing-masing komponen yang ada dalam agroekosistem tersebut (Altieri dan Altieri, 2004),

Meningkatnya serangan hama dan penyakit tidak terlepas dari hubungan adanya perubahan-perubahan yang terjadi pada suatu ekosistem. Penggunaan varietas unggul, pupuk buatan dan pestisida yang bertujuan meningkatkan produksi pertanian turut menjadi penyebab meningkatnya serangan hama dan penyakit tanaman. Varietas unggul yang merupakan hasil pemuliaan tanaman memang mempunyai kualitas dan produksi tinggi, tetapi seringkali varietas ini tidak memiliki sifat-sifat ketahanan terhadap serangan hama dan penyakit.

Adanya perubahan keadaan tanah karena usaha pemupukan yang berpengaruh terhadap kandungan unsur dalam jaringan tanaman yang secara tidak langsung dapat mempengaruhi tingkat kepadatan populasi hama. Hama dan penyakit tanaman merupakan suatu kesatuan yang dinamik dalam Agroekosistem oleh karena itu perubahan dalam agroekosistem dapat mempengaruhi besarnya jumlah populasi hama dan penyakit tanaman.

Pertanian organik merupakan cara untuk mengembalikan fungsi masing-masing komponen dalam agroekosistem, dengan menggunakan pupuk hijau, kompos, dan biopestisida berarti juga bahwa pertanian organik menghindari terjadinya polusi tanah, air dan udara. Kegiatan pertanian organik menyebabkan terjadi restorasi, pemeliharaan, dan peningkatan harmoni ekologi yang akan

mengoptimalkan kesehatan dan produktivitas kehidupan dalam tanah, tumbuhan, hewan dan manusia.

3. Senyawa Metabolit Sekunder pada Tumbuhan dan Fungsinya Sebagai Pestisida Nabati

Metabolit sekunder merupakan senyawa kimia yang terbentuk dalam tanaman. Senyawa metabolit sekunder dapat tersimpan pada organ tanaman seperti akar, batang, daun, rizoma, bunga dan biji (Wink, 2010). Biosintesis metabolit sekunder sangat beragam tergantung dari golongan senyawa yang bersangkutan. Jalur yang biasanya dilalui dalam pembentukan metabolit sekunder ada tiga jalur, yaitu jalur asam asetat, jalur asam sikimat, dan jalur asam mevalonat (Robinson, 1995). Senyawa-senyawa yang tergolong ke dalam kelompok metabolit sekunder ini antara lain: alkaloid, flavonoid, kuinon, tanin, minyak atsiri, dll. Di dalam tanaman, setiap senyawa akan saling bersinergis sehingga menambah aktivitas atau efektivitasnya (Djauhariya dan Hernani, 2004). Senyawa metabolit sekunder dapat berpengaruh menghambat pertumbuhan mikroorganisme melalui beberapa mekanisme, misalnya senyawa terpenoid dan diterpenoid sebagai antibakteri dan anti jamur melalui mekanisme menurunkan permeabilitas membran sel mikroorganisme. Senyawa terpenoid dapat berikatan dengan molekul protein dan lipid sehingga dapat mempengaruhi fungsi fisiologis protein membran sel dan protein enzim.

Senyawa metabolit sekunder seperti tannin, alkaloid, flavonoid, saponin, fenol merupakan senyawa hasil dari proses metabolisme sekunder yang biasanya diproduksi oleh tanaman untuk pertahanan terhadap serangga, karena senyawa ini mempunyai mekanisme yang dapat menghambat proses metabolisme serangga (Pedigo, 1989). Terdapat beberapa gejala serangga akibat senyawa tersebut di atas yang bersifat sebagai insektisida: terjadinya kematian pada usia dini, laju pertumbuhan mengalami penurunan, ukuran tubuh saat dewasa menyusut, masa hidup yang relatif pendek, morfologi serangga menjadi abnormal dan timbulnya kegelisahan dan perilaku abnormal lainnya. Saponin dapat digunakan sebagai insektisida, selain itu dapat dipakai untuk mengendalikan jentik nyamuk *Aedes aegypti* dan dapat mematikan nyamuk dewasa, serta bersifat sebagai repelen yang mencegah kehadiran nyamuk (Aminah, 1995). Selanjutnya Smith (1989) dalam Pasaribu (2003) menjelaskan bahwa alkaloid dan flavonoid merupakan senyawa pertahanan tumbuhan yang dapat bersifat menghambat makan serangga, dan juga bersifat toksik. Alkaloid adalah senyawa metabolit sekunder terbanyak yang memiliki atom nitrogen, yang ditemukan dalam jaringan tumbuhan dan hewan. Sebagian besar senyawa alkaloid bersumber dari tumbuh-tumbuhan, terutama angiosperm. Lebih dari 20% spesies angiosperm mengandung alkaloid (Wink, 2008). Salah satu jenis tanaman yang mengandung alkaloid adalah tanaman dari Dioscoreaceae. Alkaloid beberapa spesies dioscorea dilaporkan dapat berfungsi sebagai zat antikanker (Hou dkk., 2000), dan dapat berfungsi sebagai zat hipoglikemik. Harborne (1987) menjelaskan bahwa senyawa fenol yang berasal dari tumbuhan mempunyai kemampuan membentuk kompleks dengan protein melalui

ikatan hidrogen, sehingga menghambat pembentukan protein dan asam nukleat. Senyawa fenol juga dapat melarutkan lipid dari dinding sel karena mengandung gugus –OH yang dapat mengganggu dan mempengaruhi integritas membran sitoplasma sehingga menyebabkan lisis sel, dan menghambat ikatan ATP-ase pada membran sel. Menurut Robinson (1995), senyawa fenol dibentuk pada tumbuhan sebagai adanya tanggapan terhadap adanya infeksi. Senyawa fenol mempunyai aktivitas antiinflamasi yang dapat menghambat sintesis postaglandin. Kumarin sederhana dapat memiliki efek toksik terhadap mikroorganisme, bahkan beberapa kumarin dapat membunuh serangga. Senyawa fenolik dapat larut dalam membran sesuai dengan kelarutannya dalam lipid sehingga dapat mengubah permeabilitas membran dan transpor transmembran. Flavonoid merupakan senyawa yang bersifat racun, sering terdapat sebagai glikosida yaitu senyawa yang terdiri dari gula yang terikat dengan flavon. Flavonoid mempunyai sifat yang khas yaitu bau yang sangat tajam, dapat larut dalam air dan pelarut organik serta mudah terurai pada temperature tinggi. Salah satu manfaat dari flavonoid adalah dapat digunakan sebagai bahan aktif dalam pembuatan insektisida nabati. Flavonoid dapat bekerja sebagai inhibitor kuat pernapasan, antimikrobia, dan antivirus (Robinson, 1995).

4. Mekanisme mortalitas pada hama

Pestisida yang digunakan dalam mengendalikan hama harus mempunyai sifat sebagai berikut: 1) Mempunyai daya bunuh yang besar dan cepat serta tidak berbahaya bagi binatang vertebrata termasuk manusia dan ternak; 2) Murah harganya dan mudah didapat dalam jumlah besar; 3) Mempunyai susunan kimia yang stabil dan tidak mudah terbakar; 4) mudah dipergunakan dan dapat dicampurkan dengan berbagai macam bahan pelarut.

Menurut cara masuknya ke dalam tubuh serangga, pestisida (insektisida) dibagi sebagai : 1) Racun kontak (*contact poison*) Insektisida masuk melalui eksoskelet ke dalam badan serangga dengan perantara tarsus (jari – jari kaki) pada waktu istirahat di permukaan yang mengandung residu insektisida. 2) Racun perut (*stomach poison*) Insektisida masuk ke dalam badan serangga melalui mulut, jadi harus dimakan. 3) Racun pernapasan (*fumigants*) insektisida masuk melalui sistem pernapasan (spirakel) dan juga melalui permukaan badan serangga.

Proses masuknya zat kimia ke dalam tubuh suatu organisme (Lu, 2006) dapat melalui saluran pencernaan, paru-paru, dan kulit.. Racun kontak masuk ke dalam tubuh serangga melalui dinding tubuh, permukaan kulit, dan sistem saraf yang terdapat di permukaan kulit. Insektisida memasuki tubuh serangga bila serangga tersebut mengadakan kontak dengan insektisida atau berjalan di atas permukaan tanaman yang mengandung insektisida (Untung, 2006). Racun kontak mempunyai daya bunuh yang cepat setelah mengenai bagian tubuh serangga. Penetrasi zat kimia ke dalam tubuh serangga melalui epikutikula mengakibatkan rusaknya zat lilin pada lapisan kutikula, sehingga mengalami banyak kehilangan air dan menyebabkan kematian (Cottrell, 1987)

Senyawa aktif masuk ke dalam jaringan di bawah integuman menuju daerah sasaran yaitu sel neurosekretori, kemudian masuk ke korpora kardiaka melalui pengangkutan aksonal. Di dalam korpora kardiaka senyawa aktif akan menghambat kelenjar protoraks untuk mengekskresi alfa ekdison (*molting hormone*) ke dalam hemolimfe, bila sekresi alfa ekdison terganggu maka beta ekdison pun terganggu yang mengakibatkan terhambatnya pembentukan kutikula baru, dan kutikula lama akan tetap melekat pada tubuh serangga yang menyebabkan tubuh serangga tidak dapat berkembang dan tumbuh menjadi serangga dewasa (Schmidt-Nielsen, 1991). Senyawa aktif juga mempengaruhi regulasi neuroendrokin pada *juvenile hormone* dari korpora radiaka, terus masuk ke korpora alata melalui saraf penghubung. Senyawa ini akan menghambat pembentukan hormon juvenil yang mempengaruhi metamorphosis ngengat, sekresi hormon juvenil pada darah berfungsi menekan karakteristik dewasa dengan cara mempertahankan struktur hormon juvenil. Apabila kandungan hormon juvenil tinggi dalam darah, serangga akan mengalami molting tetapi akan bertahan di bentuk yang sama pada tahap berikutnya. Pada tahap kritis pertumbuhan, kandungan hormon juvenil berkurang, dan setelah molting berikutnya serangga berubah bentuk yang telah terprogram secara genetis.

5. Perubahan Profil Pita Protein sebagai Respon terhadap Perubahan Kondisi Lingkungan

Perubahan lingkungan yang terjadi sebagai dampak penggunaan biopestisida akan direspon oleh organisme yang terdapat di ekosistem tersebut. Bahan aktif yang terkandung pada biopestisida dapat menyebabkan perubahan pada lingkungan yang akan direspon oleh organisme target dan non target. Oleh karena itu, pengujian dalam skala laboratorium terkait keamanan suatu biopestisida untuk dapat diaplikasikan di lingkungan merupakan suatu tahapan yang wajib yang harus dilalui. Respon yang diberikan oleh suatu organisme akan diekspresikan melalui sintesis protein tertentu. Sintesis protein sebagai respon terhadap perubahan lingkungan tersebut menyebabkan perubahan pada pola pita protein (*protein profile*). Perubahan komposisi protein dapat dideteksi dan diuji secara akurat dengan analisis proteomik (Parchin *et al.*, 2014), misalnya analisis *protein fingerprinting*. Stres yang dialami oleh organisme juga akan menyebabkan terekspresikannya protein tertentu. Salah satu protein yang terekspresi akibat induksi stres lingkungan adalah protein *heat-shock protein 70* (HSP70) (Tomanek dan Sanford, 2003). Protein HSP merupakan kelompok protein yang terkonservasi dan dapat ditemukan pada semua makhluk hidup. Protein HSP dengan berat molekul 70 kDa, atau yang lebih dikenal sebagai HSP70 merupakan manifestasi dari stres yang dialami oleh suatu organisme. Keberadaan protein ini menjadi indikator bahwa aplikasi dari biopestisida tersebut menimbulkan perubahan di lingkungan yang berdampak terjadinya stres pada organisme di ekosistem tersebut.

6. Keterkaitan antara Penggunaan Biopestisida dengan Perubahan Struktur Komunitas Mikroba Tanah

Biopestisida merupakan pestisida yang dibuat dengan menggunakan bahan alami untuk mengatasi serangan hama (Chandler *et al.*, 2011). Penggunaan biopestisida mampu mengatasi masalah serangan hama pada tanaman. Namun, penggunaan pestisida secara berkelanjutan dapat mempengaruhi flora dan fauna serta faktor fisik-kimia tanah. Penerapan biopestisida pada tanaman memungkinkan adanya efek bahan aktif di biopestisida tersebut terhadap organisme non target (Sethi dan Gupta, 2013).

Salah satu organisme non target yang terpengaruh dengan penggunaan biopestisida adalah mikroorganisme tanah. Mikroorganisme tanah berperan dalam dekomposisi bahan organik, siklus nutrisi dan produktivitas tanaman (Sethi dan Gupta, 2013). Komunitas mikrobia terstruktur oleh sejumlah besar faktor di antaranya adalah kondisi lingkungan yang terdiri dari mikroorganisme lokal, kondisi lingkungan kontemporer dan *niche* ekologi (Logue *et al.*, 2015). Kandungan aktif dalam biopestisida, seperti metabolit sekunder, dapat mempengaruhi kondisi lingkungan tanah yang menyebabkan adanya respon pada mikrobia tanah. Respon mikrobia terhadap perubahan kondisi lingkungan dilakukan dengan kombinasi kompleks antara *adjustment*, *replacement*, dan mekanisme interaksi spesies. *Adjustment* dapat dilakukan dengan kemampuan adaptasi yang tinggi dan plastisitas, serta kemampuan untuk mentransfer materi genetik secara horizontal. *Replacement* terjadi saat tingkat penyebaran mikrobia yang tinggi (Logue *et al.*, 2015).

Penggunaan biopestisida di lingkungan memberikan pengaruh terhadap komunitas yang terdapat di habitat tersebut. Mikrobia tanah merupakan komunitas yang seringkali terdampak langsung dari penggunaan suatu biopestisida. Dampak terhadap struktur komunitas mikrobia tanah akibat penggunaan biopestisida dapat teramati berdasarkan parameter-parameter tertentu. Salah parameter yang dapat digunakan sebagai parameter dampak negatif penggunaan biopestisida adalah penurunan jumlah total bakteri yang terdapat di tanah (Schafer *et al.*, 2007). Biopestisida yang terbuat dari bahan alami seperti tanaman juga dapat menimbulkan dampak negatif, karena bahan aktif yang terkandung di dalam tanaman tersebut memiliki sifat antimikrobia. Bahan-bahan yang bersifat antimikrobia dapat menghambat pertumbuhan dan mematikan mikrobia (Hussain *et al.*, 2009).

B. Road map Penelitian

1. Kegiatan penelitian yang sudah dilakukan sebelumnya

Road map penelitian diawali dengan mencari berbagai tanaman yang mempunyai potensi sebagai biopestida. Dari berbagai tanaman tersebut kemudian diujicobakan pada organisme baik tumbuhan, jamur ataupun serangga. Mekanisme uji coba dilakukan melalui air dekomposisi, filtrat

maupun ekstrak. Selain uji coba pada organisme, dilakukan pula analisis senyawa yang terkandung pada berbagai tanaman. Penelitian tersebut adalah:

- a. Penelitian senyawa metabolit sekunder sebagai insektisida dari umbi gadung, daun sirsak, tanaman anting-anting menunjukkan kombinasi ketiganya mampu mematikan (mortalitas) *Spodoptera litura* sebesar 82,96 % (Ningsih, Yuliani, Haryono, 2012).
- b. Penggunaan Ekstrak daun Suren dan Mahoni (famili Meliaceae) menunjukkan bahwa Suren dengan konsentrasi ekstrak 10% mengakibatkan mortalitas ulat *Plutella xylostella* sebesar 85%, sedangkan mahoni dengan konsentrasi yang sama mengakibatkan mortalitas sebesar 64.17%. Hal ini menunjukkan walaupun dari famili yang sama tetapi efektifitasnya sebagai insektida berbeda (Hidayati, Yuliani, Nur K, 2013).
- c. Penggunaan ekstrak daun Suren yang diaplikasikan pada skala semi lapang (*green house*) pada tanaman sawi menunjukkan bahwa ekstrak daun suren 10 % dapat mengakibatkan kematian larva *Plutella xylostella* sebesar 86,3% dan tidak menghambat pertumbuhan tanaman sawi (Kurniawan, Yuliani, Fida R. 2013)
- d. Penggunaan filtrat umbi gadung, daun sirsak, tanaman anting-anting yang diaplikasikan pada skala lapang menunjukkan kematian *spodoptera litura* sebesar 62-84% dan tidak menghambat pertumbuhan tanaman kedelai (Hayuningtyas, Yuliani, Reni A, 2013).
- e. Penggunaan tanaman Asteraceae yaitu *Pluchea indica*, *Ageratum conyzoides* dan *Elephantopus scaber* dapat mengakibatkan mortalitas *Spodoptera* sebesar 80 – 95 %.(Yuliani, 2013).
- f. Profil protein strain-strain anggota genus *Pseudomonas* pendegradasi *Linear Alkylbenzene Sulphonate* (LAS) yang diisolasi dari daerah tercemar deterjen menunjukkan keberadaan pita protein yang menjadi indikator stress (protein HSP) (Lisdiana, 2005)
- g. **Penelitian tahun pertama (Yuliani dan Lisdiana, 2015)** menunjukkan bahwa biopestisida yang dikembangkan dari tanaman *Elephantopus scaber* (tapak liman) dan tumbuhan *Tithonia diversifolia* (paitan) efektif sebagai biopestisida. Konsentrasi 2, 4 dan 6 % dari ekstrak daun tanaman Paitan sudah dapat mengakibatkan mortalitas *S. litura* sebesar 96,67% dan mortalitas *P. xylostella* sebesar 83,33%, sedangkan ekstrak daun tanaman tapak liman sebesar 4 dan 6 % mampu secara efektif mematikan *S. litura* sebesar 90 % dan mortalitas *P. xylostella* sebesar 83,3-100%. Dampak biopestida dari ekstrak tanaman paitan dan tapak liman terhadap cacing tanah hanya mematikan cacing tanah sebesar 26,6-33,3% pada pengamatan hari ke sepuluh.

2. Kegiatan penelitian yang direncanakan dalam usulan

Dalam penelitian yang diusulkan ini akan berusaha mengelaborasi hasil kajian beberapa penelitian terdahulu yang sudah dilakukan oleh peneliti serta hasil kajian pustaka terbaru untuk mengembangkan biopestisida dari flora lokal. Selain itu, penelitian juga akan mengkaji efek biopestisida yang dikembangkan pada organisme non target yaitu hewan disekitar areal sawah dan

tanaman padi (cacing tanah) terkait dengan uji sub akut dan perubahan profil protein serta efek biopestisida terhadap mikrobia tanah sawah padi organik. Dalam penelitian ini, peneliti berpijak pada landasan teoritis dan empiris yang cukup kokoh dan mantap dibangun karena ruang lingkup penelitian peneliti dan anggota peneliti yang masih berada pada “*track record*-nya”.

3. Rencana arah penelitian setelah kegiatan yang diusulkan selesai

Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai salah satu acuan dalam pengembangan kebijakan penggunaan pestisida hayati di dalam pertanian untuk memperkecil dampak penggunaan pestisida sintetis. Mengingat keanekaragaman hayati flora di Indonesia yang sangat potensial untuk dikembangkan sebagai biopestisida.

Ke depan arah penelitian akan difokuskan pada uji skala lapang yang diterapkan pada tanaman padi organik. Selain itu dalam jangka panjang diperlukan pula kajian metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tumbuhan dalam skala kultur jaringan (biomolekular) sehingga senyawa yang berpotensi biopestisida dihasilkan dalam konsentrasi yang lebih besar dan lebih efektif. Di tahun ke lima direncanakan untuk menulis sebuah buku tentang hasil-hasil penelitian tersebut. Kajian pengembangan Biopestisida ini diharapkan akan memberikan sumbangan terhadap perkembangan Agroekosistem pada khususnya dan IPTEK pada umumnya.

BAB III

TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

A.TUJUAN PENELITIAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan biopestisida dari flora lokal yang ramah terhadap lingkungan, sehingga sawah menjadi agroekosistem yang menyehatkan petani dan meningkatkan kualitas panen padi organik. Secara khusus penelitian ini bertujuan untuk :

Tahun pertama

1. Mengidentifikasi flora lokal yang digunakan oleh petani padi organik sebagai biopestisida, dengan tujuan :
 - a. Menentukan spesies flora lokal yang digunakan sebagai biopestisida
 - b. Identifikasi hama yang menyerang padi organik
 - c. Identifikasi kearifan local petani padi organik dalam membuat biopestisida dari flora disekitar dan membuat pupuk organik.
 - d. Identifikasi bahan aktif dari flora lokal yang digunakan petani padi organik sebagai biopestisida
2. Mengembangkan biopestisida dari flora lokal dan menentukan efektivitas biopestisida dalam mengendalikan hama padi organik, yang dijabarkan sebagai berikut:
 - a. Pengembangan biopestisida dari flora lokal pada skala laboratorium.
 - b. Uji Fitokimia ekstrak tumbuhan Biopestisida
 - c. Analisis kandungan Fenol dan Flavonoid dari kedua tumbuhan yang digunakan sebagai Biopestisida
 - d. Uji efektifitas ekstrak flora lokal pada hama target
 - e. Uji subakut ekstrak flora lokal pada organisme non target
 - f. Penentuan dosis yang tepat yang bisa membunuh hama tanpa mematikan hewan non target.

Tahun kedua

1. Mendeskripsikan dampak penggunaan biopestisida terhadap perubahan profil protein organisme target
2. Mendeskripsikan dampak penggunaan biopestisida terhadap struktur komunitas mikroba tanah, yang dijabarkan sebagai berikut:
 - a. Mendeskripsikan struktur komunitas mikroba tanah sebelum penggunaan biopestisida.
 - b. mendeskripsikan dampak penggunaan biopestisida terhadap komunitas mikroba tanah dalam skala laboratorium

B.MANFAAT PENELITIAN

Kajian terhadap pengembangan biopestisida dari berbagai flora lokal merupakan kombinasi kajian dalam bidang ilmu Fisiologi tumbuhan, Ekologi, Kimia Organik (bahan alam), mikrobiologi dan bio molecular. Temuan penelitian yang berupa biopestisida diharapkan dapat memperkaya IPTEK dalam mengatasi pencemaran Agroekosistem yang diakibatkan oleh penggunaan pestisida sintetik, dan menciptakan suatu ekosistem pertanian yang seimbang dan berkelanjutan. Selain itu diharapkan dapat meningkatkan kualitas panen padi organik sehingga mendukung terciptanya produk pertanian yang beratribut aman dikonsumsi (*food safety attributes*), kandungan nutrisi tinggi (*nutritional attributes*) dan ramah lingkungan (*eco-labelling attributes*).

BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Pendekatan dan Prosedur penelitian.

Tahun pertama

1. Metode Penelitian Tahap Pertama

Penelitian ini merupakan penelitian eksplorasi yang dilakukan dengan kegiatan survey terhadap petani padi organik di Jawa timur untuk mengidentifikasi spesies flora lokal yang digunakan sebagai biopestisida. Tahapan yang dilakukan a) Melakukan pendataan petani padi organik yang terdapat di Jawa Timur, b) membuat angket untuk keperluan wawancara dengan petani padi organik, c) melakukan survei terhadap petani padi organik di Jawa Timur yang meliputi 4 daerah di Jawa Timur yaitu Malang (Ds. Sumber ngepoh Lawang dan Kepanjen), Mojokerto (Ds. Kesemen Ngoro dan Ds. Seloliman- Trawas), Jombang (Ds. Pojok kulon Kesamben dan Ds Ngagri Megaluh) dan Madiun (Ds Kaibon Geger), d) melakukan wawancara dan mengidentifikasi spesies flora lokal yang digunakan sebagai biopestisida, e) melakukan identifikasi hama target, f) Identifikasi kearifan local petani padi organik dalam membuat biopestisida dari flora disekitar dan membuat pupuk organik, g) Identifikasi bahan aktif dari flora lokal yang digunakan petani padi organik sebagai biopestisida melalui studi literature.

Dari tahap pertama ini akan ditentukan spesies tanaman dan hama target yang akan digunakan untuk penelitian tahap kedua.

2. Metode Penelitian Tahap Kedua

Pengembangan Biopestisida dari flora lokal pada skala laboratorium

Langkah penelitian pengembangan biopestisida seperti pada skema bagan alir pada gambar 1.

- 2.1. Eksplorasi flora lokal yang akan digunakan sebagai biopestisida
- 2.2. Eksplorasi hama target (2 spesies) dan organisme non target (1 spesies)
- 2.3. Pembuatan simplisia dan analisa kadar air
- 2.4. Pembuatan ekstrak dari flora lokal untuk mendapatkan biopestisida. Proses ekstraksi menggunakan modifikasi prosedur dari Dorman dan Hiltunen (2004). Tepung daun tumbuhan dimaserasi dengan petroleum eter (1:4 b/v) pada suhu kamar selama 24 jam, selanjutnya residu yang sudah dikeringkan diekstrak dengan methanol (1:15 b/v) menggunakan ekstraksi soxhlet pada suhu 65°C selama 3 jam. Pelarut methanol diuapkan/dipekatkan dibawah tekanan rendah menggunakan *rotary evaporator* untuk mendapatkan ekstrak metanol kering.
- 2.5. Uji Fitokimia tanaman tapak liman dan paitan

2.6. Analisis total fenol ditentukan berdasarkan metode Folin-ciocalteu (Singleton *et al.*, 1999; Stanojevic *et al.*, 2009) dengan menggunakan asam galat sebagai standar (konsentrasi 0,125 sampai 0,625 mg/mL). Total fenol dinyatakan ekuivalen asam galat (GAE).

2.7. Analisis total flavonoid ditentukan berdasarkan metode *aluminium chloride colorimetric* yang dijelaskan oleh Kumar *et al.* (2008), dan Wijaya *et al.* (2011), Total flavonoid dinyatakan ekuivalen quercetin (QE).

3. Metode penelitian tahap ketiga

Uji Bioaktivitas dari biopestisida terhadap organisme target dan non target

- 2.1. Uji Organisme target yaitu terhadap larva instar 2 dari *Spodoptera litura* dan *Plutela xylostella*. Konsentrasi ekstrak tumbuhan Biopestisida yang dikembangkan adalah 0% (control), 2%, 4%, 6%, 8%, 10% dan 12 %). Setiap konsentrasi dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali, dan setiap ulangan sebanyak 10 larva. Sehingga terdapat $30 \times 7 = 210$ ulat *Spodoptera litura* dan 210 ulat *Plutela xylostella* (instar dua). Larva diperoleh dari BALITAS Karangploso Malang
- 2.2. Persiapan ekstrak methanol. Ekstrak methanol diencerkan untuk mendapatkan konsentrasi yang diinginkan dengan menggunakan DMSO/dimethylsulphoxide (DMSO diencerkan terlebih dahulu sebesar 10%). Persiapan daun uji dengan menggunakan daun sawi sebagai pakan.
- 2.3. Uji Bioaktivitas dilakukan dengan cara: daun uji diletakan pada wadah, diatasnya diletakan larva instar 2. Setelah itu diberikan ekstrak methanol sebanyak 0,2 mL. Wadah ditutup dan selanjutnya dilakukan pengamatan setiap hari sampai 7 hari. Parameter yang diamati adalah mortalitas ulat. Pengamatan mortalitas dilakukan dengan interval 24 jam setelah perlakuan sampai 7 hari.
- 2.4. Uji organisme non target dilakukan pada cacing tanah dengan perlakuan pemberian ekstrak metanol tumbuhan secara berulang setiap 10 hari sekali. Konsentrasi yang digunakan adalah K0 (kontrol), 2 %, 4 % dan 6 %. (untuk konsentrasi 8-12 % tidak digunakan karena konsentrasi 6 % sudah efektif sebagai biopestisida)
- 2.5. Penentuan dosis yang tepat yang bisa membunuh hama tanpa mematikan hewan non target.

Tahun Kedua

1. Metode Penelitian Tahap ke empat Pengujian dampak penggunaan biopestisida terhadap ekosistem. Dampak penggunaan biopestisida dikaji berdasarkan dampak pada organisme target yaitu pada profil proteinnya, serta dampak pada struktur komunitas mikroba tanah.

Langkah penelitian perubahan profil protein pada organisme target adalah:

- a. Membiakkan organisme target pada skala laboratorium.

- b. Memberi perlakuan kepada organisme target yang dibiakkan pada skala laboratorium, yaitu pemaparan dengan biopestisida dari flora lokal dengan dosis dan jangka waktu tertentu (sesuai hasil penelitian tahun pertama maka konsentrasi yang digunakan adalah konsentrasi 2, 4 dan 6 % dari ekstrak daun tanaman Paitan sedangkan ekstrak daun tanaman tapak liman konsentrasinya sebesar 4 dan 6 %). Organisme target yang digunakan sebagai kontrol, tidak dipapar dengan biopestisida.
- c. Melakukan isolasi protein total dari organisme target yang telah dipapar dengan biopestisida dan kontrol. Protein total yang diperoleh selanjutnya divisualisasi melalui elektroforesis gel poliakrilamid. Dampak penggunaan biopestisida diketahui dengan membandingkan pola pita protein organisme target dan kontrol dengan yang telah dipapar biopestisida. Parameter yang diamati pada pengujian ini adalah keberadaan pita protein yang berbeda pada organisme target yang dipapar dengan biopestisida. Pita tersebut merupakan representasi stres yang dialami oleh organisme target.

Prosedur kerja secara rinci adalah sebagai berikut:

1) Pembuatan Kurva Kalibrasi Protein

Larutan standar yang digunakan dalam pembuatan kurva kalibrasi protein adalah larutan BSA. Sebanyak 0,005 g BSA ditambahkan aquades steril sampai volumenya mencapai 5ml, sehingga larutan BSA yang terbentuk adalah BSA 1 mg/ml. Dari larutan BSA tersebut kemudian dibuat larutan standar BSA dengan konsentrasi 0%, 20%, 40%, 60%, dan 80% dengan pelarut NaCl 0,9%. Masing-masing larutan standar tersebut ditambahkan dengan biuret sebanyak 3 ml, kemudian diinkubasi pada suhu 37° C selama 30 menit. Setelah 30 menit, larutan tersebut diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 550 nm. Nilai absorbansi yang diperoleh digunakan untuk menyusun kurva kalibrasi. Nilai absorbansi sebagai nilai Y, sedangkan konsentrasi larutan BSA sebagai nilai X.

2) Ekstraksi Protein

Sampel ulat dicuci dengan 2 ml PBS lalu digerus sampai halus dengan menggunakan mortar dan alu yang telah disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121° C selama 15 menit dan sudah didinginkan dengan diletakkan di dalam bak es. Serbuk yang dihasilkan selanjutnya ditambahkan dengan buffer ekstrak sebanyak 1-2 ml lalu dihomogenkan. Homogenat disaring dengan kertas saring whatman no.1 dan dituang dalam tabung sentrifugasi 1,5 ml. Homogenat selanjutnya disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm pada suhu 4°C selama 20 menit. Supernatan dipisahkan dari pellet. Supernatan diambil menggunakan mikropipet. Supernatan yang diperoleh kemudian ditambahkan dengan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ jenuh sebanyak setengah dari volume supernatant ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ jenuh: supernatant = 1:2). Setelah ditambahkan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ jenuh kemudian ditunggu selama sepuluh menit pada suhu ruang,

kemudian disentrifugasi kembali dengan kecepatan 10.000 g selama 10 menit pada suhu 4° C. Supernatant hasil sentrifugasi dibuang (yang diambil pelletnya). Pellet kemudian ditambahkan dengan PBS sebanyak 40 µl. Sampel kemudian didiamkan dalam kulkas selama 24 jam.

3) Pengukuran Konsentrasi Protein pada Sampel Ulat *S. litura* dan *P. xylostela*

Setelah sampel protein didiamkan selama 24 jam dalam kulkas, sebanyak 10 µl sampel diambil dan dimasukkan dalam tabung vial steril. Sampel tersebut ditambahkan NaCl 0,9% sebanyak 990 µl dan biuret sebanyak 3 ml, kemudian diinkubasi pada suhu 37° C selama 30 menit. Setelah diinkubasi selama 30 menit, sampel protein dispektrofotometri pada panjang gelombang 550 nm dengan menggunakan larutan NaCl 0,9% sebagai larutan blanko. Hasil spektrofotometri berupa nilai absorbansi. Nilai absorbansi digunakan untuk menghitung konsentrasi protein pada sampel dengan memasukkan nilai absorbansi sebagai nilai Y pada rumus regresi yang diperoleh pada kurva kalibrasi.

4) Denaturasi Gel Elektroforesis

Analisis profil protein dilakukan dengan elektroforesis metode SDS-PAGE (*Sodium Dodecyl Sulfate – Polyacrylamide Gel Electrophoresis*). Proses elektroforesis dimulai dengan pembuatan beberapa larutan, yaitu larutan buffer, *separating gel* 10%, *stacking gel* 3,9%, dan pewarna *Coomassie blue*. Setelah semua larutan siap, maka selanjutnya dilakukan perangkaian perangkat elektroforesis. *Separating gel* diletakkan di *plate* melalui salah satu tepi *spacer* sampai ketebalan mencapai 11 cm. Pada bagian atas *separating gel* di lapisi dengan larutan H₂O-saturated isoamyl alkohol setebal 1 cm, kemudian dibiarkan berpolimerisasi selama 30-60 menit pada temperatur ruang. Larutan H₂O-saturated isoamyl alkohol dibuang kemudian dibilas dengan 1x Tris-Cl/SDS. pH 8,8. Larutan *stacking gel* dituangkan pada *plate* melalui salah satu tepi *spacer* hingga mencapai ketebalan 1 cm, lalu masukkan *Teflon comb* 0,75 mm. Larutan *stacking gel* dibiarkan berpolimerisasi selama 30-45 menit pada temperatur ruang. *Teflon comb* diambil setelah gel memadat lalu sumuran dibasuh dengan buffer 1x SDS elektroforesis. Gel yang telah siap selanjutnya dimasukkan dalam *chamber* elektroforesis. *Chamber* bagian bawah dan atas diisi dengan buffer 1xSDS elektroforesis. *Chamber* elektroforesis yang sudah siap bisa digunakan untuk pengujian sampel protein.

Sebelum dilakukan pengujian, sampel protein dilarutkan dengan 6x SDS sample buffer dengan perbandingan 5:1. Protein-molecular-weight dilarutkan dalam 1x SDS sample buffer. Protein-molecular-weight selanjutnya dimasukkan dalam sumuran sebagai kontrol. Sampel protein lalu dimasukkan dalam sumuran sebanyak 25µl/sumuran. Perangkat elektroforesis

dihubungkan dengan pengantar arus listrik 10 mA sampai bromophenol blue *tracking dye* mencapai *separating gel* lalu daya dinaikkan menjadi 15 mA. Elektroforesis dihentikan saat bromophenol blue *tracking dye* mencapai dasar *separating gel*. Gel dikeluarkan dari *lower plate* lalu diwarnai dengan pewarna *Coomassie blue* (Gallagher, 1999).

Gel polyacrylamide ditempatkan di *plastic container* dan ditutup dengan 3 vol larutan fiksasi kemudian digoyangkan secara perlahan dengan *orbital shaker* selama 2 jam pada temperatur ruang lalu larutan fiksasi dibuang. Permukaan gel ditutup dengan pewarna *Coomassie blue* selama 4 jam dan digoyang secara perlahan. Larutan pewarna dibuang lalu dibilas dengan ± 50 ml larutan fiksasi. Larutan fiksasi selanjutnya dibuang dan pada permukaan gel dilapisi dengan methanol/acetic acid (larutan destaining) selama 2 jam dan goyang secara perlahan. Larutan destaining dibuang lalu ditambahkan dengan larutan methanol/acetic acid. Proses destaining dilakukan secara berulang sampai *blue bands* dan warna background bersih. Gel selanjutnya disimpan dalam asam asetat 7% lalu difoto (Sasse dan Gallagher, 2003).

5) Identifikasi Profil Protein

Profil protein yang diamati meliputi berat molekul (BM), kehadiran pita protein, tebal tipis pita protein dan jumlah jumlah protein yang terbentuk. Perbedaan respon tanaman ditetapkan berdasarkan protein lain yang terbentuk yang tidak dimiliki oleh kontrol.

2. Metode penelitian tahap ke lima. Langkah penelitian dampak penggunaan biopestisida terhadap struktur komunitas mikroba tanah dijabarkan sebagai berikut :

- 1) **Sterilisasi Alat dan Bahan.** Peralatan yang akan digunakan dalam penelitian disterilkan terlebih dahulu. Sterilisasi yang digunakan ada 2 macam, yaitu sterilisasi kering dan sterilisasi basah.
- 2) **Pembuatan medium NA (*nutrient agar*)** menurut Fitriarni (2014) yaitu dengan melarutkan 24 gram media *nutrient broth* (NB) kedalam 3000 ml akuades. Larutan kemudian ditambah dengan 45 gram agar batang, kemudian dipanaskan hingga agar homogen dan larut. Media selanjutnya dimasukkan kedalam erlenmeyer dan tabung reaksi, kemudian ditutup rapat menggunakan kapas dan disterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C, tekanan 1 atm selama 15 menit.
- 3) **Pengenceran ekstrak daun tapak liman dan paitan**
- 4) **Pengambilan sampel tanah.** Sampel tanah yang digunakan diambil dari sawah padi organik di daerah Lawang, Malang. Pengambilan sampel tanah dilakukan pada lahan pertanian. Sampel tanah diambil dari 5 titik pengambilan yang kemudian dikompositkan menjadi satu. Sampel tanah diambil dari kedalaman 5 cm. Tanah selanjutnya dimasukkan

ke dalam plastik steril dan dibawa ke Laboratorium Mikrobiologi Universitas Negeri Surabaya.

- 5) **Pengujian ekstrak** (Menumbuhkan isolat-isolat bakteri yang diperoleh dari tahap isolasi pada media pertumbuhan yang telah diperkaya dengan biopestisida pada dosis tertentu. Pada tahap ini diamati dampak biopestisida pada pertumbuhan setiap isolat bakteri). Prosedurnya adalah:
 - a. Mengambil sampel tanah sebanyak 5 gram kemudian memasukkannya ke dalam Erlenmeyer berisi 45 ml akuades murni. Larutan dihomogenkan dengan menggunakan *vortex* dan didapatkan suspensi larutan. Suspensi tersebut selanjutnya dilakukan pengenceran dari 10^{-1} sampai 10^{-7} .
 - b. Pengenceran dilakukan dengan cara mengambil 1 ml suspensi larutan tanah kemudian dimasukkan ke dalam 9 ml akuades steril lalu dihomogenkan. Suspensi tersebut menjadi pengenceran 10^{-1} . Suspensi pada pengenceran 10^{-1} diambil sebanyak 1 ml lalu dimasukkan ke dalam 9 ml akuades steril. Suspensi tersebut merupakan pengenceran 10^{-2} . Suspensi pada pengenceran 10^{-2} diambil sebanyak 1 ml lalu dimasukkan ke dalam 9 ml akuades steril. Suspensi tersebut merupakan pengenceran 10^{-3} . Suspensi pada pengenceran 10^{-3} diambil sebanyak 1 ml lalu dimasukkan ke dalam 9 ml akuades steril. Suspensi tersebut merupakan pengenceran 10^{-4} . Suspensi pada pengenceran 10^{-4} diambil sebanyak 1 ml lalu dimasukkan ke dalam 9 ml akuades steril. Suspensi tersebut merupakan pengenceran 10^{-5} . Suspensi pada pengenceran 10^{-5} diambil sebanyak 1 ml lalu dimasukkan ke dalam 9 ml akuades steril. Suspensi tersebut merupakan pengenceran 10^{-6} . Suspensi pada pengenceran 10^{-6} diambil sebanyak 1 ml lalu dimasukkan ke dalam 9 ml akuades steril. Suspensi tersebut merupakan pengenceran 10^{-7} .
 - c. Setiap pengenceran dilakukan *pour plate* secara duplo pada media yang mengandung ekstrak dengan waktu inkubasi selama 24 jam pada suhu 30°C .
 - d. Setelah waktu inkubasi selesai, dilakukan pengamatan total mikrobial yang tumbuh, jumlah koloni yang berbeda, dan macam-macam koloni yang tumbuh pada media. (struktur awal komunitas mikroba tanah dan struktur komunitas mikroba setelah perlakuan).
- 6) Melakukan penghitungan jumlah bakteri pada media pertumbuhan tanpa penambahan biopestisida dan pada media pertumbuhan dengan penambahan biopestisida. Tahap ini dilakukan untuk mengetahui dampak biopestisida terhadap penurunan jumlah bakteri dari habitat target.

B. Rancangan Penelitian Biopestisida

Penelitian uji Bioaktivitas pada tahun pertama merupakan eksperimen dengan menggunakan

Rancangan Acak Lengkap. Percobaan ini dilakukan untuk menentukan konsentrasi yang tepat pada masing-masing biopestisida flora lokal yang digunakan untuk masing-masing hama target. Pada tahap ini, variable manipulasi adalah konsentrasi, jenis flora dan organisme (hama target), sedangkan variable respon adalah mortalitas dari organisme uji.

Penelitian pada tahun kedua adalah penelitian eksplorasi, yaitu dengan melakukan observasi terhadap perubahan profil protein dan struktur komunitas mikroba.

C. Analisis Data

Data perubahan profil protein dan data struktur komunitas mikroba akan dianalisis dengan menggunakan analisis deskriptif.

D. Luaran yang diinginkan:

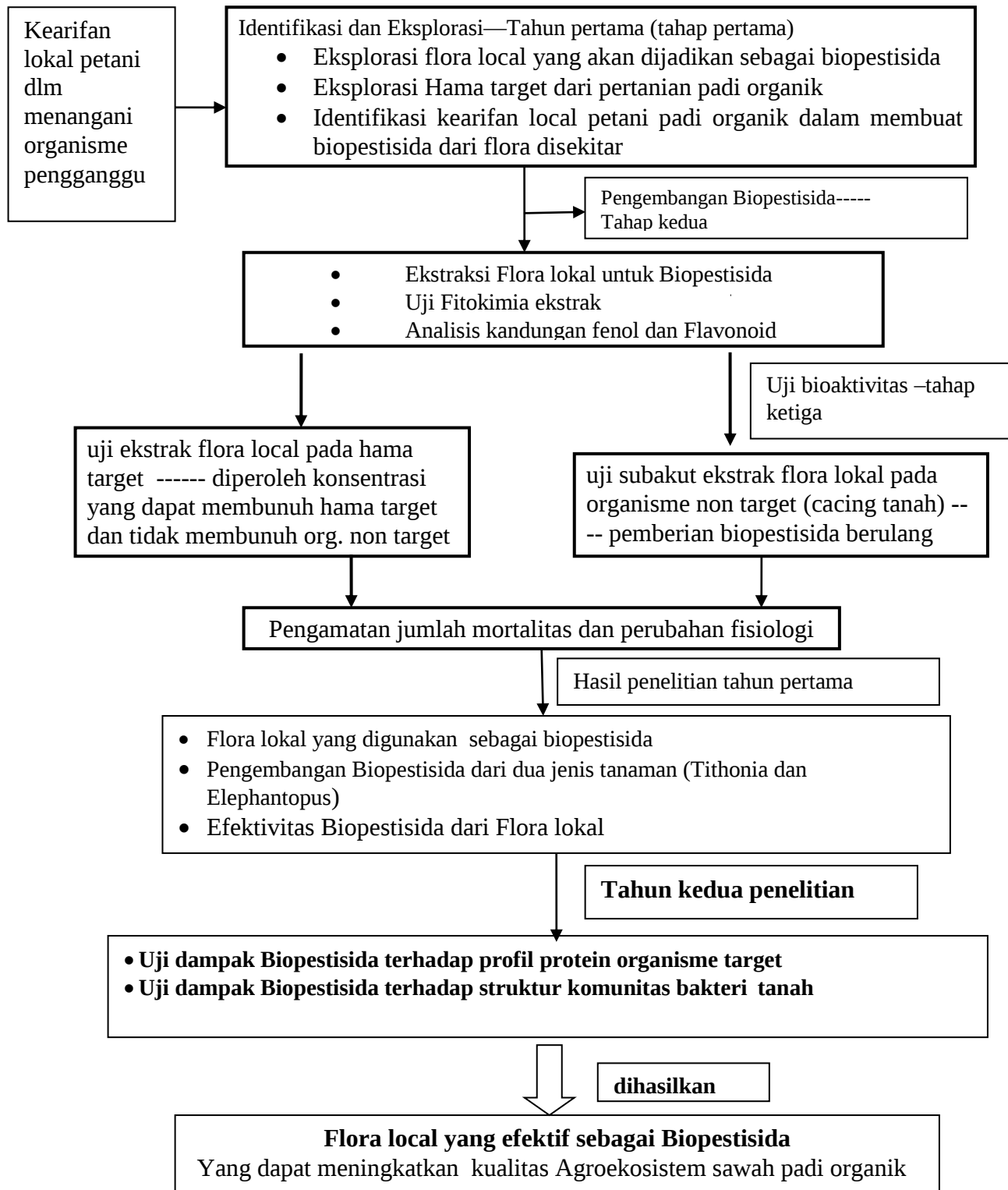
Tahun pertama:

1. Data Flora lokal yang digunakan oleh petani organik sebagai biopestisida
2. Pengembangan Biopestisida dari flora lokal yang sudah ditentukan
3. Efektivitas biopestisida yang dikembangkan melalui uji coba pada organisme target dan non target
4. Penentuan konsentrasi Biopestisida yang tepat
5. Publikasi dalam seminar nasional/internasional dan jurnal internasional *Physiologi Plantarum* atau *journal of Biopesticides*

Tahun kedua

1. Data profil protein dari organisme target
2. Data efek biopestisida terhadap struktur komunitas mikroba/bakteri tanah pada media tanam
3. Tervalidasinya keamanan biopestisida untuk diterapkan di lingkungan yang dikaji berdasarkan dampak pada profil protein organisme target dan non target serta dampak pada perubahan struktur komunitas mikroba tanah.
4. Publikasi dalam jurnal Internasional : *Australian Journal of basic and Applies Sciences*.

E. Bagan Alir Penelitian



Gambar 1. Diagram alir penelitian

BAB V

HASIL DAN LUARAN YANG DICAPAI

A. Penentuan Profil Protein dari *Spodoptera litura* dan *Plutella xylostella*

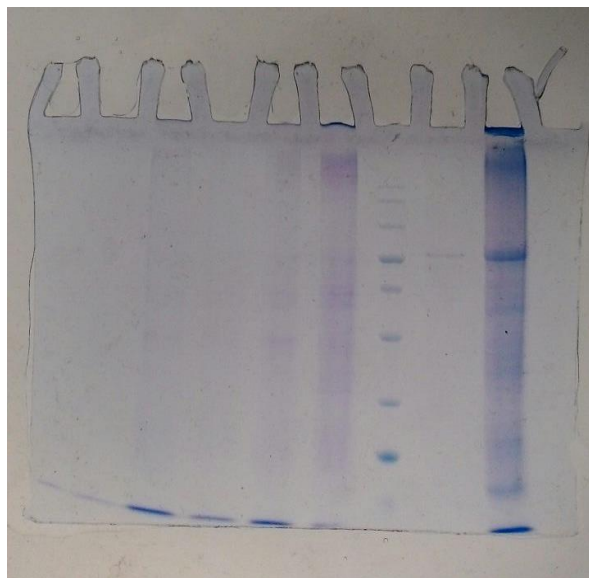
1. Tahap Pertama

Isolasi protein dari ulat *Spodoptera litura* dan *Plutella xylostella* dilakukan dengan memberi perlakuan terlebih dahulu pada setiap sampel ulat. Masing-masing ulat diberi pakan sawi yang telah dipapar dengan ekstrak Tapak Liman 4%, dan 6% serta ekstrak Paitan 2%, 4%, dan 6%. Ulat *S. litura* yang dipapar ekstrak tanaman tapak liman 4% dan 6% seluruhnya mati pada hari ke-3 pengamatan, sedangkan ulat *S. litura* yang dipapar ekstrak paitan 2% seluruhnya mati pada hari ke-4, dan ulat *S. litura* yang dipapar ekstrak paitan 4% dan 6% seluruhnya mati pada hari ke-2 pengamatan. Ulat *P. xylostella* yang dipapar ekstrak tanaman tapak liman 4% dan 6% seluruhnya mati pada hari ke-2 pengamatan, sedangkan ulat *P. xylostella* yang dipapar ekstrak paitan 2% seluruhnya mati pada hari ke-1 pengamatan, dan ulat *P. xylostella* yang dipapar ekstrak paitan 4% dan 6% seluruhnya mati pada hari ke-2 pengamatan. Ulat yang mati selanjutnya diekstrak proteinnya, kemudian diukur konsentrasi protein dari masing-masing sampel. Tabel 1 menunjukkan nilai absorbansi dan nilai konsentrasi dari masing-masing sampel.

Tabel 1. Nilai absorbansi dan nilai konsentrasi protein pada sampel ulat *S. litura* dan *P. xylostella*.

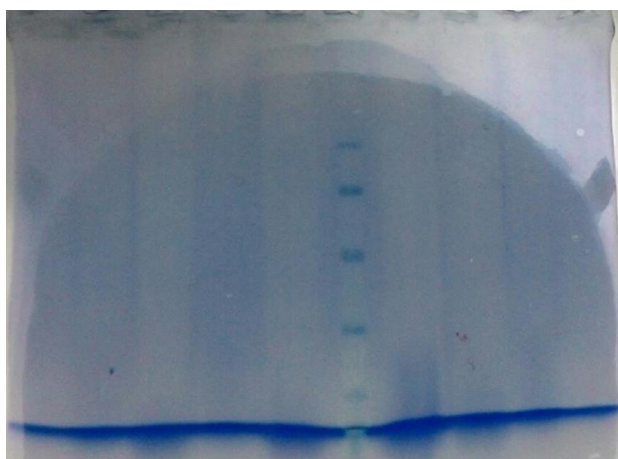
Jenis Ulat	Perlakuan	Absorbansi (A)	Konsentrasi protein (%)
<i>Spodeptera litura</i>	K	0,081	65,61
	T 4%	0,048	7,72
	T 6%	0,048	7,72
	P 2%	0,043	-1,05
	P 4%	0,031	-2,11
	P 6%	0,042	-2,81
<i>Plutella xylostella</i>	K	0,027	-29,12
	T 4%	0,029	-25,61
	T 6%	0,032	-20,35
	P 2%	0,032	-20,35
	P 4%	0,034	-16,84
	P 6%	0,034	-16,84

Selain dihitung konsentrasi protein dari masing-masing sampel, diukur pula berat profil protein dengan cara elektroforesis. Hasil elektroforesis dapat dilihat pada Gambar 1.

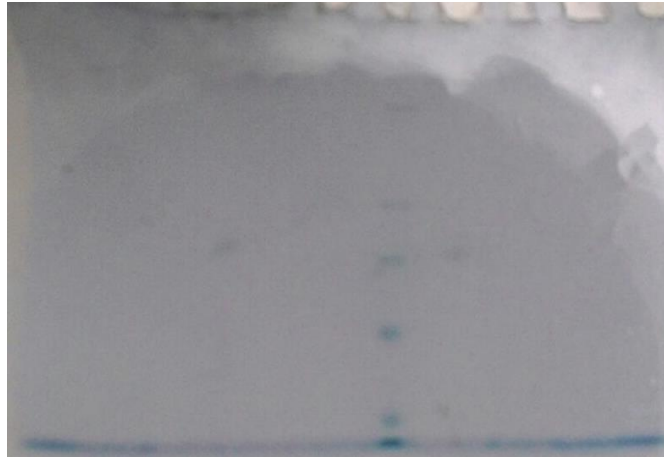


Gambar 1. Gel hasil elektroforesis (dari kiri sampel *Spodoptera litura* perlakuan paitan 6%, tapak liman 6%, tapak liman 4%, paitan 2%, paitan 4%, kontrol; marker; kemudian perlakuan pada sampel *Plutella xylostella* perlakuan kontrol dan tapak liman 6%).

Pada elektroforesis tahap pertama hanya dua sampel protein dari *P. xylostella* yang dielektroforeis, hal tersebut dikarenakan ulat *P. xylostella* sukar diperoleh sehingga perlakuan yang diberikan tidak diberikan secara bersamaan, namun bertahap bergantung pada jumlah ulat *P. xylostella* yang tersedia. Pada elektroforesis pertama ini gel hancur ketika difoto menggunakan UV transluminator sebelum dihitung *retention factor* (Rf) untuk mencari berat molekul protein, sehingga berat molekul masing-masing pita protein yang terbentuk tidak bisa dihitung, maka perlu dilakukan elektroforesis kembali. Hasil elektroforesis yang kedua ditunjukkan pada Gambar 2 dan Gambar 3.



Gambar 2. Hasil elektroforesis kedua pada sampel protein ulat *S. litura*.



Gambar 3. Hasil elektroforesis kedua pada sampel protein ulat *P. xylostella*.

Setelah dilakukan dua kali elektroforesis, sampel protein ulat *S. litura* dan *P. xylostella* habis, sehingga harus dilakukan pemeliharaan dan pemberian perlakuan pada ulat *S. litura* dan *P. xylostella*.

2. Tahap Kedua

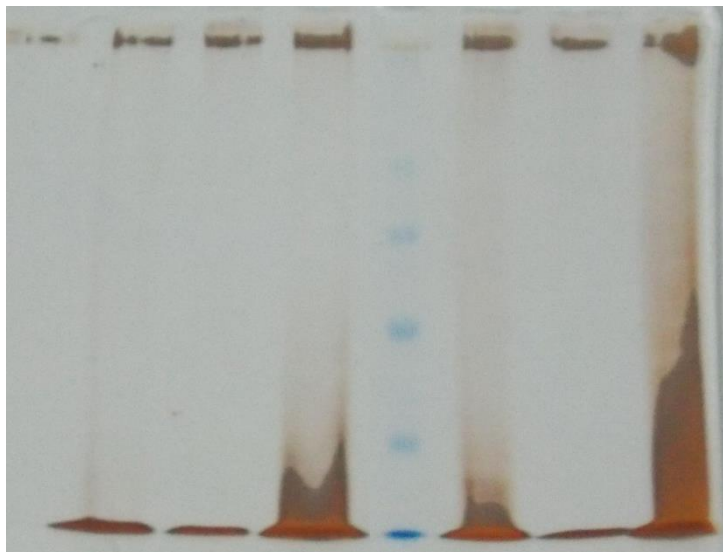
Penentuan profil protein pada ulat *Spodoptera litura* dan *Plutella xylostella* diawali dengan pemeliharaan ulat *S. litura* dan *P. xylostella* yang telah diberi perlakuan berupa pemberian pakan sawi yang telah diberi ekstrak Paitan dan Tapak Liman. Ekstrak Paitan yang diberikan memiliki konsentrasi 2%, 4%, dan 6%, sedangkan ekstrak Tapak Liman yang diberikan memiliki konsentrasi sebesar 4% dan 6%. Pada penelitian ini terdapat ulat *P. xylostella* dan *S. litura* yang dijadikan kontrol. Ulat *S. litura* kontrol seluruhnya mati setelah tujuh hari pengamatan, sedangkan ulat *S. litura* yang diberi perlakuan berupa ekstrak Tapak Liman 4%, Tapak Liman 6%, Paitan 2%, Paitan 4%, dan Paitan 6%, seluruhnya mati pada hari ke-3 pengamatan. Pada ulat *P. xylostella* kontrol dan *P. xylostella* yang diberi perlakuan ekstrak Tapak Liman dan Paitan seluruhnya mati pada hari ketiga pengamatan. Ulat *S. litura* yang mati memiliki ciri-ciri tubuh lunak, berwarna kehitaman, jika diambil menggunakan kuas tubuh ulat akan mengeluarkan cairan berwarna hijau dan terlihat berlendir. Ulat *P. xylostella* yang mati memiliki ciri-ciri tubuh lunak, berwarna kuning kecoklatan.

Ulat yang mati selanjutnya diekstrak proteinnya, kemudian diukur konsentrasi protein dari masing-masing sampel. Tabel 2 menunjukkan nilai absorbansi dan nilai konsentrasi dari masing-masing sampel.

Tabel 2. Nilai absorbansi dan konsentrasi protein pada sampel ulat *S. litura* dan *P. xylostella*.

Ulat	Perlakuan	Absorbansi (A)	Konsentrasi (mg/μl)
<i>Spodoptera litura</i>	K	0,074	0,0001065574
	P2%	0,078	0,0001721311
	P4%	0,066	-0,0000245902
	P6%	0,068	0,0000081967
	T4%	0,073	0,0000901639
	T6%	0,070	0,0000409836
<i>Plutella xylostella</i>	K%	0,068	0,0000081967
	P2%	0,073	0,0000901639
	P4%	0,080	0,0002049180
	P6%	0,071	0,0000573770
	T6%	0,067	-0,0000081967
	T4%	0,076	0,0001393443

Setelah diketahui konsentrasi protein pada masing-masing sampel maka sampel protein tersebut akan dielektroforesis untuk mengetahui berat molekul (bm) dari masing-masing protein. Pada elektroforesis kali ini, pewarnaan yang digunakan pada kedua sampel adalah *silver stain*. Pada elektroforesis tahap kedua juga dilakukan pemekatan pada sampel *S.litura* untuk memaksimalkan pembentukan pita protein karena konsentrasi protein pada masing-masing sampel yang cukup kecil. Hasil elektroforesis tahap dua pada sampel protein ulat *S. litura* ditunjukkan pada gambar 4.

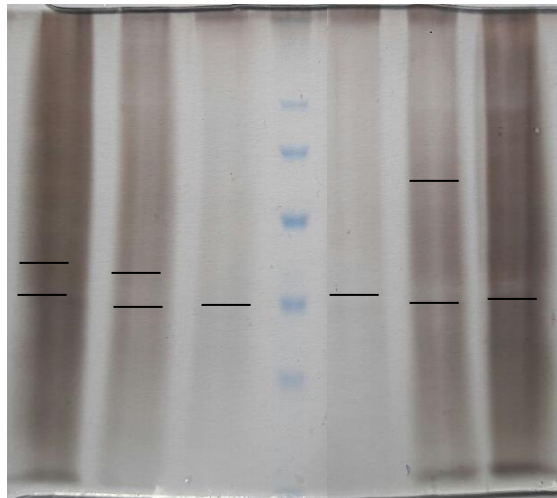


Gambar 4. Hasil elektroforesis sampel protein ulat *S. litura*. Dari kiri ke kanan sampel protein ulat perlakuan Tapak Liman 4%; Tapak Liman 6%; Kontrol; Marker; Paitan 4%; Paitan 6%; Paitan 2%

Hasil elektroforesis tahap dua pada sampel protein ulat *S. litura* tidak menunjukkan adanya pita protein. Namun terdapat blok warna coklat pada sampel protein *S. litura* perlakuan kontrol, Paitan 4% dan Paitan 2% menunjukkan bahwa pada sampel tersebut terdapat protein, hanya saja konsentrasinya yang terlalu kecil sehingga tidak terbaca.

Pada elektroforesis tahap kedua sampel protein *P. xylostella* juga dilakukan pemekatan serta pemanasan untuk mengeluarkan protein yang mungkin masih berada di dalam sel sehingga belum

larut dalam buffer. Hasil elektroforesis tahap kedua pada sampel prortein ulat *P. xylostella* ditunjukkan pada Gambar 5.



Gambar 5. Hasil elektroforesis sampel protein ulat *P. xylostella*.
Dari kiri ke kanan sampel protein ulat perlakuan Paitan 6%; Paitan 2%; Paitan 4%;
Marker; Kontrol; Tapak Liman 6%; Tapak Liman 4%.

Hasil elektroforesis menunjukkan bahwa hanya sedikit pita protein yang terbentuk. Hal tersebut dapat terjadi karena konsentrasi protein pada masing-masing sampel yang sangat kecil. Pada sampel protein *P. xylostella* dapat dilihat beberapa pita protein. Berdasarkan pita protein yang terbentuk dapat diketahui berat molekul protein yang terdapat pada sampel protein. Berat molekul protein yang terdapat pada sampel *P. xylostella* ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 3. Berat molekul protein yang terdapat pada sampel *P. Xylostella*

Sampel	Pita ke-	a	b	Rf	BM (kDa)
K	1	3,45	5,65	0,610619	21,68676
P2	1	3,1	5,65	0,548673	26,61495
	2	3,5	5,65	0,619469	21,06155
P4	1	3,5	5,65	0,619469	21,06155
P6	1	2,8	5,65	0,495575	31,72139
	2	3,45	5,65	0,610619	21,68676
T4	1	3,35	5,65	0,59292	22,99342
T6	1	2,1	5,65	0,371681	47,77648
	2	3,45	5,65	0,610619	21,68676

Keterangan:

a: Jarak pergerakan pita protein dari tempat awal.

b: Jarak pergerakan warna pelacak dari tempat awal.

Berdasarkan data yang diperoleh (dari spektrofotometer) pada tabel 1 maka dibuat tabel yang membandingkan perhitungan konsentrasi protein dari *S. litura* dan *Plutella* setelah diperlakukan oleh ekstrak kedua tanaman.

Tabel 4. Konsentrasi protein kedua ulat setelah perlakuan

Jenis Ulat	Konsentrasi protein (%)					
	Kontrol	E.scaber (tapak liman)		Tithonia diversifolia (paitan)		
<i>Spodeptera litura</i>	65,61%	T 4%	T 6%	P 2%	P 4%	P 6%
		7,72	7,72	1,05	2,11	2,81
<i>Plutella xylostella</i>	29,12	25,61	20,35	20,35	16,84	16,84

Berdasarkan tabel 3 terlihat ada penurunan konsentrasi protein dari kontrol ke perlakuan. Perlakuan dengan ekstrak paitan memberikan penurunan protein yang lebih besar baik pada ulat *spodoptera* maupun *plutela*. Semakin tinggi konsentrasi yang diberikan maka penurunannya juga semakin besar.

Tabel 5. Persentase Penurunan Konsentrasi protein kedua ulat setelah perlakuan

Jenis Ulat	Konsentrasi protein (%) pada Ulat setelah diperlakukan dengan					
	Kontrol	E.scaber (tapak liman)		Tithonia diversifolia (paitan)		
<i>Spodeptera litura</i>	65,61%	T 4%	T 6%	P 2%	P 4%	P 6%
		88,2%	88,2%	98,39%	96,78%	95,71%
<i>Plutella xylostella</i>	29,12	12 %	30,11%	30,11%	42,11%	42,11%

Tabel 5 menunjukkan bahwa:

- Ada penurunan kandungan protein pada kedua ulat yang diperlakukan dengan ekstrak kedua tanaman, hal ini bisa dilihat pada kolom kontrol dan konsentrasi protein ulat setelah diperlakukan ekstrak kedua tanaman.
- Penurunan kandungan protein pada *Spodoptera litura* lebih besar dibandingkan dengan *Plutella xylostella*

- c. Ekstrak tanaman *Thitonia diversifolia* memberikan penurunan kandungan protein pada ulat yang lebih besar bila dibandingkan dengan Ekstrak tanaman *E.scaber*
- d. Semakin besar konsentrasi ekstrak tanaman maka penurunan protein semakin besar

Untuk data yang menunjukkan pita profil protein akan tetap dilakukan pengulangan analisis, walaupun penelitian fundamental ini sudah berakhir. Analisis yang dilakukan akan memperbaiki metode yang ada sehingga data yang diperoleh akan semakin valid.

B. Struktur Komunitas Mikroba

Struktur komunitas mikrobia tanah dapat dilihat dari jumlah dan keanekaragaman mikrobia dalam tanah. Jumlah mikrobia tanah pada tanah yang diberikan perlakuan pemberian biopestisida dapat dilihat pada tabel 6. Biopestisida yang diberikan adalah ekstrak tapak liman dengan konsentrasi 4% dan 6% serta ekstrak paitan dengan konsentrasi 2%, 4%, dan 6%.

Tabel 6. Jumlah mikrobia pada tanah pertanian organik yang diberi perlakuan pemberian biopestisida

Perlakuan	Jumlah mikrobia(cfu)		Rata-rata
	Pengulangan 1	Pengulangan 2	
kontrol (kondisi tanah awal)	$7,0 \times 10^5$	$3,51 \times 10^4$	$7,35 \times 10^5$
TL 4%	$8,3 \times 10^3$	$3,9 \times 10^3$	$6,1 \times 10^3$
TL 6%	$4,65 \times 10^4$	$1,55 \times 10^4$	$3,1 \times 10^4$
P 2%	$7,6 \times 10^4$	$7,23 \times 10^4$	$7,42 \times 10^4$
P 4%	$7,6 \times 10^4$	$7,45 \times 10^3$	$4,17 \times 10^4$
P 6%	$2,86 \times 10^4$	$1,57 \times 10^4$	$2,22 \times 10^4$

Keterangan:

TL: ekstrak tapak liman

P : ekstrak paitan

Cfu : colony forming unit

Berdasarkan tabel 6 diketahui bahwa pemberian biopestisida memberikan dampak pada jumlah komunitas mikroba tanah. Pemberian biopestisida pada tanah pertanian organik menunjukkan adanya penurunan jumlah mikrobia tanah. Kondisi awal struktur mikroba tanah (kontrol) memiliki jumlah mikroba sebesar $7,35 \times 10^5$. Pemberian biopestisida ekstrak tapak liman konsentrasi 4% menurunkan jumlah mikrobia tanah menjadi $6,1 \times 10^3$. Pemberian biopestisida ekstrak tapak liman konsentrasi 6% menurunkan jumlah mikrobia tanah menjadi $3,1 \times 10^4$. Pemberian biopestisida ekstrak paitan juga menurunkan jumlah mikrobia tanah menjadi $7,42 \times 10^4$ pada konsentrasi 2%, $4,17 \times 10^4$ pada konsentrasi 4%, $2,22 \times 10^4$ dan pada konsentrasi 6%.

Struktur komunitas mikrobia tanah juga dapat terlihat dari keanekaragaman mikrobia dalam tanah. Keanekaragaman mikrobia pada tanah pertanian organik sebelum diberi biopestisida tersaji dalam Tabel 7.

Tabel 7. Keanekaragaman mikrobia tanah pertanian organik sebelum diberi perlakuan biopestisida

Isolat	Ciri Morfologi Koloni Bakteri						Gambar
	Bentuk	Elevasi	Tepi	Warna	Optik	Permukaan	
Isolat 1	iregular	raised	undulate	puih	opaque	halus	
Isolat 2	circular	convex	entire	putih kekuningan	opaque	halus	
Isolat 3	spindle	Flat	entire	putih kekuningan	opaque	halus	
Isolat 4	filamentous	raised	filamentous	putih	opaque	halus	
Isolat 5	circular	convex	entire	putih	translucent	halus	
Isolat 6	circular	convex	entire	kuning	opaque	halus	
Isolat 7	irregular	Flat	lobate	putih	translucent	halus	
Isolat 8	irregular	raised	lobate	putih	opaque	halus	
Isolat 9	irregular	Flat	undulate	putih	translucent	halus	
Isolat 10	circular	Flat	entire	putih	translucent	halus	
Isolat 11	filamentous	raised	filamentous	putih	opaque	halus	
Isolat 12	circular	convex	entire	putih	opaque	halus	

Tabel 7. menunjukkan keanekaragaman mikrobia dalam tanah pertanian organik sebelum diberi biopestisida. Tabel tersebut menunjukkan bahwa ada 12 jenis bakteri yang hidup dalam sampel tanah pertanian organik. Keanekaragaman mikroba pada tanah pertanian organik adalah tinggi karena tanah kaya akan bahan organik yang digunakan mikroba sebagai sumber energi.

Keanekaragaman mikroba tanah yang diberi perlakuan biopestisida mengalami perubahan. Hasil pengamatan keanekaragaman mikroba tanah yang diberikan perlakuan biopestisida disajikan pada Tabel 8.

Tabel 8. Keanekaragaman mikrobia tanah pertanian organik sesudah diberi perlakuan biopestisida dari ekstrak tapak liman dan paitan

No.	Isolat	Keberadaan Mikrobia					
		Kontrol	TL 4%	TL 6%	P2%	P4%	P6%
1	Isolat 1	+	—	+	+	—	—
2	Isolat 2	+	+	+	+	+	+
3	Isolat 3	+	+	+	+	+	+
4	Isolat 4	+	—	—	—	—	—
5	Isolat 5	+	—	+	+	—	—
6	Isolat 6	+	+	—	+	+	—
7	Isolat 7	+	—	—	—	+	—
8	Isolat 8	+	—	—	—	—	—
9	Isolat 9	+	+	+	+	+	+
10	Isolat 10	+	+	+	+	+	—
11	Isolat 11	+	+	—	—	—	—
12	Isolat 12	+	+	+	+	+	+

Keterangan:

Tanda + : menunjukkan adanya keberadaan mikrobia

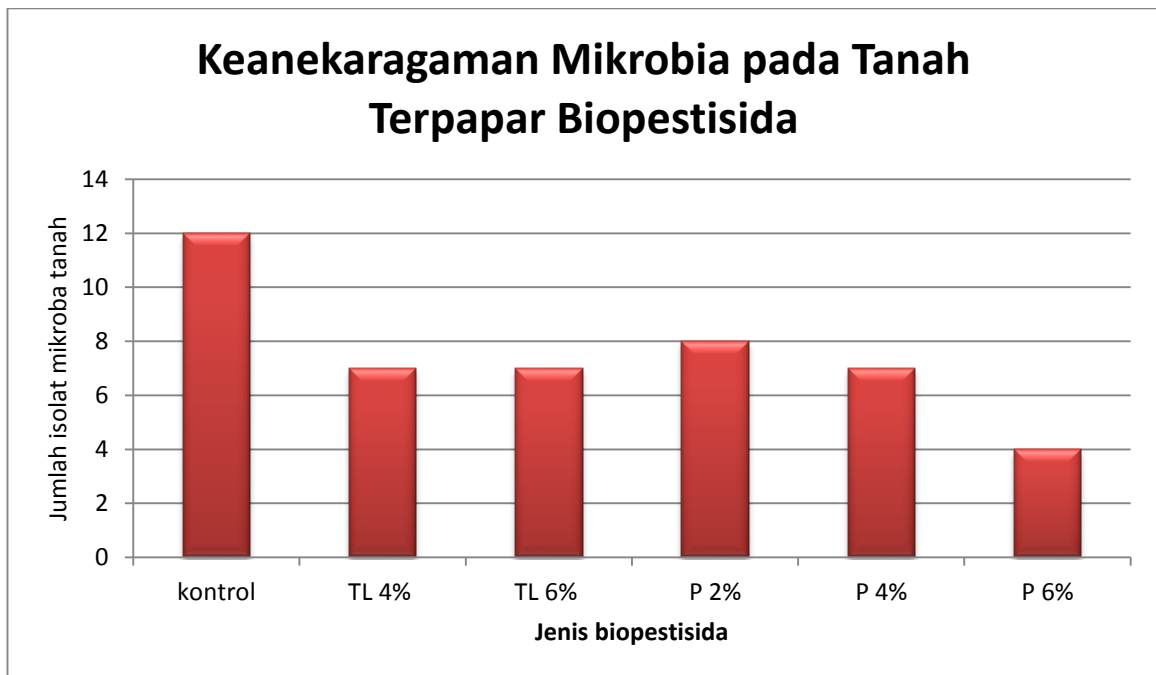
Tanda — : menunjukkan tidak adanya keberadaan mikroba

TL = Ekstrak Tapak liman

P = Paitan

Berdasarkan Tabel 8 menunjukkan keberadaan mikrobia tanah pada perlakuan pemberian biopestisida. Kondisi awal (kontrol) menunjukkan isolat bakteri yang hidup dalam sampel tanah adalah sebanyak 12 isolat. Pemberian ekstrak tapak liman dengan konsentrasi 4% dan 6% menyebabkan penurunan keanekaragaman mikrobia tanah menjadi 7 isolat. Namun, isolat mikrobia yang tumbuh pada kedua konsentrasi ekstrak tersebut adalah berbeda. Pemberian ekstrak paitan dengan konsentrasi 2% menyebabkan penurunan keanekaragaman mikrobia tanah menjadi 8 isolat. Pemberian ekstrak paitan dengan konsentrasi 4% menyebabkan penurunan keanekaragaman mikrobia tanah menjadi 7 isolat. Pemberian ekstrak paitan dengan konsentrasi 6% menyebabkan penurunan keanekaragaman mikrobia tanah menjadi 4 isolat. Hasil tersebut menunjukkan adanya penurunan keanekaragaman mikrobia

tanah pada perlakuan pemberian biopestisida (Gambar 6). Keanekaragaman mikrobia ditunjukkan dengan jumlah isolat mikrobia pada setiap perlakuan.



Gambar 6. Histogram keanekaragaman mikrobia tanah pada perlakuan pemberian biopestisida dari ekstrak tapak liman dan paitan

Hasil penelitian dari struktur komunitas mikrobi menunjukkan bahwa:

- Ada penurunan jumlah mikrobi dan keanekaragaman mikrobi bila dibandingkan antara kontrol dan perlakuan
- Semakin tinggi konsentrasi ekstrak tanaman yang diberikan maka jumlah mikrobi dan keanekaragaman mikrobi semakin menurun
- Ekstrak tanaman paitan memberikan penurunan jumlah mikrobi yang lebih besar dan keanekaragaman mikrobi yang lebih sedikit dibandingkan dengan ekstrak tanaman tapak liman

C. PEMBAHASAN

Penggunaan Biopestida berpengaruh terhadap menurunnya kandungan protein pada hewan coba. Protein merupakan makromolekul penyusun sel. Protein memiliki peran penting dalam proses biologis sebagai protein struktural, protein katalis, protein transport dan penyimpan, protein regular dan protein dalam sistem imun dan immunoglobulin (Shahabi *et al.*, 2007). Protein berperan dalam menentukan ukuran dan struktur sel, sebagai sistem komunikasi antar sel, serta sebagai katalis berbagai reaksi biokimia di dalam sel (Fatchiyah, 2011).

Protein merupakan salah satu karakter fenotip yang dipengaruhi oleh faktor genotip dengan lingkungan (Brock *et al.*, 1992). Perubahan kondisi lingkungan dan stress lingkungan dapat mempengaruhi konformasi protein (Shahabi *et al.*, 2007). Perubahan kondisi lingkungan memberikan signal kepada DNA bahwa mengenai adanya perubahan lingkungan. DNA merespon signal tersebut dengan melakukan transkripsi dan translasi yang menghasilkan asam amino. Asam amino tersebut tersusun menjadi protein yang berperan dalam menghadapi perubahan lingkungan. Adanya perubahan lingkungan dapat menyebabkan beberapa perubahan pada protein, yaitu denaturasi dan terbentuknya protein baru.

Penggunaan biopestisida juga memberikan pengaruh terhadap struktur komunitas mikrobial yang berada dalam habitat tersebut. Struktur komunitas mikrobial tanah akibat penggunaan biopestisida dapat teramati melalui beberapa parameter, yaitu jumlah mikrobial dan keanekaragamannya.

Parameter jumlah mikrobial teramati melalui jumlah total (TPC) bakteri yang terdapat dalam tanah. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian biopestisida dari ekstrak tapak liman dan paitan dapat menurunkan jumlah total bakteri (Tabel 4). Hasil tersebut sesuai dengan pendapat Schafer *et al.* (2007) yang menyatakan bahwa penggunaan biopestisida memberikan dampak negatif yaitu penurunan jumlah total bakteri yang terdapat di tanah. Penurunan jumlah total mikrobial tersebut dikarenakan biopestisida yang digunakan mengandung bahan aktif yang terkandung di dalam tanaman tersebut memiliki sifat antimikrobial sehingga menimbulkan dampak negatif berupa penurunan jumlah mikrobial. Daun tapak liman mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder antara lain alkaloid, flavonoid, saponin, tannin dan fenol (Wulandari, 2015). Ekstrak daun paitan mengandung senyawa fenol, alkaloid, flavonoid, dan tannin (Wicaksono, 2016). Senyawa metabolit sekunder tersebut memiliki sifat antimikrobial yang dapat menghambat pertumbuhan dan mematikan mikrobial (Hussain *et al.*, 2009).

Struktur mikrobial tanah akibat penggunaan biopestisida dapat teramati juga dapat teramati melalui keanekaragaman bakteri. Hasil penelitian menunjukkan terdapat 12 isolat bakteri tanah pada kontrol (tanpa pemberian biopestisida). Keanekaragaman isolat tersebut menurun setelah pemberian biopestisida (Tabel 5). Penurunan keragaman tersebut terjadi karena adanya kandungan bahan aktif dari senyawa metabolit sekunder yang bersifat anti mikrobial. Beberapa bakteri bersifat sensitif atau tidak mampu bertahan dalam kondisi lingkungan yang terdapat senyawa antimikrobial dan beberapa di antaranya memiliki sifat resisten. Keanekaragaman komunitas mikroba tanah juga dipengaruhi oleh jenis tanah dan fase pertumbuhan tanaman. Hal ini karena fase pertumbuhan tanaman yang berbeda akan menghasilkan eksudat akar yang berbeda.

Mikroba tanah memiliki peran yang penting dalam membantu pertumbuhan tanaman dan meningkatkan kesehatan ekologi tanaman inangnya, baik secara langsung maupun tidak langsung. Peran mikroba secara langsung yaitu dapat menghasilkan zat-zat yang menguntungkan bagi pertumbuhan tanaman sebagai biostimulator. Selain itu, mikroba dapat membantu tumbuhan dalam melawan mikroba patogen lain yang merugikan dengan mensekresikan senyawa tertentu sehingga dapat melindungi tanaman dari serangan penyakit.

Penggunaan biopestisida di lingkungan memberikan pengaruh terhadap komunitas yang terdapat di habitat tersebut. Mikrobia tanah merupakan komunitas yang seringkali terdampak langsung dari penggunaan suatu biopestisida. Dampak terhadap struktur komunitas mikrobia tanah akibat penggunaan biopestisida dapat teramati berdasarkan parameter-parameter tertentu. Salah parameter yang dapat digunakan sebagai parameter dampak negatif penggunaan biopestisida adalah penurunan jumlah total bakteri yang terdapat di tanah (Schafer *et al.*, 2007). Biopestisida yang terbuat dari bahan alami seperti tanaman juga dapat menimbulkan dampak negatif, karena bahan aktif yang terkandung di dalam tanaman tersebut memiliki sifat antimikrobia. Bahan-bahan yang bersifat antimikrobia dapat menghambat pertumbuhan dan mematikan mikrobia (Hussain *et al.*, 2009).

Pengaruh senyawa metabolit sekunder terhadap bakteri disebabkan berbagai senyawa tersebut (seperti halnya kurkumin, tannin, dan fenilpropanoid) mempunyai kemampuan untuk mengikat protein penyusun membrane sel yang menyebabkan pembentukan dinding sel terhambat. Selain itu proses pembentukan protein sitoplasma dan asam nukleat juga terhambat sehingga proses metabolisme untuk mendapatkan energi serta pengikatan ATP-ase pada membrane sel terhambat. Mekanisme tersebut menyebabkan sel bakteri kekurangan energy untuk proses pertumbuhan dan perkembangannya.

Terdapat kendala dalam penelitian ini, terutama untuk uji profil protein. Walaupun sudah mengulang ketiga kalinya tetapi belum ditemukan tehnik/metode yang tepat yang dapat menunjukkan profil protein ulat secara jelas, sehingga belum bisa ditentukan apakah ada protein baru yang muncul setelah ulat diperlakukan dengan biopestisida. Walaupun demikian dalam upaya mencari hasil penelitian yang lebih valid sehingga bisa dipublikasikan di jurnal, maka peneliti berusaha mencari metode yang tepat dan mengulang kembali percobaan profil protein.

Luaran Penelitian ini adalah: 1) Data tentang konsentrasi protein dari ulat *S.litura* dan *P.xylostella*, 2) Data tentang perubahan struktur komunitas mikroba dengan pemberian biopestisida, 3) Biopestisid dari ekstrak tumbuhan, 4) hand out Biopestisida, 5) Artikel pada jurnal internasional –Submit, 6) Artikel untuk Publikasi pada seminar internasional

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Terdapat penurunan kandungan protein pada hewan coba yaitu *S.litura* dan *P.xylostella* setelah diberikan biopestisida dari ekstrak tanaman *E.scaber* (tapak liman) dan *T.diversifolia* (paitan). Penurunan kandungan protein pada *Spodoptera litura* lebih besar dibandingkan dengan *Plutela xylostella*
2. Ekstrak tanaman *Thitonia diversifolia* memberikan penurunan kandungan protein pada ulat yang lebih besar bila dibandingkan dengan Ekstrak tanaman *E.scaber*. Semakin besar konsentrasi ekstrak tanaman (biopestisida yang diberikan) maka penurunan protein semakin besar
3. Penggunaan biopestisida dari ekstrak tumbuhan (Biopestisida) memberikan pengaruh terhadap struktur komunitas mikrobia (jumlah mikrobia dan keanekaragamannya). Pemberian ekstrak tanaman tapak liman dan tanaman paitan menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi yang diberikan maka jumlah mikrobia dan keanekaragaman bakteri semakin berkurang.
4. Ekstrak tanaman *Thitonia diversifolia* (paitan) memberikan penurunan jumlah mikroba yang lebih besar dan keanekaragaman mikroba yang lebih sedikit dibandingkan dengan ekstrak tanaman *E.scaber* (tapak liman).

C. Saran

1. Hambatan dalam penelitian ini adalah kandungan protein pada ulat *Spodoptera litura* instar dua sangat kecil sehingga perlu dipikirkan untuk mengganti pada instar yang lebih tinggi
2. Terdapat kendala pada penelitian ini yaitu pada pengamatan profil protein sehingga diperlukan untuk mencari metode yang lebih tepat
3. Diperlukan aplikasi hasil penelitian ke lapang (dalam kondisi pertanian yang sesungguhnya)

DAFTAR PUSTAKA

- Andarwulan, N. 2010. Flavonoid content and antioxidant activity of vegetables from Indonesia. *Food Chemistry*, 121,1231- 1235.
- Altieri N and Altieri A.2004.Agroecological Bases of Ecological Engineering for Pest Management .New York:C.Pub.Associates.
- Baskar, K.R. Maheswaran, S. Kingsley, S.Ignacimuthu. 2010. Bioefficacy of *Couroupita guianensis* (Aubl) against *Helicoverpa armigera* (Hub. (Lepidoptera:Noctuidae) Larvae. *Spanish Journal of Agricultural Research* 8(1).135-141.
- Bidlack, wayne. R ; Stanley T. Omaye ; Mark S. Meskin dan Debra K.W. Topham. 2000. *Phytochemicals as Bioactive Agents*. Lancaster, Pennsylvania USA : Tehnomic Publishing Company, Inc.
- Biswas R, Dutta PK, Achari B, Bandyopadhyay D, Mishra M, Pramanik KC, Chatterjee TK (2007) Isolation of pure compound R/J/3 from *Pluchea indica* (L.) Less. and its anti-amoebic activities against *Entamoeba histolytica*. *Phytomedicine* (Jena) 14, 534-7.
- Coloma, A. G. Ana G, Concepcion D.I., Rafael M.D., Diego C. 2002. Selective Action of Acetogenin Mitochondrial Complex I Inhibitors. *Naturforsch* 57c : 1028-1034.
- Cottrell, Helen J. 1987. *Pesticides on Plant Surfaces*. New York : Society of Chemical Industry.
- Dadang. 1999. *Insect Regulatory Activity and Active Substances of Indonesia Plant Particularly to the Diamondback Moth (Disertasi)*.Tokyo: Tokyo University of Agriculture.
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung : ITB.
- Heyne, K. 1987. *Tumbuhan Berguna Jilid III cetakan ke-1*. Jakarta : Badan Litbang Kehutanan Jakarta.
- Hill, Dennis. 1975. *Agricultural Insect Pests of The Tropics and Their Control*. New York, USA : Cambridge University Press.
- Hou, W.C., Chen, H.J., Lin, Y.H., 2000, Dioscorins from Different *Dioscorea* Species all Exhibit Both Carbonic Anhydrase and Trypsin Inhibitor Activities, *Botany Bulletin Academy*, 41:191-196
- Isnaeni,W. 2006. *Fisiologi Hewan.Yogyakarta*: Kanisius.
- Inderjit and K.M.M. Dakshini.1994. Allelopathic Potential of the Phenolics from the roots of *Pluchea lanceolata*. *Physiologi Plantarum* 92 : 571 – 576.
- Kalshoven, L.G.E. 1981. *The Pest of Crops in Indonesia*. Jakarta : PT. Ichtiar Baru – Van Hoeve.

- Kardinan, Agus. 2000. *Pestisida Nabati Ramuan dan Aplikasi*. Jakarta : PT Penebar Swadaya.
- Kusnaedi. 2003. *Pengendalian Hama Tanpa Pestisida*. Jakarta : Penebar Swadaya.
- Ko, Y.H., Hsu, K.W., 2009, Dioscori Protects Tight Junction Protein Expression in A549 Human Airway Eptheliun Cells From Dust Mite Damage, *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 42:457-463.
- Krenady.2003. *Khasiat dan manfaat Brotowali si pahit yang menyembuhkan*.Jakarta:PT Agromedia pustaka.
- Lakshmanan, S.K. Krishnappa, K. Elumalai. 2012. Certain Plant Essential Oils Againts Antifeedant Activity of *Spodoptera litura* (Fab.),*Helicovetpa Armigera* (Hub.) and *Acheae Janata* (Linn.) (Lepidoptera:Noctuidae). *International Journal of Current Life Sciences*. 2 (1):5-11.
- Lu,F.C.1995.*Toksikologi: Dasar, Azas, Organ, sasaran dan Penilaian Resiko*.Jakarta :Universitas Indonesia Press.
- Luger P.2000. The crystal structure of hop-17(21) en □□Asetat of *Pluchea pteropoda* Hemsl from Vietnam.*Crystal Res Technology* 35(3) hal 355-362.
- Merck, 1999, *Dioscorine*, Merck and Co., Inc, Whitehouse Station, New York.
- Novizian. 2002. *Membuat dan Memanfaatkan Pestisida Ramah Lingkungan*. Jakarta : Agromedia Pustaka.
- Pasaribu,Nursahara.2003.*Indeks Nutrisi Larva Heliothis Armagera Hubner pada makanan yang Mengandung Ekstrak kulit batang Bakau dan Temperatur yang berbeda*.Sumatera Utara: FMIPA UNSUT.
- Patcharaporn Vanichpakorn, Wei Ding, and Xiao-Xi Cen, 2010, Insecticidal Activity of Five Chinese Medicinal Plants against *Plutella xylostella* L. Larvae, *Journal of Asia-Pacific Entomology*.
- Pedigo, Larry P. 1989. *Entomology and Pest Management*. New York : Macmillan Publishing Company. *anical Pesticides in Agriculture*. New York : Macmillan Publishing Company.
- Prakash A, Rao J. 1997. *Botanical Pesticides in Agriculture*. New York: Lewis pub.
- Prijono,Djoko dan Hermanu T.1995.*Pemanfaatan Insektisida nabati di Tingkat Petani: Prosiding SeminarHasil Penelitian dalam rangka Pemanfaatan Pestisida Nabati*.Bogor: IPB Press.
- Pujiyanto.2002.*Pemanfaatan Jasad Mikro Jamur Mikoriza dan Bakteri dalam Sistem pertanian Berkelanjutan di Indonesia.Tinjauan dari Perspektif Falsafah Sains*.<http://www.hayati-ipb.com>.
- Puspawati, N. M., 1997. *Extraction, Isolation and Characterisation of Biologically Active Compounds from Balinse Plants Use in Traditional Medicines*, IAEUPDitjen Dikti-University of Udayana.

- Renault-Roger. 1997. The Potential Of Botanical Essential Oils For Insect Pest Control. *Integrated Pest Management Reviews* 2,25 – 34.
- Robinson, Trevor. 1995. Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi. Bandung : ITB.
- Rukmana, R dan U.U. Sugandi. 1997. Hama Tanaman dan Teknik Pengendalian. Yogyakarta : Kanisius.
- Sembel,T.Dantje.2010.Pengendalian Hayati Hama-hama Serangga Tropis dan gulma.Yogyakarta: Andi.
- Sen T, Ghosh TK, Chaudhuri AKN (1993) Studies on the mechanism of anti-inflammatory and anti-ulcer activity of *Pluchea indica*: Probable involvement of 5-lipoxygenase pathway. *Life Sciences* 52, 737-43.
- Sukadana.IM.,Wiwik Susanah R,Frida R.Koreh.2007.Isolasi dan Identifikasi Senyawa Anti Makan dari batang Tumbuhan Brotowali.Jurnal Kimia 1 (1), Juli 2007: 55-61
- Traithip.A.2005. Phytochemistry and antioxidant activity of *Pluchea indica*.Mahidol University.
- Uchiyama T, Miyase T, Ueno A, Usmanghani K (1989) Terpenic Glycosides from *Pluchea-Indica*. *Phytochemistry* (Oxford) 28, 3369-72.
- Untung, K. 2006. *Pengantar Pengelolaan Hama Terpadu (edisi kedua)*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Webster, J., Beck, W., Ternai, B., 1984, Toxicity and Bitterness in Australian *Dioscorea bulbifera* L. and *Dioscorea hispida* Dennst. from Thailand, *Journal of Agricultural Food Chemistry* 32:1087-1090.
- Wink,Michael. 2010. Biochemistry of Plant Secondary Metabolism. Annual Plant Review. Vol 40.Heidelberg: Wiley Blackwell.
- Yuliani, Rahayu, Y.S, Mitarlis, dan Ratnasari, E. 2003. Pengaruh Alelopati Beluntas (*Pluchea indica* L.) Terhadap Perkecambahan Biji dan Pertumbuhan Kecambah Gulma *Mimosa pudica* dan *Ruellia tuberosa*. Berkala Penelitian Hayati.

Lampiran 1. Justifikasi Anggaran Penelitian

1.Honor (25%)					
Honor	Honor/jam	Waktu (Jam/bulan)	Bulan	Honor per tahun (Rp)	
				Th 1	Th2
Ketua Peneliti	10.000	80	7	5.600.000	5.600.000
Anggota peneliti 1	8.500	60	7	3.570.000	3.570.000
Tenaga pendukung Laboran 1	6.000	60	6	2.160.000	2.160.000
Tenaga pendukung Laboran 2	6.000	60	6	2.160.000	2.160.000
Tenaga pendukung –mahasiswa 2 orang	5.000	40	5	1.000.000	1.500.000
Tenaga administrasi	4000	25	5	510.000	510.000
SUB TOTAL				Rp. 15.000.000	Rp. 15.000.000
2.Bahan Habis Pakai dan Peralatan (40%)					
Material	Justifikasi Pemakaian	Kuantitas	Harga satuan (Rp)	Biaya per tahun (Rp)	
				Th I	Th 2
Herbarium dan kelengkapannya (kertas,tali)	Contoh flora	10	50.000	500.000	0
Kamera		Sewa2 bulan	200.000	400.000	400.000
Kloroform	Bahan ekstraksi	0,5 L	1.878.000	750.000	0
Petroleum Eter		3 L	1.140.000	5.700.000	3.420.000
Methanol	Bahan maserasi	5 L	552.000	5.520.000	2.760.000
Etil asetat		2 L	357.500	715.000	0
Rotary evaporator	Peralatan untuk ekstraksi	Sewa utk 5 bulan	200.000	1.000.000	1.000.000
Alat refluk	Peralatan untuk ekstraksi	Sewa utk 3 bulan	50.000	150.000	150.000
Corong Buchner	Peralatan untuk ekstraksi	Sewa untuk 3 bulan	50.000	150.000	150.000
Aquades		10 L	15.000	300.000	150.000
DMSO		30 ml	50.000	150.000	150.000
n-heksana		3 L	500.000	1.500.000	0
n-butanol		3 L	375.000	1.125.000	0
Etanol		3	250.000	1.250.000	750.000
Saringan ukuran mesh 40		2	266.500	533.000	0
Kertas saring		17 lembar	10.000	100.000	170.000
Formaldehid		1	140.000	140.000	0
Organisme non target: serangga		4 organisme	500.000	2.000.000	0
Hama target spodoptera		1 paket	500.000	500.000	500.000
Hama target Plutella		1 paket	1.000.000		1.000.000
Pembelian tempat untuk wadah ulat (botol plastic)		1 paket	500.000	500.000	500.000

Sewa mikroskop 10 bulan		10 bln	25.000	250.000	250.000
Sewa Neraca Analitik		10 bln	25.000	250.000	250.000
Sewa peralatan gelas (corong pisah, gelas ukur, cawan petri erlenmeyer, lumpang		5 bln	50.000	250.000	250.000
Biaya perawatan Lab Fisiologi dan mikrobiologi jur Biologi UNESA		5 bln	50000	250.000	250.000
Analisis proteomik		14 sampel	600.000	0	8.400.000
Analisis komunitas mikrobia tanah		14 sampel	250.000	0	3.500.000
Sub total				Rp. 24.000.000	24.000.000
3.Perjalanan (25%)					
Material	Justifikasi Pemakaian	Kuantitas	Harga satuan (Rp)	Biaya per tahun (Rp)	
				Th I	Th 2
Transport persiapan dan pelaksanaan kegiatan (peneliti dan yang membantu)	Kegiatan di FMIPA UNESA untuk 9 org	5 bulan x 4 kali/ 7 org	50.000	5.000.000	7.000.000
Survey /observasi pertanian organik di lawang (untuk perhitungan cuplikan sampel tanah yang akan diambil)		2 hr	500.000/ hari	500.000	1.000.000
Transport pengambilan data flora di pertanian organik (di 4 kabupaten)		4 kali/2 hari	750.000/ hari	6.000.000	0
Transport penelitian (ke Malang, untuk pembelian serangga/hama target –peneliti dan tenaga pendukung)		4 kali	500.000	1.500.000	2.000.000
Transport Pengadaan bahan-bahan kimia dan alat penelitian		5	250.000	1.000.000	1.250.000
Transport Pengambilan hewan organisme non target		2 kali	500.000	1.000.000	0
Transport pengambilan tanah sawah padi organik untuk kultur mikroba (peneliti dan tenaga pendukung)		1 kali perjalanan waktu 2 hari	750.000/ hari		1.500.000
Transport analisis protein ke malang		2 kali	750.000		2.250.000
Sub Total				Rp 15.000.000	15.000.000
4.Lain-lain (publikasi, seminar, ATK, laporan) (10%)					
Material	Justifikasi Pemakaian	Kuantitas	Harga satuan (Rp)	Biaya per tahun (Rp)	
				Th I	Th 2
Kertas HVS A4 80 gr "Sidu"		2	35.000	70.000	70.000
Tinta printer laser jet		1	500.000	500.000	500.000
CatridgeBC 03		1	225.000	225.000	225.000
Flash disk 16 GB		1	105.000	105.000	105.000
Fotocopy laporan		2000	200	400.000	400.000
pulsa telp/internet		1 operator	150.000	150.000	150.000
Konsumsi kegiatan penelitian		5 bulan x 2 kali x 5 org	25.000	1250.000	1.250.000

penjilidan		10	20.000	200.000	200.000
Dokumentasi		1	100.000	100.000	100.000
Seminar nasional/internasional	1 x seminar inter	2 orang	500.000	1.000.000	1.000.000
Publikasi jurnal nasional/internasional		1	2000.000	2.000.000	2.000.000
Sub Total				Rp 6.000.000	Rp 6.000.000
Total Anggaran yang diperlukan setiap tahun				Rp. 60.000.000	Rp.60.000.000
Total Anggaran yang diperlukan seluruh tahun (Rp)				Rp.120.000.000	

Lampiran 2. Ketersediaan sarana dan prasarana penelitian

2.1. Laboratorium

Penelitian ini menggunakan Laboratorium Fisiologi (Jurusan Biologi FMIPA UNESA) terkait dengan perlakuan ekstrak tanaman terhadap organisme target, Laboratorium Mikrobiologi untuk uji dampak biopestisida terhadap mikroba tanah, dan Laboratorium Terpadu FMIPA UNESA serta Laboratorium Hayati Universitas Brawijaya untuk penentuan profil protein. Untuk penyediaan larva *Spodoptera litura* dilakukan kerjasama dengan BALITAS di Malang.

2.2. Peralatan Utama

Peralatan utama yang digunakan dalam penelitian ini terbagi atas dua macam yaitu peralatan untuk kultur bakteri yang dimiliki laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi UNESA, dan peralatan elektroforesis gel untuk penentuan profil protein sudah tersedia di laboratorium Terpadu FMIPA UNESA dan Laboratorium Hayati Universitas Brawijaya.

2.3. Keterangan Tambahan

Kajian terhadap pengembangan biopestisida dari berbagai flora lokal merupakan kombinasi kajian dalam bidang ilmu Fisiologi tumbuhan, Ekologi, Kimia Organik (bahan alam), mikrobiologi dan bio molecular. Temuannya yang berupa Pestisida hayati diharapkan dapat memperkaya IPTEK dalam mengatasi pencemaran Agroekosistem yang diakibatkan oleh penggunaan pestisida sintetik.

Lampiran 3

Susunan Organisasi Tim Peneliti dan Pembagian Tugas

No	Nama/NIDN	Instansi Asal	Bidang Ilmu	Alokasi Waktu (Jam/Minggu)	Uraian Tugas
1.	Dra.Yuliani,M.Si NIDN 0021076801	Jurusan Biologi FMIPA Unesa	Fisiologi Tumbuhan	10	Mengkoordinasi pelaksanaan Penelitian, percobaan biopestisida pada organisme target, dan mengkoordinasi penelitian profil protein organism target
2.	Lisa Lisdiana, S.Si., M.Si. NIDN 0007028303		Mikrobiologi/ Biomolekular	8	Mengkoordinasi penelitian dampak biopestisida terhadap mikroba tanah

Lampiran 4. Personil Penelitian

Ketua Peneliti

a. Identitas Diri

1	Nama Lengkap	Dr. Yuliani ,M.Si. (P)
2	Jabatan Fungsional	Lektor Kepala
3	Jabatan Struktural	Ketua Divisi Pengembangan dan Kerjasama lab. Terpadu MIPA UNESA
4	NIP / NIK / Identitas Lainnya	19680721 1993032002
5	NIDN	0021076801
6	Tempat dan Tanggal Lahir	Banyuwangi, 21 Juli 1968
7	Alamat Rumah	Jl. Manyar Rejo 2 no 5, Surabaya
8	Nomor Telepon / Faks	031-5911812/031-5932226
9	Alamat Kantor	Jurusan Biologi Gedung C3 Lt.2 FMIPA Unesa, Ketintang Surabaya -60231
10	Nomor HP	08123188703
11	Alamat e-mail	yuliani.ap@gmail.com
12	Mata Kuliah yang diampu	1. Fisiologi Tumbuhan 2. Ekofisiologi 3. Ilmu Hara 4. Fitohormon 5. Biologi Umum 6. Metodologi Penelitian 7. Seminar 8. Etnobotani 9. Biologi Sekolah 10. Farmakognosi

b. Riwayat Pendidikan

	S-1	S-2	S-3
Nama Perguruan Tinggi	IKIP Surabaya	Universitas Gadjah Mada	Universitas Brawijaya
Bidang Ilmu	Pendidikan Biologi	Biologi/ Fisiologi tumbuhan	Biologi
Tahun Masuk-Lulus	1987-1992	1995-1999	2011-2015
Judul Skripsi/Thesis/Disertasi	Identifikasi Jamur pada Sampah Domestik	Penggunaan hasil Dekomposisi daun dan Bunga Kamboja sebagai penghambat perkecambahan biji dan pertumbuhan kecambah Gulma	Kajian senyawa Fenolik pada berbagai ketinggian habitat sebagai pengendali Spodoptera litura

Nama Pembimbing/Promotor	Prof.Dr.Soeparman Kardi	Prof.Dr.Santosa	Prof.Dr.Soemarno
--------------------------	-------------------------	-----------------	------------------

c. **Pengalaman Penelitian dalam 5 Tahun Terakhir**
(Bukan skripsi, Thesis, maupun Disertasi)

No	Tahun	Judul Penelitian	Pendanaan	
			Sumber	Jml (Juta Rp)
1.	2007	Etnobotani Perlengkapan upacara adat (uba rampe) Budaya Jawa: suatu observasi penggunaan dan keanekaragaman tumbuhan di Jawa timur (Ketua)	DP2M (Peneliti Dosen muda)	10.000.000
2.	2007	Pengembangan Model Bioremediasi Menggunakan Lemnaceae dan Protozoa Sebagai Sistem Pengolahan Air Sungai di Kali Surabaya (Anggota)	DP2M (Hibah Bersaing)	40.000.000
3.	2008	Penggunaan Senyawa Alelokami <i>Pluchea indica</i> (L.)Less dan <i>MikorizaVesikular Arbuskular</i> Sebagai Model Mekanisme Pengendalian Gulma Terpadu Secara Hayati (Ketua)	DP2M (Hibah Bersaing)	40.000.000
4.	2009	Penggunaan Senyawa Alelokami <i>Pluchea indica</i> (L.)Less dan <i>MikorizaVesikular Arbuskular</i> Sebagai Model Mekanisme Pengendalian Gulma Terpadu Secara Hayati (HIBAH BERSAING LANJUTAN –th II)	DP2M (Hibah Bersaing)	40.000.000
5.	2009	Pengembangan Alat Pengolahan Air Kali Surabaya Menggunakan <i>Wolfia</i> dan <i>Paramecium</i> sp. Untuk Meningkatkan Kualitas Air Irigasi. (Anggota)	DP2M-Stranas	75.000.000
6.	2010	Kajian dinamika unsur hara pada tanah kapur melalui efektivitas interaksi Mikoriza,Rhizobium dan Seresah jati (Ketua)	DP2M-Stranas	50.000.000
7.	2010	Kajian pola interaksi bakteri pendegradasi hidrokarbon, bakteri pelarut fosfat, rhizobium dan mikoriza pada tanaman legum sebagai model bioremediasi pada tanah tercemar minyak (Anggota)	DP2M-Fundamental	40.000.000
8.	2011	Kajian zona salinitas dan pola interaksi berbagai mikroorganisme dalam memanfaatkan tanah salin sebagai media tanam (Ketua)	DP2M-Fundamental	40.000.000
11	2013	Pengembangan Perangkat pembelajaran farmakognosi Berbasis Proyek Untuk melatih Berpikir Kritis dan kreatif pada mahasiswa Biologi (Anggota)	Hibah bersaing	50.000.000
12.	2013	Kajian Senyawa fenolik tanaman	Hibah Doktor	40.000.000

		Asteraceae Pada Berbagai ketinggian habitat dan potensinya sebagai Biopestisida (Ketua)		
13	2014	Pengembangan Biopestisida dari Flora lokal untuk meningkatkan kualitas agroekosistem sawah padi organik (Ketua)	Hibah Fundamental	60.000.000

d. Pengalaman Pengabdian Kepada Masyarakat dalam 5 Tahun Terakhir

No	Tahun	Judul Pengabdian Kepada Masyarakat	Pendanaan	
			Sumber	Jml (Juta Rp)
1	2008	Pelatihan pengetahuan dan ketrampilan sains untuk guru-guru pos PAUD terpadu di kelurahan Pacar keling Surabaya	DIPA	2.000.000
2.	2009	Pembuatan Media Pembelajaran Biologi Untuk SMA dan MA di Lamongan	DIPA	2.000.000
3.	2010	Pelatihan Materi IPA –Botani untuk guru SD Bhayangkara Surabaya	Dana PKM Jurusan	1.000.000
4.	2011	Pelatihan materi IPA melalui Lesson Studi di SMP Candi Sidoarjo	DIPA	2.000.000
5.	2011	Pelatihan Materi IPA SD untuk memperbaiki Miskonsepsi pada guru SD di Sidoarjo	DIPA	5.000.000
8.	2013	Pelatihan Teknologi Hidroponik sebagai upaya pemanfaatan lingkungan sekitar bagi ibu-ibu warga perumahan Lembah Harapan	BOPTN	5.000.000
9.	2014	Pelatihan Teknologi Hidroponik bagi siswa SMAN 9 Surabaya	BOPTN	5.000.000
10	2015	Peningkatan Kompetensi Profesional Guru SMA melalui Pengayaan konsep materi biologi di Kabupaten Bangkalan	BOPTN	7.500.000
11	2015	Pelatihan Bertanam Sayuran Organik dalam upaya memanfaatkan halaman yang sempit bagi ibu-ibu PKK kelurahan Suko kecamatan Sukodono-Sidoarjo	BOPTN	5.000.000

e. Pengalaman Penulisan Artikel Ilmiah dalam Jurnal dalam 5 Tahun Terakhir

No	Judul Artikel Ilmiah	Volume/No mor/ Tahun	Nama Jurnal
1	Kangkung air (<i>ipomoea aquatica</i> forsk.) sebagai	Volume 10 nomor 1 Juni	Jurnal Penelitian Perikanan UNIBRAW, Terakreditasi SK Dikti No

	bioindikator logam Pb di kali surabaya	2007	55/DIKTI/2005,ISSN 0854-3658
2	Potensi Jamur <i>Beauveria bassiana</i> (Bals) dan <i>Spodoptera litura</i> Nuclear Polyhidrosis (SINPV) dalam Mengendalikan Ulat <i>Spodoptera litura</i>	Vol 15, No 1, Juni, 2008,	Jurnal Penelitian MIPA UNESA, ISBN 0852-0518
3	Keanekaragaman Flora Gunung Baung di Kabupaten Pasuruan	Vol 15, No 1, Juni, 2008	Jurnal Penelitian MIPA UNESA, ISBN 0852-0518
4	Efektivitas Bakteri Pelarut Fosfat <i>Bacillus subtilis</i> dalam meningkatkan Kadar Fosfat dan menurunkan senyawa Hidrokarbon Pada tanah bekas Pertambangan di Bojonegoro	Vol 16, No 1, Juni, 2009,	Jurnal Penelitian MIPA UNESA, No 1, Juni, 2009, Vol 16, ISBN 0852-0518
5	Kemampuan Bakteri <i>Achromobacter xylosoxidans</i> dan <i>Arthrobacter polychromogenes</i> terhadap penurunan Total Petroleum Hydrocarbon (TPH) pada tanah tercemar minyak bumi di Bojonegoro	Vol 16, No 1, Juni, 2009,	Jurnal Penelitian MIPA UNESA, No 1, Juni, 2009, Vol 16, ISBN 0852-0518
6	Potensi senyawa Alelokemi Daun <i>Pluchea indica</i> (L.) Less sebagai penghambat perkecambahan biji gulma secara hayati	Desember, 2009	Berkala Penelitian Hayati (journal of biological Researches) No 3A Desember 2009. Terakreditasi B SK No 43/Dikti/Kep/2008.
7.	Isolasi dan Identifikasi Bakteri Pendeградasi Hidrokarbon dan Bakteri Pelarut Fosfat pada Tanah Tercemar Minyak Bojonegoro	November 2010	Prosiding Seminar Nasional Hasil-Hasil Penelitian, Lembaga Penelitian UNESA.
8	Total Phenolic and Flavonoid Content of <i>Pluchea indica</i> Less Leaves extract from some altitude habitats	Vol 8, No 4 pp 1618-1625	International Journal of ChemTech Research – CODEN (USA): IJCRGG ISSN:0974-4290 http://sphinxsci.com/2015/ch_vol8_no4/1/(1618-1625)V8N4.pdf
9	The Relationship between Habitat Altitude, Enviromental Factors and Morphological Characteristics of <i>Pluchea Indica</i> , <i>Ageratum Conyzoides</i> and <i>Elephantopus Scaber</i>	Volume 15, No 3, pp 143-151	OnLine Journal Of Biological Sciences. Science Publication http://thescipub.com/abstract/10.3844/ojbsci.2015.143.151

f. Pengalaman Penyampaian Makalah secara Oral pada Pertemuan/Seminar Ilmiah dalam 5 Tahun terakhir

No.	Nama Pertemuan Ilmiah/Seminar	Judul Artikel Ilmiah	Waktu dan Tempat
1.	International Conference on Mathematics and Natural Science ICMNS	Potensial Allelopathy Fenolik Compound of <i>Pluchea indica</i> (L.) Less. Leaves as Inhibitors of Seed Germination <i>Mimosa pudica</i> L and <i>Ruellia tuberosa</i> L.	(FMIPA) ITB 29-30 November 2006
2	Seminar Hasil Penelitian Biologi dan pendidikan Biologi	Potensi Tradisional Masyarakat Desa Sekitar Hutan dalam Menunjang Konservasi <i>In-Situ</i> Gunung Baung	Jurusan Biologi FMIPA UNESA, 15 Desember 2007
3.	Seminar Nasional Penelitian MIPA dan Pendidikan MIPA	Kandungan dan Komposisi Senyawa Alelokemi Fenolik Hasil dekomposisi daun <i>Pluchea indica</i> Less.	FMIPA UNESA, 29 November 2008
4	Seminar dan Lokakarya Nasional Biologi dan Pendidikan Biologi	Potensi Vesicular Arbuscular Mycorrhiza (VAM) dan Bakteri Rhizobium dalam Meningkatkan Ketahanan dan Pertumbuhan <i>Vigna radiata</i> L. wilezeck pada Tanah Tercemar Logam Berat	Jurusan Biologi FMIPA UNESA, 13 Desember 2008
5.	Seminar Nasional Biologi XX dan Kongres Perhimpunan Biologi Indonesia XIV	Pengaruh Rhizobium dan Vesikular Arbuscular Mikoriza (MVA) <i>Glomus aggregatum</i> terhadap Pertumbuhan Kacang Tanah (<i>Arachis hypogea</i> L.) yang Ditanam pada Tanah Tercemar Minyak Bumi di Bojonegoro	Jurusan Biologi UIN Maulana Malik Ibrahim dan PBI cabang jawa Timur Malang, 25 Juli 2009
6	Seminar Nasional Biologi XX dan Kongres Perhimpunan Biologi Indonesia XIV	Potensi Lemna major dalam menyerap logam berat Pb, Cd dan Fe	Jurusan Biologi UIN Maulana Malik Ibrahim dan PBI cabang jawa Timur Malang, 25 Juli 2009
7.	Seminar nasional Kimia	Hambatan Perkecambahan biji tanaman Budidaya akibat pemberian senyawa alelokemi daun <i>Pluchea indica</i> (l.) Less	Jurusan Kimia FMIPA UNESA, 20 Pebruari 2010
8.	Seminar internasional Association for Tropical Biology and Conservation/ATBC	The using Alelochemical Compound of <i>Pluchea Indica</i> leaf as a Biological Herbicide (Bioherbicide)	Bali, Juli 2010
9	Seminar internasional Association for Tropical Biology and	The Role of Hidrocarbons Degradation Bacteria and Phosphat Soluble Bacteria to remediate oil-contaminated Soils	Bali, Juli 2010

	Conservation/ATBC		
10	Seminar hasil penelitian -Lembaga Penelitian UNESA	Efektivitas interaksi mikoriza, rhizobium dan seresah daun jati terhadap pertumbuhan tanaman kedelai pada tanah kapur	Hotel Simpang, November 2010
11	International Conference on Research Implementation, and education of Mathematics and Sciences 2014.	Contents of Phenolic Compounds of <i>Pluchea indica</i> Leaves from Some Altitude habitat	FMIPA, Yogyakarta State University 18-21 May 2014.
12	International Conference on Mathematics, Sciences, Technology, education, and their applications.	Contents of Flavonoid Compounds of <i>Ageratum conyzoides</i> Leaves extract from Some Altitude Habitat	FMIPA, State University of Makassar 21 August 2014.
13	International Conference on Life Sciences and Biotechnology kerjasama dengan DAAD	The Use of the Local Flora as Biopesticides by Organic Rice farmers in East Java	Universitas Negeri Jember Jawa Timur (Aston Jember Hotel) 28-29 September 2015
14	International Conference on Life Sciences and Biotechnology kerjasama dengan DAAD	Local Wisdom in the Making of Plants Based Biopesticides by Organic Rice Farmers In East Java	Universitas Negeri Jember Jawa Timur (Aston Jember Hotel) 28-29 September 2015
15	Seminar Hasil Penelitian LPPM	Pemanfaatan Mikorhiza Vesikular Arbuskular var. etunicatum dan fasciculatum untuk meningkatkan pertumbuhan tanaman kedelai pada media tanah salin	Hotel Papilio, 2015

g. Pengalaman Penulisan Buku dalam 5 Tahun terakhir

No.	Judul Buku	Tahun	Jumlah Halaman	Penerbit
1	Buku Biologi untuk SMA, materi Virus, Monera, Fungi	2006	100 hal	LPMP Jawa Timur dan PSMS UNESA
2	Buku Biologi Umum	2007	100 hal	UNESA Press ISBN
3	Modul PPG: Metabolisme	2009	50 hal	UNESA
4	Hand Out Fisiologi Tumbuhan	2013	100 hal	UNESA
5	Hand Out Farmakognosi	2013	150 hal	UNESA
6	Buku penuntun praktikum Ekofisiologi	2011	30 hal	UNESA
7	Buku penuntun praktikum Ilmu hara	2013	45 hal	UNESA

8	Buku penuntun praktikum Fitohormon	2015	30 hal	UNESA
9	Buku Biologi SMALB	2014	>100 hal	

h. Pengalaman Perolehan HKI dalam 5-10 Tahun terakhir

No.	Judul/Tema HaKI	Tahun	Jenis	Nomor P/ID
1	----			

i. Pengalaman Merumuskan Kebijakan Publik/Rekayasa Sosial Lainnya dalam 5 Tahun terakhir

No.	Judul/Tema/Jenis Rekayasa Sosial lainnya yang telah diterapkan	Tahun	Tempat Penerapan	Respon Masyarakat
1	-----			

j. Penghargaan yang Pernah diraih dalam 10 Tahun terakhir (dari Pemerintah, asosiasi atau institusi lainnya)

No.	Jenis Penghargaan	Institusi Pemberi Penghargaan	Tahun
1	Tanda Kehormatan Satyalancana Karya Satya 10 Tahun	Presiden Republik Indonesia	2009
2	Tanda Kehormatan Satyalancana Karya Satya 20 Tahun	Presiden Republik Indonesia	2015

Semua data yang saya isikan dan tercantum dalam biodata ini adalah benar dan dapat dipertanggungjawabkan secara hukum. Apabila di kemudian hari ternyata dijumpai ketidaksesuaian dengan kenyataan, saya sanggup menerima risikonya.

Demikian biodata ini saya buat dengan sebenarnya untuk memenuhi salah satu persyaratan dalam pengajuan penelitian Hibah Fundamental.

Surabaya, 19 November 2016

Pengusul,

 (Dra. Yuliani, M.Si.)
 NIP.196807211993032002

Anggota peneliti

A. Identitas Diri

1	Nama Lengkap (dengan gelar)	Lisa Lisdiana, S.Si., M.Si (P)
2	Jabatan Fungsional	Asisten ahli
3	Jabatan Struktural	-
4	NIP	1983020712009122001
5	NIDN	0007028303
6	Tempat dan Tanggal Lahir	Malang, 7 Februari 1983
7	Alamat Rumah	Jl. D. Kenambui C1/C4 Malang
8	HP	081333094471
9	Alamat Kantor	Kampus Unesa Jl. Ketintang Surabaya
10	Nomor Telepon/Faks	031-8298382
11	Alamat e-mail	lavender_154@yahoo.com
12	Lulusan yang telah dihasilkan	-
13	Mata Kuliah yang Diampu	1. Mikrobiologi 2. Genetika 3. Statistika

B. Riwayat Pendidikan

	S-1	S-2
Nama Perguruan Tinggi	Universitas Brawijaya	Universitas Brawijaya
Bidang Ilmu	Biologi	Biologi/Bioteknologi
Tahun Masuk-Lulus	2001-2005	2006-2009
Judul Skripsi/Tesis	Similaritas Strain-strain Anggota Genus <i>Pseudomonas</i> Pendegradasi <i>Linear Alkylbenzene Sulphonate</i> (LAS) berdasarkan <i>Protein Fingerprinting</i>	Identifikasi Bakteri Diazotrof Endofit Tanaman Tebu Berdasarkan Analisis Fenotipik dan Genomik
Nama Pembimbing	1. Dra. Tri Ardyati, M.Agr.Sc., Ph.D. 2. Drs. Suharjono, M.S.	1. Dr. Suharjono, M.S 2. Dr. Ir. Wiwik E. Widayati, M.S.

C. Pengalaman Penelitian Dalam 5 Tahun Terakhir

No.	Tahun	Judul Penelitian	Pendanaan	
			Sumber	Jumlah (Juta Rp)

1	2011	Penggunaan Media Animasi untuk Meningkatkan Minat dan Hasil Belajar Mahasiswa Program Studi Pendidikan Biologi UNESA Angkatan 2009 pada Mata Kuliah Genetika	Mandiri	0.5
2	2011	Pengembangan Lembar Kerja Mahasiswa (LKM) Genetika dan Kuncinya untuk Memfasilitasi Mahasiswa Menemukan Konsep Genetika secara Mandiri	DIPA	10
4	2012	Pengembangan Bahan Ajar Mata Kuliah Genetika untuk Meningkatkan Kualitas Pembelajaran Mahasiswa Kelas Internasional dan Kelas Plus	Hibah Kelas Internasional	10
3	2012	Potensi Kerang Laut <i>Edible</i> (Mollusca: Bivalvia) sebagai Sumber Senyawa Antibakteri	DIPA Unesa (Penelitian Terapan)	4
4.	2014	Pengembangan Biopestisida dari Flora lokal untuk meningkatkan kualitas agroekosistem sawah padi organik	Hibah Fundamental	60

D. Pengalaman Pengabdian Kepada Masyarakat Dalam 5 Tahun Terakhir

No.	Tahun	Judul Pengabdian Kepada Masyarakat	Pendanaan	
			Sumber	Jumlah (Juta Rp)
1	2011	Pelatihan Pembuatan Saos Sambal Bagi Ibu-ibu PKK Warga Lembah Harapan Kelurahan Lidah Wetan Kecamatan Lakarsantri		
2	2011	Pemanfaatan Keranjang Takakura dan Daur Ulang Sampah Plastik sebagai Implementasi Pengelolaan Sampah dari Sumber Sampah		
3	2012	Peningkatan kualitas pembelajaran guru-guru SMPN 1 RSBI Ngoro Mojokerto melalui implementasi Lesson Study"	DIPA	

E. Pengalaman Penulisan Artikel Ilmiah Dalam Jurnal Dalam 5 Tahun Terakhir

No	Judul Artikel	Volume/Nomor/Tahun	Nama Jurnal
1	Belum ada		

F. Pengalaman Penyampaian Makalah Secara Oral Pada Pertemuan/Seminar Ilmiah Dalam 5 Tahun Terakhir

No.	Nama Pertemuan Ilmiah/Seminar	Judul Artikel Ilmiah	Waktu dan Tempat
1	Seminal Nasional IPA III	Penggunaan Media Animasi untuk Meningkatkan Hasil Belajar Mahasiswa Program Studi Pendidikan Biologi UNESA Angkatan 2009 pada Mata Kuliah Genetika	26 Mei 2012, Universitas Negeri Semarang, Semarang
2	International Conference on Life Sciences and Biotechnology kerjasama dengan DAAD	The Use of the Local Flora as Biopesticides by Organic Rice farmers in East java	Universitas Negeri Jember Jawa Timur (Aston Jember Hotel) 28-29 September 2015
3	International Conference on Life Sciences and Biotechnology kerjasama dengan DAAD	Local Wisdom in the Making of Plants Based Biopesticides by Organic Rice Farmers In East Java	Universitas Negeri Jember Jawa Timur (Aston Jember Hotel) 28-29 September 2015

G. Pengalaman Penulisan Buku Dalam 5 Tahun Terakhir

No.	Judul Buku	Tahun	Jumlah Halaman	Penerbit

H. Pengalaman Perolehan HKI dalam 5-10 Tahun terakhir

No	Judul/Tema HKI	Tahun	Jenis	Nomor P/ID

I. Pengalaman Merumuskan Kebijakan Publik/Rekayasa Sosial Lainnya dalam 5 Tahun terakhir

No	Judul/Tema/Jenis Rekayasa Sosial lainnya yang telah diterapkan	Tahun	Tempat Penerapan	Respon Masyarakat

J. Penghargaan yang Pernah diraih dalam 10 Tahun terakhir (dari Pemerintah, asosiasi atau institusi lainnya)

No.	Judul Penghargaan	Institusi Pemberi Penghargaan	Tahun
1.	Piagam Penghargaan Sebagai Lulusan Sarjana dengan Predikat <i>Cumlaude</i>	Universitas Brawijaya	2005
2.	Piagam Penghargaan Sebagai Lulusan Pascasarjana S2 dengan Predikat <i>Cumlaude</i>	Universitas Brawijaya	2009

K. Organisasi Profesi /Ilmiah

Tahun	Jenis>Nama Organisasi	Jabatan

Semua data yang saya isikan dan tercantum dalam biodata ini adalah benar dan dapat dipertanggungjawabkan secara hukum. Apabila di kemudian hari ternyata dijumpai ketidaksesuaian dengan kenyataan, saya sanggup menerima risikonya.

Demikian biodata ini saya buat dengan sebenarnya untuk memenuhi salah satu persyaratan dalam pengajuan penelitian Hibah Fundamental.

Surabaya, 19 November 2016



Lampiran 5. Surat Pernyataan Ketua Peneliti



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS NEGERI SURABAYA

Kampus Ketintang
Jalan Ketintang Surabaya 60231
Telepon : +6231-8280009
.8280804,8281013
Faksimil : +8280804

SURAT PERNYATAAN KETUA PENELITIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Dra. Yuliani, M.Si
NIDN : 0021076801
Pangkat/Golongan : Pembina Utama Muda/IV c
Jabatan Fungsional : Lektor Kepala

Dengan ini menyatakan bahwa proposal penelitian saya dengan judul : **Pengembangan Biopestisida dari Flora Lokal Untuk Meningkatkan Kualitas Agroekosistem Sawah padi organik** yang diusulkan dalam skema penelitian hibah Fundamental untuk tahun anggaran 2016 bersifat original, dan belum pernah dibiayai oleh lembaga/ sumber dana lain dan karya sendiri bukan karya orang lain.

Bilamana di kemudian hari ditemukan ketidaksesuaian dengan pernyataan ini, maka saya bersedia dituntut dan diproses sesuai dengan ketentuan yang berlaku dan mengembalikan seluruh biaya penelitian yang sudah diterima ke kas negara.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan sesungguhnya dan dengan sebenar-benarnya.

Surabaya, 19 November 2016

Mengetahui
Kepala LPPM Unesa

Prof. Dr. Ir. Wayan Susila, MT
NIP 195312151980021002

Yang menyatakan

Dra. Yuliani M.Si.
NIP 196807211993032002



POTENTIAL AND EFFECTIVENESS OF *Elephantopus scaber* AS BIOPESTICIDE

¹Yuliani*, ²Lisa Lisdiana

^{1,2})Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences,
Universitas Negeri Surabaya, Indonesia
email : yuliani.ap@gmail.com *

Abstract

Elephantopus scaber is a medicinal, antibacterial and biopesticide plant. This study aims to determine the content of phenolic compounds in *Elephantopus scaber* found in a wide variety of habitats, those are in lowlands, middle-altitude land, and highlands, and to know the effectiveness of *Elephantopus scaber* as a biopesticide with trials on larvae of *Spodoptera litura* (percentage mortality and LC80 -LC50 and anti-feeding activity). *E.scaber* leaves were obtained from three different altitude habitats: lowland (Bangkalan; 28.3 - 31.72 m), middle-altitude land (Trawas; 727 - 937 m) and highland (Batu; 1303 - 1322 m). *E.scaber* leaf powder was macerated and extracted using methanol, ethyl acetate, aquades and n-butanol. The total phenolic (gallic acid/GAE) contents were determined using UV-VIS spectrometer. Bioactivity test used five methanol extract of *E.scaber*, those are 0%, 6%,8%,10% dan 12%. Measured parameters were mortality percentage and anti-feeding activity of *Spodoptera litura*. The results showed that content of phenolic compounds (GAE) *E. scaber* in middle-altitude land (0,466 mg/mL) was higher than *E. scaber* grown in lowlands (0,392 mg/mL) and highland (0,354 mg/mL). Phenolic compounds found were mostly semi-polar showed by the largest total phenol of ethyl acetate fraction. Bioactivity test result showed that *E.scaber* cultivated in middle-altitude land caused mortality of *Spodoptera litura* instar two by 81,19 - 96%, with LC₅₀ = 2,88 % and LC₈₀= 6,64%.

Keywords: Potential, effectiveness, *Elephantopus scaber* , phenolic compounds, biopesticide

INTRODUCTION

An agro-ecosystem is said productive when soil, nutrients, sunlight, humidity, and existing organism are in balance, resulting in healthy and sustainable crops. If there is a disturbance in an agro-ecosystem (pathogenic organisms, pests, or land degradation) it is necessary to restore the balance by restoring the function of each component in the agro-ecosystem. In line with the strategy of agro-ecosystem management and people trend of back to nature, then the pest and disease control is directed to biological control.

The use of botanical pesticides or bioactive compounds derived from plants has been developed for safer and cleaner for the environment and its ability to leave non-target organisms unharmed. Additionally, the botanical pesticide is one of the traditional ways of controlling pests and diseases that have long been known by Indonesian people. This is a heritage that comes from life experience, indigenous knowledge, and the local wisdom. Botanical pesticide derived from secondary metabolites produced by plants.

The plant does not only produce primary compounds in metabolism, but also produce secondary metabolites such as phenolic compounds, alkaloids, terpenoids, and sulfur. A secondary metabolite is a plant defense against pests (Lambers et al., 1998). In the last 30 years, no less than 850 species of plants that are active against insect attack or pests. Various parts of the plant can be used as plant-based pesticides, such as leaves, stems, flowers, seeds, and fruit (Wink, 2010).

Secondary metabolites such as tannins, alkaloids, flavonoids, saponins, and phenols are produced by plants and are used for defense against insects, because these compounds have a mechanism that can inhibit the metabolism of insects (Pedigo, 1989). The effects of secondary metabolites that act as insecticides, among others, the occurrence of early death, decline of growth rate, shrinking of adult body size, shortening of life span, anxiety, and abnormality in morphology and behavior. A variety of plants are known to have great potential to be developed as a pest insect control is a group of Meliaceae, Rutaceae, Asteraceae, Annonaceae, Labiate, Aristolochiaceae, Malvaceae, Zingiberaceae, and Solanaceae (Prakash & Rao, 1997; Dadang, 1999).

Elephantopus scaber (Asteraceae) grows wild and can be found from the lowlands to an altitude of 1200m above sea level (asl). The leaves are medicinal and contain secondary metabolites, those are alkaloids, tannins, phenols, proteins, glycosides, saponins, terpenoids and steroids. It also contains epifriedelinol, lupeol, stigmasterol, triacontan-1-ol, dotriacontan-1-ol, lupeol acetate, deoxyelephantopin, isodeoxyelephantopin, and luteolin-7-glucosida, which act as antimicrobial (Wan Yong Ho et al., 2009). *E. scaber* is a medicinal plant and has the chemical constituents include flavonoids (leaf-extract methanol), phenol (leaf, rhizome-extract methanol), saponins (rhizome-extract methanol), steroids (leaf, rhizome extract of methanol and chloroform), tannins (leaf extract of chloroform and methanol), terpenes (leaf, rhizome-extract methanol and chloroform), triterpenoids, sesquiterpene lactone, elephantopin, but it also contains epifriedelinol, lupeol, stigmasterol, triacontan-1-ol, dotriacontan-1-ol, lupeol acetate, deoxyelephantopin, isodeoxyelephantopin, and luteolin-7-glucosida, which act as anti-microbial (Mohan et al., 2010).

On alcohol and chloroform extracts of *E. scaber*, toxic germacranolide (sesquiterpene lactones) are found, and act as an analgesic, diuretic and anti-inflammatory in water extract, (Li et al., 2004). Wan et al. (2009) describes that leaves

and roots of *E. scaber* in ethanol extract act as an anti-bacterial agent, and inhibits the growth of *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, and *Pseudomonas aeruginosa*. It was also explained that *E. scaber* contains triterpenoids, a sesquiterpene, stigmasterol, alkaloids, chalcone and phenolic compounds. Pavela (2011) describes that the plant of Asteraceae may result in 100% mortality of larvae *S.litura* after applied with a dose of 15 mg / g.

Contents of secondary metabolites in plants are formed as an attempt to defend themselves from its growing ecosystem. Hence the high and low contents of secondary metabolites in plants are influenced by the environment such as altitude, rain, and temperature (Vanhaelen *et.al.*, 1991). The influence of environmental factors interacts with genetic factors in the phenotypic expression of secondary metabolites, resulting in the production and excretion of secondary metabolites which is influenced by temperature, light intensity, soil properties, microorganisms, and nutrient status (Olofsdotter, 2001; Mazid *et.al.*, 2011). Yuliani (2015) research showed that the phenol contents of *Pluchea indica* leaves extracts different on each altitude habitat. The highest phenol content was obtained from *P.indica* which lived in the lowlands, then middle-highland and highland. Thus, if *Elephantopus scaber* that can be used as a biopesticide is cultivated, it must adapt to its habitat so that the contents of secondary metabolites can be produced to the maximum.

Accordingly, the purpose of this study was to determine the content of phenol compounds in *Elephantopus scaber* found in a wide variety of habitats, those are in lowlands, middle-altitude land, and highlands and to determine its effectiveness as a biopesticide, tested on *Spodoptera litura*. Effectiveness will be obtained from mortality percentage and anti-feeding activity of *Spodoptera litura* after treated with *E. scaber* extract, and to determine LC₅₀ and LC₈₀.

METHODOLOGY

A sampling of *E. scaber* leaves was taken by purposive sampling method in lowland < 50m asl, 700-950m asl for middle-altitude land, and > 1300m asl for highland. Sampling locations were in three areas with different altitude, at Bangkalan Madura for lowland (28.3-31.72m asl), Dlundung - Trawas (Mojokerto) for middle-altitude land (727-937m asl) and Coban talun - Bumiaji (Batu Malang) for highland (1303-1322m asl). Implementation of the study included:

1. Total Phenolic compound

Preparation of phenolic standards: Gallic acid and preparation of plant material. Leaf of the plant used was powdered and the water content was determined. Extraction and Fractionation process of *E. scaber* leaf using the procedure of Dorman and Hiltunen (2004) : *E. scaber* plant leaf powder (40 mesh size) in macerated with petroleum ether at room temperature for 24 hours, then dried residue extracted with methanol using soxhlet extraction at a temperature of 65°C for 3 hours. Methanol solvent was evaporated with a rotary evaporator. The extract obtained was fractionated with ethyl acetate and distilled water. Next, distilled water phase was fractionated with n-butanol solvent. Solvents infraction of ethyl acetate, n-butanol, and distilled water were evaporated with rotary evaporator, each extract and fractions were stored at 4°C until next analysis.

The total phenolic contents of *Elephantopus scaber* extract were determined using UV - VIS spectrometer according to Folin-Ciocalteu method, gallic acid was used as a standard (Singleton *et al.*, 1999; Stanojevic *et al.*, 2009). The reaction mixture was prepared by mixing 1 mL of the methanolic solution of the extract, 9 mL of distilled water, 1 mL of Folin-Ciocalteu reagent and 10 mL of 7% sodium carbonate. After 90 min, the solution absorbance was measured at 765 nm wavelength against a blank consisting distilled water and Folin-Ciocalteu reagent. The total phenolic content was expressed as gallic acid equivalent (GAE) using calibration curve. Data was analyzed using ANOVA with SPSS for Windows release 21.

2. Bioactivity tests methods

Extract of methanol from *E scaber* leaves were tested on *Spodoptera litura*, with five different concentrations (K1 = aquades, K2 = 6%, K3 = 8%, K4 = 10%, K5 = 12%). Response variables were mortality percentage and anti-feeding activity of *Spodoptera litura*. Bioactivity test methods were: Leaves were placed in a prepared container, and *S. litura* instar two were placed above the leaves. 0,2 mL of methanol extract were given. The container was sealed and observed daily for 7 days. The parameters are mortality of larva (amount of individual death per day) and anti-feeding activity, which is obtained from eaten leaves, measured after 72 hours. Leaves were taken and its consumed weight was measured. Mortality was observed every 24 hours. Data was analyzed using ANOVA with SPSS for Windows release 21.

RESULT AND DISCUSSION

a. Phenolic compounds level

The results of the analysis of phenolic compounds level in *E.scaber* showed that the highest levels of gallic acid contained in *E.scaber* grown in the middle-altitude land, followed by *E.scaber* grown in lowlands and the lowest is in the highlands. While the extract in solvent methanol had higher phenolic compounds level compared with ethyl acetate fraction, butanol fraction and water fraction, as shown in table 1.

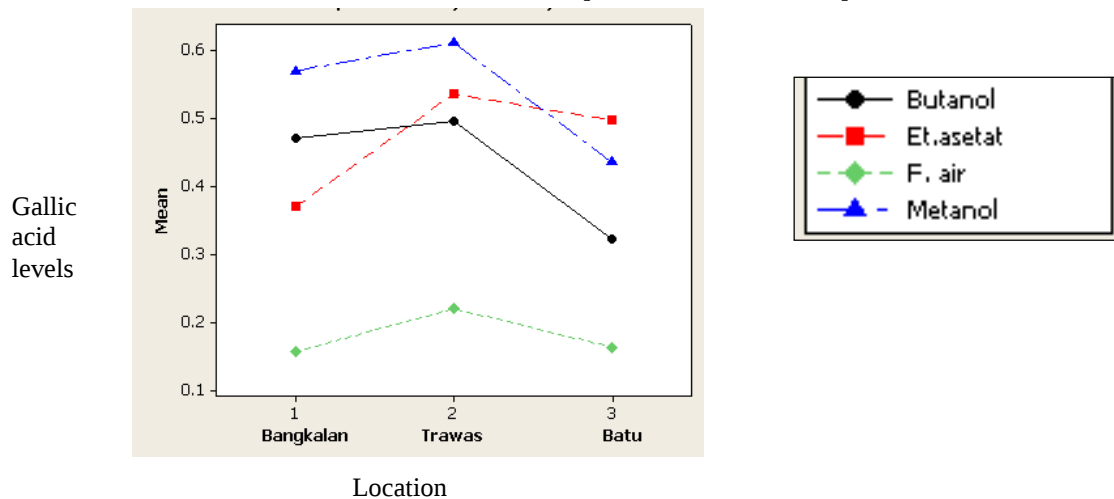
Table 1. Average of phenolic compounds level in *Elephantopus scaber* in three locations

Altitude	Methanol Extract	Ethyl Acetate Fraction	Butanol Fraction	Water Fraction	Phenol Average mg/mL
Lowland	0,570±0,0265	0,370±0,0237	0,471±0,0105	0,156±0,0230	0,392±0,1609a
middle-altitude land	0,611±0,0095	0,536±0,00346	0,495±0,0324	0,220±0,0202	0,466±0,1553b

Highland	0,435±0,0338	0,497±0,00346	0,322±0,0324	0,163±0,0303	0,354±0,1349c
Average	0,539±0,0826a	0,468±0,0764b	0,429±0,0843c	0,180±0,0371d	0,404±0,1537

Results of analysis of variance showed that there was significant mean difference between the gallic acid content of *E. scaber* in three locations (23.558 F count > F table 3.402). Tukey test results showed that the highest levels of gallic acid were obtained from *E. scaber* grew in the middle-altitude land (Trawas), while the lowest levels of gallic acid were in the highlands (Batu) as shown in Table 1.

In addition, the difference of extract solvent (methanol, ethyl acetate, butanol and water fraction) against the gallic acid levels in *E. scaber* were also tested. Results of analysis of variance showed that there are different levels of gallic acid significantly between methanol, butanol, ethyl acetate and water fraction (F count 392.013 > F table 3.008). Tukey test results showed that the fraction of water, butanol, ethyl acetate and methanol significantly were significantly different. Methanol fraction has the highest levels of gallic acid while gallic acid concentration was lowest for the water fraction. Plot interaction between elevation habitats and solvents extract compounds were showed in picture 1.



Picture 1. The plot of interaction between locations with solvent extraction plants gallic acid in *E. scaber*. Description: Bangkalan=lowlands; Trawas=middle-altitude lands; Batu=highlands

Based on the interaction plot, it was showed that butanol in *E. scaber* have maximum levels of gallic acid in the Trawas area, and the lowest gallic acid with butanol solvent contained in Batu. Water fraction in *E. scaber* had highest gallic acid levels in Trawas area and lowest in Bangkalan area. Methanol in *E. scaber* had highest gallic acid levels in Trawas area and lowest gallic acid methanol in Batu area. Ethyl acetate in *E. scaber* had highest gallic acid levels in the Trawas area and lowest in Bangkalan.

b. *Spodoptera litura* mortality

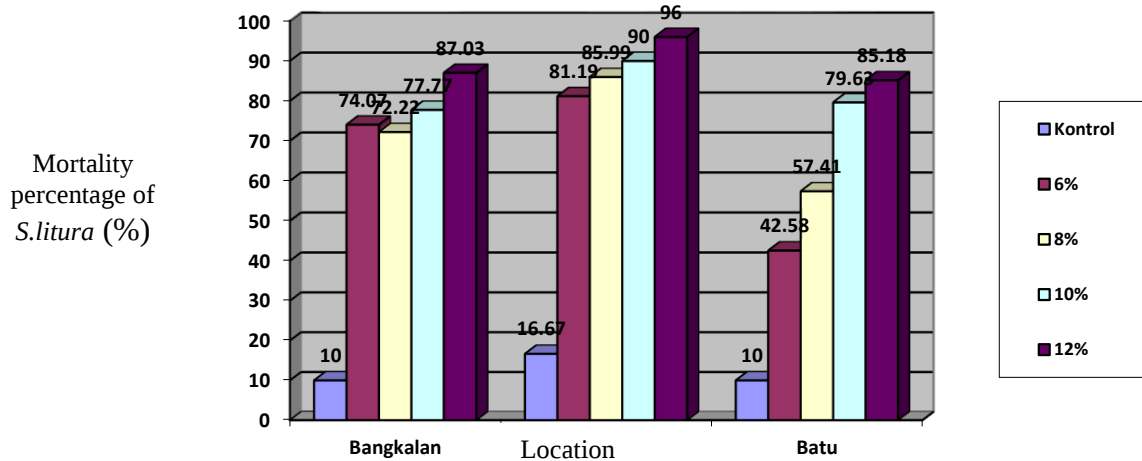
The mortality percentage of *Spodoptera litura* is showed in Table 2. In the methanol extract of *E. scaber*, it was seen that the concentration of 12% showed the best concentration in the resulting mortality of *Spodoptera litura*. Nevertheless, the concentration of 6% of *E. scaber* extract from middle-altitude areas was able to cause mortality in *S. litura* > 80%. Picture 2 showed that the extract of *E. scaber* obtained from Trawas area was more inhibiting than the extracts from Bangkalan area or Batu area.

Table 2. Average mortality percentage of *Spodoptera litura* treated by various concentration of *E. Scaber* in various location

Extract concentration	Average mortality % of <i>Spodoptera litura</i> treated by <i>E. scaber</i> extract from various location		
	7 days		
	Lowlands	Middle-altitude lands	Highlands
0%	10,00±6,30	16,67±10,3	10,00± 6,30
6%	74,07±8,10	81,19±8,30	42,58±14,7
8%	72,22±20,7	85,99±7,52	57,41±16,3
10%	77,77±0,00	90,00±7,52	79,63±14,7
12%	87,03±7,50	96,00±5,20	85,18±8,16

The analysis showed differences in the average significantly among *E. scaber* extract concentrations (0%, 6%, 8%, 10% and 12%) for mortality of *S.litura* larvae with F count(154.961) > F table(2,493). Similarly, there are differences in the average mortality *S.litura* treated by *E. scaber* extracts from Bangkalan, Trawas and Batu, with Fcount (20.515) > Ftable (3.11). In addition there is a significant interaction between habitat extract with a concentration of the extract against *S. litura* larvae mortality (F count 2.875> F tabel 2.064).

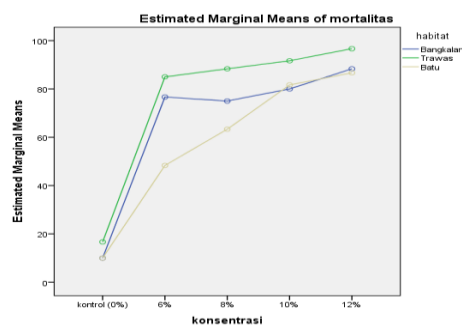
Tukey test showed that the rate of mortality of *S. litura* with *E. scaber* extract from the Batu differ significantly from the mortality of *S. litura* were given extracts of *E. scaber* of Trawas and Bangkalan. Besides mortality *S.litura* fed extracts of Bangkalan and Trawas also differ significantly. Mortality of larvae of *S. litura* by the plant extract of *E. scaber* Trawas area tended to be higher with an average mortality rate of 75.67%. Tukey test also showed that the extract concentration of 0% has a mortality rate that was significantly different with mortality in the extract at a concentration of 6%, 8%, 10% and 12%. Mortality of *S.litura* by giving concentration 6% were equal to mortality at a concentration of 8%.



Picture 2. Average mortality percentage of *Spodoptera litura* treated by various concentration of *E. Scaber* in various location

E. scaber extract given at a concentration of 8% had the same mortality rate with mortality at a concentration of 10%, but extract given at a concentration of 10% was different with mortality at a concentration of 6%. *E. scaber* extract given with a concentration of 10% has the same mortality rate with mortality at a concentration of 12%, but extract given at a concentration of 12% was different rent compared to mortality at a concentration of 10%.

Based on the analysis of variance and Tukey test, interaction plot was conducted to determine habitat and concentration of *E. scaber* extract on mortality of *S. litura*, showed in Figure 3.



Picture 3. Interaction plot between concentration and habitat of *E. scaber*

From the plot interaction, it was known that mortality of *S.litura* was lowest at a given concentration of the extract 0%. The higher the concentration of *E. scaber* extract, the mortality of larvae *S. litura* also increased and it occurs in all three sampling sites leaves. *S.litura* mortality was highest in *E. scaber* extract which leaves taken from Trawas (middle-altitude lands), followed by Bangkalan (lowlands) and mortality is the lowest of the extract derived from the Batu (highlands).

c. Probit Analysis (LC₅₀ and LC₈₀)

Probit analysis on mortality of *Spodoptera litura* by an extract of *E. scaber* was eligible for use in determining the concentration LC₅₀ and LC₈₀ for the level of significance of these two methods is more than 0.05. Based on the goodness of

fit, values of chi-square were obtained from the Pearson method with each deviance of 18.7736 and 19.2156 with a significance level of 0.065 and 0.057. Based on the results of probit analysis, it can be seen that the appropriate concentrations to kill the larvae of *S. litura* were 50% and 80%. The results are shown in Table 3 and 4 below.

Table 3. LC₅₀ result on *Spodoptera.litura* given with *E. scaber* extract

Habitat	LC ₅₀ extract concentration	Standard Error	Interval Confident
Lowlands (Bangkalan)	4.89781	0.428999	4.01643 - 5.71462
Middle-altitude lands (Trawas)	2.88542	0.484642	1.88369 - 3.80263
Highlands (Batu)	6.3041	0.395232	5.50081 - 7.06479

Based on Table 3, it can be explained that the extract of *E. scaber* from Bangkalan area with a concentration of 4.01643% was able to kill 50% of larvae with a concentration range between 2.44738% to 5.71462%. *E. scaber* extract from Trawas areas with a concentration of 2.88542% was able to kill the larvae of 50% with a concentration range between 1.88369% to 3.80263%. *E. scaber* extract from Batu area with a concentration of 6.3041% was able to kill the larvae of 50% with a concentration range between 5.50081% to 7.06479%. As for LC₈₀ mortality of *Spodoptera litura* from *E. scaber* extract can be seen in the following table:

Table 4. LC₈₀ result on *Spodoptera.litura* given with *E. scaber* extract

Habitat	LC ₈₀ extract concentration	Standard Error	Interval Confident
Lowlands (Bangkalan)	8,654	0,433668	7,83198 – 9,54897
Middle-altitude lands (Trawas)	6,64162	0,468767	5,74060 – 7,59563
Highlands (Batu)	10,0603	0,425807	9,26425 – 10,9513

Based on Table 4, it can be explained that the extract of *E. scaber* obtained in Bangkalan area with a concentration of 8.654% was able to kill the larvae of 80% concentration range between 7.83198% to 9.54897%. *E. scaber* extract from Trawas areas with a concentration of 6.64162% was able to kill the larvae of 80% with a concentration range between 5.74060% to 7.59563%. *E. scaber* extract from Batu areas with a concentration 10.0603% was able to kill the larvae of 80% with a concentration range between 9.26425% to 10.9513%.

d. Anti-feeding activity of *Spodoptera litura*

Table 5. Average Anti-feeding activity of *Spodoptera litura* treated by various concentration of *E. Scaber* in various location after 72 hours

Concentration	Average Anti-feeding activity of <i>Spodoptera litura</i> treated by various concentration of <i>E. Scaber</i> leaf extract (%)		
	<i>E. scaber</i> Bangkalan	<i>E. scaber</i> Trawas	<i>E. scaber</i> Batu
0%	0±2,2	0±1,2	0±1,8
6 %	42,74±4,67	43,03±3,7	41,95±3,53
8 %	44,32±5,15	44,41±7,3	43,72±4,08
10 %	55,68±5,76	53,7±7,28	59,65±5,49
12 %	63,24±5,42	62,31±4,06	68,32±4,26

Test analysis of variance of two factors (concentration and variety of places) showed that there are differences in average significantly between giving *E. scaber* extract concentrations (0%, 6%, 8%, 10% and 12%) of the anti-feeding activity of *S. litura* larvae with Fcount (498.908) > Ftable (2.4936). The real difference occurs in the treatment concentration of 0%, 10% and 12%, while the concentration of 8% and 6% did not differ significantly. But there was no difference of anti-feeding activity of *S.litura* given *E.scaber* extract from Bangkalan, Trawas and Batu, with F count (1505) < Ftable (3.11). Additionally, that anti-feeding activity was lowest at extract concentration 0%, when the

concentration of *E. scaber* extract increased, the activity of anti-eating larvae of *Spodoptera litura* also increased in three locations.

DISCUSSION

E. scaber levels of phenolic compounds showed that the leaf area of the sampling location affected levels of phenol produced. Phenol in the middle-altitude lands was higher than the lowlands and highlands. The diversity of secondary metabolites in plants is showed, which is caused by the interaction between plants with changing environment, producing a variety of compounds to defend himself against the abiotic and biotic environment. Secondary metabolites are the result of the metabolic adaptation of plants to the environment. Plant secondary metabolites protect against a variety of herbivores and pathogens and various abiotic stresses (Mazid *et al.*, 2011).

Levels of phenolic compounds contained by the plant were also shown to be effective when used as a biopesticide. The results showed that there are significant differences in the average mortality of *S. litura* between *E. Scaber* extract from the Bangkalan, Trawas and Batu, and there is a significant interaction between the concentration of the extract and the location of samples collected from the leaves in the mortality of *S. litura*.

The results showed that *E. scaber* which has the largest content of phenolic compounds also have a high effectiveness as a biopesticide. *E. scaber* were able to cause mortality in *Spodoptera litura* at 81.19 - 96% at a concentration of 6-12%, with concentrations can cause death *Spodoptera litura* 50% (LC₅₀) was 2.88% while the causes of mortality of 80% (LC₈₀) is a concentration of 6.64%. This shows that there is a relevance level of phenolic compounds with its effectiveness as a biopesticide.

Phenol compound entered into the insect body through direct contact with body parts of insects. Contact poison has the power to kill that fast after contact with the insect body parts. The penetration of chemicals into the body of the insect through epicuticle cause damage to the wax cuticle, causing water loss and resulted in death (Cottrell, 1987). Phenol compounds can also cause cell plasmolysis because it can precipitate cell membrane proteins. Damage to the cell membrane also caused by phenol compound capability of lowering the surface tension of the membrane on the larvae cell wall. The formation of pores in the cell walls facilitates the toxic compounds to enter the cell and disrupt larvae metabolism.

Contact toxic effects on the larvae caused the movement of test larvae became sluggish, body shrink and eventually die. Another symptom is the decreased larval feeding activity, this condition indicated that the larvae run out of energy due to the formation of energy metabolism are inhibited due to the provision of the phenolic compounds, that interfere with the growth and the larvae would eventually die.

Barriers metabolism, one of which occurred in the process of respiration where the presence of phenolic compounds can inhibit the activity of Fe-cytochrome oxidase enzyme in the process of oxygen uptake for respiration. It also inhibits electron transport process by blocking the binding of NADH to coenzyme Q (ubiquinone), if the electron transport process hampered will also inhibit the formation of ATP (Coloma *et.al*, 2002).

Phenol compounds can also act as a stomach poison, by influencing the activity of protease and amylase enzymes that degrade the ability to digest food in the larvae, so the larvae will experience nutritional deficiencies. Phenolic compounds will also be entered into the network under integument towards the target area the cells neuro-secretory, then went into the corpora cardiac via axonal transport. In the corpora cardiac, active compounds would inhibit the gland prothorax to excrete alpha ecdysone (molting hormone) into hemolymph, when the secretion of alpha ecdysone disrupted, the beta-ecdysone was also disrupted, resulting in inhibition of the formation of the new cuticle, so the old cuticle will remain attached to the body of the insects that cause insect body cannot develop and grow into adult insect (Baskar *et al.*, 2010).

The active compounds also affect the regulation of the juvenile hormone neuroendocrine of corpora cardiac, continue to enter the corpora alata through nerve connections. These compounds will inhibit the formation of a juvenile hormone that affects metamorphosis, secretion of a juvenile hormone in the blood of adult characteristics pressing function by maintaining the structure of the juvenile. If the content of juvenile hormone in the blood was high, it will undergo molting to be insects but will survive in the same form in the next stage. At a critical stage of growth, juvenile hormone decreases, and after the next molting insects change forms that have been genetically programmed. The process of growth and development of the mouth are controlled by three very important enzymes, those are: brain hormone, ecdysone, and juvenile hormones.

The mechanism of phenolic compounds in disrupting cellular physiological process is its role as anticholinesterase on nerve cells in the respiratory channel. Anticholinesterase cause cholinesterase enzyme phosphorylated and activated, resulting in the degradation of acetylcholine and process barriers to the accumulation of acetylcholine at synapses gap. Furthermore, an increase in the excitatory transmission that causes respiratory muscles to contract continuously causing respiratory muscle spasm and causes the death of larvae.

The use of secondary metabolites may result in larval mortality due to interrupt the flow of Na⁺ (sodium) in the nerve cells and neurotransmitters at the synapse. The active compounds in the nerve will extend the Na⁺ ions flow into the membrane by slowing or blocking the channel cover. If slowing down the nerves in a state of depolarization long enough, so that the Na⁺ ions will enter into the membrane, it will cause symptoms of seizures and tremble. If the active compounds block the closure of the channel, then the membrane will be an excess of Na⁺ ions which eventually became inactive nerves. Inactivity is because the nerves are nerves positive and difficult to repolarization (back to its original state). Symptoms showed is paralysis.

The existence of active compound at the synapse will disturb the chemical transmitter is acetylcholine (ACh). The active compound will increase ACh and inhibit the enzyme (acetylcholinesterase) to break ACh. Acetylcholine function is to provide permeability properties of the membrane postsynaptic which causes the displacement of Na⁺ ions, causing depolarization. ACh will be hydrolyzed by the enzyme acetylcholinesterase, which presents in large amounts in the synapse. With the active compounds, enzymes cannot break down ACh chemical transmitter, so ACh will continue to increase as a result of the membrane excess positive ions, so that the larvae will suffer paralysis and death (Renault, 1997). The active compounds in plants, such as coumarin, phenols, terpenoids, polyphenols, saponins, alkaloids known to have an effect as anti-feeding compound and growth inhibitor in insects, which in turn resulted in chronic larval toxicity and die (Lakshmanan *et al.*, 2012; Baskar *et al.*, 2010).

CONCLUSION

Contents of phenolic compounds (GAE) of *E. scaber* in middle-altitude land (0,466 mg/mL) was higher than *E. scaber* grown in lowlands (0,392 mg/mL) and highland (0,354 mg/mL). Phenolic compounds founds were mostly semi-polar showed by the largest total phenol of ethyl acetate fraction. Bioactivity test results showed that *E. scaber* grown on middle-altitude land caused mortality on *Spodoptera litura* instar 2 by 81,19 – 96%, with LC₅₀ = 2,88 % and LC₈₀ = 6,64%.

ACKNOWLEDGMENT

The author would like to thank all the laboratory staff of Biology Laboratory, Biology Department, Mathematic and Natural Sciences Faculty, Universitas Negeri Surabaya, and Ministry of Research Technology and Higher Education.

REFERENCES

- Baskar, K.R. Maheswaran, S. Kingsley, S. Ignacimuthu. 2010. Bioefficacy of *Couroupita guianensis* (Aubl) against *Helicoverpa armigera* (Hub. (Lepidoptera:Noctuidae) Larvae. *Spanish Journal of Agricultural Research* 8(1):135-141.
- Cottrell, H.J. 1987. *Pesticides on Plant Surfaces*. New York: Society of Chemical Industry.
- Coloma, A. G. Ana G, Concepcion D.I., Rafael M.D., Diego C. 2002. Selective Action of Acetogenin Mitochondrial Complex I Inhibitors. *Naturforsch* 57c : 1028-1034.
- Dadang. 1999. Insect Regulatory Activity and Active Substances of Indonesia Plant Particularly to the Diamondback Moth (**Disertasi**). Tokyo: Tokyo University of Agriculture.
- Dorman, H.J.D., Hiltunen R. 2004. Fe(III) reductive and free radical-scavenging properties of summer savory (*Satureja hortensis* L.) extract and subfractions. *Food Chemistry* 88: 1887-1892
- Lakshmanan, S.K. Krishnappa, K. Elumalai. 2012. Certain Plant Essential Oils Against Antifeedant Activity of *Spodoptera litura* (Fab.), *Helicoverpa Armigera* (Hub.) and *Acheae Janata* (Linn.) (Lepidoptera:Noctuidae). *International Journal of Current Life Sciences*. 2 (1):5-11.
- Lambers, H., F. Stuart Chapin, Thijs L. Pons. 1998. *Plant Physiological Ecology*. New York: Springer-Verlag.
- Li, Wang, Shuguang Jian, Peng nan, Yang Zhong. 2004. Chemical Composition of the Essential Oil of *E. scaber* from Southern China. *Naturforsch* 59c : 327-329.
- Mazid, M, Khan TA, Mohammad F. 2011. The role of Secondary Metabolites in Defense Mechanisms of Plants. *Biology and Medicine* 3 (2): 232-249
- Metcalf, R.L. 1986. The Ecology of Insecticides and The Chemical Control of Insects (Kogan M, editor) Ecological Theory an Integrated Pest management Practice. New York: J Wiley.
- Mohan, V.R., P. Chenturpandy and Kalidass. 2010. Pharmacognostic and Phytochemical Investigation of *E. scaber* L. (Asteraceae). *Journal of Pharmaceutical Science and Technology* 2(3) 191-197.
- Olofsdotter, M. 2001. Rice-aStep Toward Use Allelopathy. *Agron J*. 93:3-8.
- Ozgen, U., Ahmet Mavi, Zeynep Terzi, Maksut Coskun, Ali Yildirim. 2004. Antioxidant Activities and Total Phenolic Compound Amount of Some Asteraceae Species. *Turkish J. Pharm, Sci.* 1(3), 203-216.
- Pavela, R. 2011. Screening of Eurasian Plant for Insecticidal and Growth Inhibition Activity Against *Spodoptera litura* larvae. *African Journal of Agricultural Research* 6 (12): 2895-2907
- Pedigo, L.P. 1989. *Entomology and Pest Management*. New York : Macmillan Publishing Company.
- Prakash, A., Rao J. 1997. *Botanical Pesticides in Agriculture*. New York:: Lewis pub.
- Singleton, V.L., Orthofer R.M. and Ramuela-Raventos R.M. 1999. Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by means of Folin Ciocalteu Reagent. *Methods Enzymol.* 299:152-178.
- Stanojevic, Ljiljana, Mihajo Stankovic, Vesna Nikolic, Ljubisa N, Dusica R, Jasna C, Vesna T. 2009. Antioxidant Activity and Total Phenolic and Flavonoid Contents of *Hieracium pilosella* L. *Extract. Sensors* 9 :5702-5714.
- Vanhaelen, M.J. Lejoly, Mhanocq and L. Molle. 1991. Climate and Geographical Aspect of Medicinal Plant Constituents. *The Medicinal Plant Industry*. 2 (1): 59-76.
- Wan Yong Ho, Huynh Ky, Swee Keong Yeap, Raha Abdul Rahim, Abdul Rahman Omar, Chai Ling Ho and Noorjahan Banu Alitheen. 2009. Traditional Practice, Bioactivities and Commercialization Potential of *E. scaber* Linn. *Journal of Medicinal Plants Research*. 3(13):1212-1221.
- Wink, Michael. 2010. Biochemistry of Plant Secondary Metabolism. Annual Plant Review. Vol 40. Heidelberg: Wiley-Blackwell.
- Yuliani, Soemarno, Bagyo yanuwiaad Amuin Setyo Leksono. 2015. Total Phenolic and Flavonoid Content of *Pluchea indica* Less. Leaves Extracts from Some Altitude habitats, *International Journal of Chem Tech Research*. 8(4):1618-1625



TOTAL PHENOLIC AND FLAVONOID CONTENTS OF ASTERACEAE LEAVES
EXTRACTS FROM VARIOUS ALTITUDE HABITATS

Yuliani ¹

¹*Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences,
Universitas Negeri Surabaya, Indonesia*

Corresponding author: yuliani.ap@gmail.com

ABSTRACT

The aims of the study was to quantitatively analyze the phenolic and flavonoid content of three kinds of plants from Asteraceae family, those are *Pluchea indica*, *Ageratum conyzoides*, and *Elephantopus scaber*, on three different habitats which differ on the altitudes (lowland 28.3 - 31.72 meters above sea level, middle land 727 – 937 m asl, and highland 1303 – 1322 m asl). The simplicia of Asteraceae leaves were macerated and extracted with methanol, ethyl acetate, aquades and n-butanol. The total phenolic (gallic acid/GAE) and flavonoid (quercetin/QE) contents were determined using UV-VIS spectrometer. The results were then analyzed by two-way ANOVA. The results showed that the total phenolic content of *P. indica* from lowland was 1.76 ± 0.04 mg/mL. It was higher than that from the middle land (1.45 ± 0.03 mg/mL) and highland (1.21 ± 0.04 mg/mL). The total flavonoid content from three habitats were not significantly difference (3.1 ± 0.1 mg/mL). The total phenolic contents of *A. conyzoides* in middle land (1.66 ± 0.1 mg/mL) was higher than those from highland (1.30 ± 0.03 mg/mL) and lowland (1.25 ± 0.02 mg/mL). The total flavonoid of *A. conyzoides* in highland (3.2 ± 0.06 mg/g dry weight) was higher than that growing in middle land (2.9 ± 0.0 mg/g dry weight) and in lowland (2.6 ± 0.06 mg/g dry weight). The total phenolic (1.86 ± 0.03 mg/mL) and flavonoid (3.4 ± 0.06 mg/mL) contents of *E. scaber* in middle land was higher when compared to those from the lowland and highland. The highest phenolic content was found in methanol extract, and the highest flavonoid content was found in ethyl acetate fraction of Asteraceae.

Keywords: Asteraceae, total phenolic content, total flavonoid, leaves extracts, altitude habitat

Introduction

Plants are able to produce secondary metabolites such as phenolic compounds, alkaloids, terpenoids, and sulfur compounds as defense mechanism against pests (Lambers *et al.*, 1998). Asteraceae can be found widely, with over 20,000 species and more than 1100 genera (Cronquist, 1997). Asteraceae has a broad diversity of phytochemicals, including pyrethrum, triterpenoids, polyphenol, saponins, coumarin and flavonoids (Ozgen *et al.*, 2004). Research on phenol compounds have been conducted on various plants in the Asteraceae. The results showed that phenolic compounds can be found in many Asteraceae members and its contents are quite large,

so it can be used as indicator of secondary metabolites presence in Asteraceae that are located in different habitats.

Research on *Anaphalis contorta* Hook. f. from Asteraceae family grew in 1500-4500 m asl was identified to contain phenolic compounds: syringic acid, vanillic acid, p-hydroxybenzoic acid, ferulic acid, protocatechuic acid, gallic acid, p-coumaric acid and 3,5-dihydroxybenzoic acid. Phenolic compounds act as antioxidant, anti-aging, anti-inflammation, and inhibit cell proliferation activity (Joshi, 2011). Phenol compounds of *Rhagadiolus stellatus* had been investigated by Krimplstatter *et al.* (2011) and the results showed that these plants contain flavonoid kaempferol 3-O- β -glucoside, quercetin 3-O- β -glucoside, and luteolin. It also contains chlorogenic acid and 3,5-acid dicaffeoylquinic. Riedel *et al.* (2010) conducted a study of phenolic compounds from *Artemisia frigida* and *Sylybum marianum*, the results showed that *Sylybum marianum* contained a total phenol 255.8 $\mu\text{mol/g}$ dry weight, while *Artemisia frigida* contained 173.9 $\mu\text{mol/g}$ dry weight. Total phenolic acid content were seen from vanillate, chlorogenic acid, caffeic acid, coumarin acid, ferulic acid, and cinnamic acid. It is said also that the phenolic compounds act as attractant, repellent and protection of plants against insects, fungi, bacteria and viruses. Research on *Crassocephalum crepidioides* (Benth.) S.Moore. using ethanol extract was analyzed with phenol contained at 422.22 mg/g (gallic acid) and flavonoids at 3.46 mg/g (quercetin) (Wijaya, 2011). Research on *Hieracium pilosella* L. indicated that the plant phenolic compounds contained a total of 239.59 to 244.16 mg/g (chlorogenic acid) and flavonoids from 79.13 to 82.18 mg/g (Stanojevic *et al.*, 2009).

Pluchea indica, *Ageratum conyzoides*, and *Elephantopus scaber* are members of Asteraceae which known to contain active ingredients so that people use those plants as medicine and natural pesticide. *Pluchea indica* is a perennial plant, and is known to contain secondary metabolites such as alkaloids, flavonoids, phenols hydroquinone, tannins, and essential oils. The other contents of the genus *Pluchea* are terpenes, benzenoid, phenylpropanoid, lignin, and steroids (Luger, 2000; Traithip, 2005). *Pluchea* are also known to have antioxidant activity and anti-inflammatory. In addition, it contains tannins, alkaloids, flavonoids, and hydroquinone (Sen *et al.*, 1993; Andarwulan, 2010). *Ageratum conyzoides* is a plant used to control locusts (Grainge and Ahmed, 1988). It contains secondary metabolites of saponins, polyphenols, coumarin, eugenol, essential oils, alkaloids, tannins, and sulphur. Renuga and Sahayaraj (2009) in their study to see the effect of the ethanol extract of the genus *Ageratum* resulted in decreasing total

protein of *Spodoptera litura* at a concentration of 0.01 μL /insects. *Elephantopus scaber* grows wild and can be found from the lowlands to an altitude of 1200 m asl. *E. scaber* leaf has medicinal properties and produce secondary metabolites containing alkaloids, tannins, phenols, proteins, glycosides, saponins, terpenoids and steroids. It also contains epifriedelinol, lupeol, stigmasterol, lupeol acetate, deoxyelephantopin, isodeoxyelephantopin, and luteolin-7-glucosida, which act as antimicrobial (Wan Yong Ho *et al.*, 2009).

Plant secondary metabolites are formed in attempt to defend themselves from ecosystem. The content of secondary metabolites in plants are affected by the environment such as altitude, rainfall, and temperature (Vanhaelen *et al.*, 1991). The environmental factors interact with genetic factors in the expression of secondary metabolites, so that the production and excretion of secondary metabolites is affected by temperature, light, soil, microorganisms, and nutrient status (Olofsdotter, 2001). Inderjit and Keating (2003) reported that the content of secondary metabolites (allelochemicals) varies from one location to another and from time to time. Content variations are related to variations in climate and soil conditions such as air and soil temperature and soil moisture. It was also explained by Mazid *et al.* (2011) that stress caused by biotic and abiotic factors affected the production of secondary metabolites, and generally tended to increase the production of secondary metabolites.

Based on above reasons, this study aims to measure the content of phenolic compounds in plants of the Asteraceae (*Pluchea indica*, *Ageratum conyzoides* and *Elephantopus scaber*) in various habitats (altitude), those are in the lowlands (3-50 m asl), middle land (700-900 m asl) and highland (>1300 m asl). Asteraceae was chosen because it generally contains phenolic compounds, easy to grow in all places from the lowlands to the highlands (up to 1500 m asl) and easily cultivated, so the range of distribution is very wide. In addition, Asteraceae are usually used as herbal medicine or natural pesticides. Therefore, if the plants are cultivated, it must be adapted to the habitat so that the content of secondary metabolites can be produced optimally. Information about the potential diversity of secondary metabolites is a consideration in plant cultivation.

Materials and Methods

Plant material used

The leaves of *Pluchea indica*, *Ageratum conyzoides*, and *Elephantopus scaber* were obtained from three different altitude areas: The sampling locations are Bangkalan 28.3-31.72 m asl (E112.763368; S-7.021999) for lowland sampling, Trawas 727-937 m asl (E112.59425; S-7.681328) for middle land sampling, and Bumiaji 1303-1322 m asl (E112.517002; S-7.804258) for highland sampling. Leaves then wind-dried and powdered (40 mesh).

Extraction and fractionation method

The leaves of *P. indica*, *A. conyzoides*, *E. scaber* were extracted by modifying Dorman and Hiltunen procedure (2004). The leaves powder were macerated with petroleum ether (1:4 w/v) at room temperature for 2 hours. Then dried residue was extracted with methanol (1:15 w/v) using soxhlet extraction at a temperature of 65°C for 3 hours. Methanol solvent was evaporated with rotary evaporator. The extract was fractionated with ethyl acetate and water solvents (1:1 v/v). Then water phase was fractionated again with n-butanol solvent (1:1 v/v). The ethyl acetate fraction, n-butanol fraction and water fraction were lyophilized by evaporating the solvent with a rotary evaporator. Each extract and fractions were stored at 4° C until subsequent analysis, respectively.

Total Phenolic Contents

The total phenolic contents of *P. indica*, *A. conyzoides*, *E. scaber* extracts were determined using spectrometer according to Folin-Ciocalteu method (Singleton *et al.*, 1999 and Stanojevic *et al.*, 2009). Gallic acid was used as a standard (the concentration range 0.125 to 0.625 mg/mL). The reaction mixture was prepared by mixing 1 mL of the methanol solution of the extract, 9 mL of distilled water, 1 mL of Folin-Ciocalteu reagent and 10 mL of 7% sodium carbonate. After 90 minutes, the solution absorbance was measured in 765 nm wavelength against a blank consisting distilled water and Folin-Ciocalteu reagent. The total phenolic content was expressed as gallic acid equivalent (GAE) using calibration curve.

Total Flavonoid Contents

The total flavonoid content was determined according to the aluminium chloride colorimetric method, as described by Kumar *et al.* (2008). Sample (1 mL) was mixed with 4 mL of distilled water and added with 0.3 mL of a 5% NaNO₂ solution (w/v). After 5 minutes, added with 0.3 mL of 10% AlCl₃ solution (w/v). After 6 min, the mixture was added with 2 mL of 1 mol/L NaOH

and diluted to a total of 10 mL. The absorbance of the supernatant solution was measured at 352 nm against a methanol blank. The total flavonoid content was determined as quercetin equivalent (QE) using calibration curve.

Results and Discussion

Research data included total phenol content and total flavonoid content of *P. indica*, *A. conyzoides* and *E. scaber* and phenol and flavonoid content to various solvent and fractions. The results of the use of solvent extracts and fractions (methanol, ethyl acetate, butanol and water) to phenol and flavonoid mg/mL of Asteraceae plants as shown in Table 1 and Table 2.

Table 1. The solvent extracts and fractions (methanol, ethyl acetate, butanol and water) to phenols level mg/mL in Asteraceae

Plant name/ Altitude Habitat	Phenols level mg/mL using solvent			
	Methanol Extract	Ethyl Acetate Fraction	Butanol Fraction	Water Fraction
<i>P.indica</i>				
Lowland	0,421±0,003	0,475±0,011	0,485±0,032	0,382±0,027
Middle land	0,365±0,010	0,400±0,335	0,356±0,103	0,335±0,013
Highland	0,298±0,009	0,362±0,024	0,219±0,046	0,333±0,016
<i>E. scaber</i>				
Lowland	0,570±0,027	0,370±0,024	0,471±0,011	0,156±0,023
Middle land	0,611±0,009	0,536±0,003	0,495±0,032	0,220±0,020
Highland	0,435±0,034	0,497±0,003	0,322±0,032	0,163±0,030
<i>A. conyzoides</i>				
Lowland	0,518±0,058	0,366±0,037	0,180±0,022	0,193±0,017
Middle land	0,536±0,067	0,445±0,024	0,417±0,019	0,264±0,059
Highland	0,432±0,013	0,382±0,005	0,249±0,019	0,239±0,009

Table 2. The solvent extracts and fractions (methanol, ethyl acetate, butanol and water) to flavonoids level mg/mL in Asteraceae

Plant name/ Altitude Habitat	Flavonoids level mg/mL using solvent			
	Methanol Extract	Ethyl Acetate Fraction	Butanol Fraction	Water Fraction
<i>P.indica</i>				
Lowland	0,97±0,057	0,97±0,057	0,64±0,057	0,57±0,057
Middle land	0,77±0,057	0,90±0,000	0,60±0,010	0,73±0,057
Highland	0,87±0,057	0,97±0,570	0,60±0,000	0,73±0,057
<i>E. scaber</i>				
Lowland	0,93±0,057	0,83±0,057	0,80±0,000	0,60±0,000
Middle land	0,83±0,057	0,92±0,000	0,90±0,000	0,80±0,000
Highland	0,87±0,057	0,72±0,057	0,80±0,000	0,70±0,000
<i>A. conyzoides</i>				
Lowland	0,50±0,000	0,73±0,057	0,70±0,000	0,63±0,057
Middle land	0,70±0,000	0,80±0,000	0,80±0,000	0,60±0,000
Highland	0,80±0,000	0,80±0,000	0,90±0,000	0,67±0,057

Analysis of variance showed that there were differences of phenol and flavonoid content amongst methanol, butanol, ethyl acetate and water fraction solvent in *P. indica*, *E. scaber* and *A. conyzoides* (<0,05). As shown in Table 1, it was known that phenols level was the highest in methanol extracts, and lowest in water fraction. Meanwhile for the flavonoid level (as shown in Table 2), ethyl acetate fraction had the highest flavonoids level, followed by methanol extract, butanol fraction and the lowest for the water fraction.

Analysis of variance result (Table 3) determined that there was significant difference of phenol level among three Asteraceae plants and three different altitudes (<0.05). There was a significant interaction between plant species and habitat altitude on levels of total phenols. Plant species that have the maximum phenol levels are plants *E. scaber*, followed by *P. indica*, and *A. conyzoides*..

Table 3. Total phenol and flavonoid levels (mg/mL) of three Asteraceae in various habitat

Plant name	Altitude habitat	Phenol (mg/mL)	Flavonoid (mg/mL)
<i>A. conyzoides</i>	Lowland	1,257±0,02 b	2,6±0,06 c
	Middle land	1,662±0,10 a	2,9±0,00 b
	Highland	1,302±0,03 b	3,2±0,06 a
<i>E. scaber</i>	Lowland	1,566±0,04 b	3,2±0,12 b
	Middle land	1,861±0,03 a	3,4±0,06 a
	Highland	1,417±0,04 c	3,1±0,01 b
<i>P. indica</i>	Lowland	1,763±0,45 a	3,1±0,10 a
	Middle land	1,455±0,03 b	3,0±0,10 a
	Highland	1,212±0,04 c	3,2±0,15 a

Meanwhile, results of analysis of variance showed that there was no difference of flavonoids in *P. indica* grew in lowlands, middle lands and highlands; and there were significant differences between the levels of flavonoids in *E. scaber* and *A. conyzoides* growing in various altitude habitat. There was significant interaction between plant species and habitat altitude on flavonoids level. Plant species that have the maximum levels of flavonoids was *E. scaber*

Chart 1 showed that the levels of phenol in three Asteraceae in the lowlands, middle land and highlands differ significantly. Flavonoids level in Asteraceae in lowlands and middle land differ significantly, whereas at high altitude were not significantly different. As shown in Chart 1, the plant with highest phenol and flavonoids level is *E. scaber* growing in middle lands. Interaction pattern of the plant species with altitude habitat to phenol and flavonoid level is showed in Figure 1. Based on the pattern of spatial variation relationship with all three plants to levels of phenols and flavonoids, we can conclude for the cultivation of: 1) *A. conyzoides*, the lower the area of growing, level of phenol and flavonoid also low, and the higher the area of growing, the levels of phenols and flavonoids produced were also higher, but the plant will have the maximum levels of compounds in middle lands (neither too low nor too high), 2) *P. indica*, the higher the area of growing, the levels of phenols and flavonoids produced were lower, whereas the levels of flavonoids did not show differences in altitude habitat, and 3) *E. scaber*, the higher the area of growing, the levels of phenols and flavonoids produced were lower. Therefore, this plant will have a maximum content of phenols and flavonoids in middle lands (neither too

low nor too high). Thus, the proper location to cultivate the three plants based on phenol and flavonoid, are 1) *P. indica* planted in lowland, 2) *E. scaber* planted in the middle lands, and 3) *A. conyzoides* planted in middle lands. From three Asteraceae plants, *Elephantopus scaber* cultivated in middle lands had higher levels of phenolic compounds compared to the other two plants.

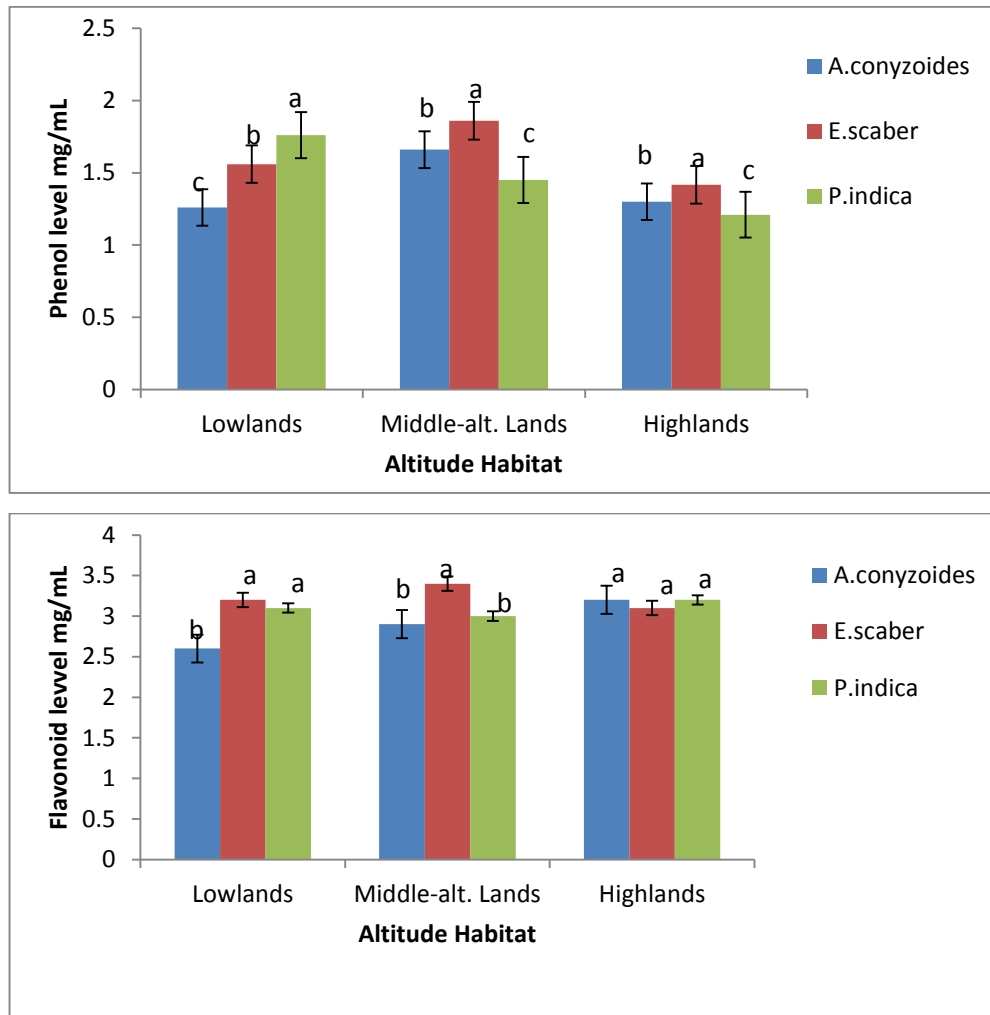


Chart 1. Phenols and Flavonoids level of three Asteraceae in three different habitat.

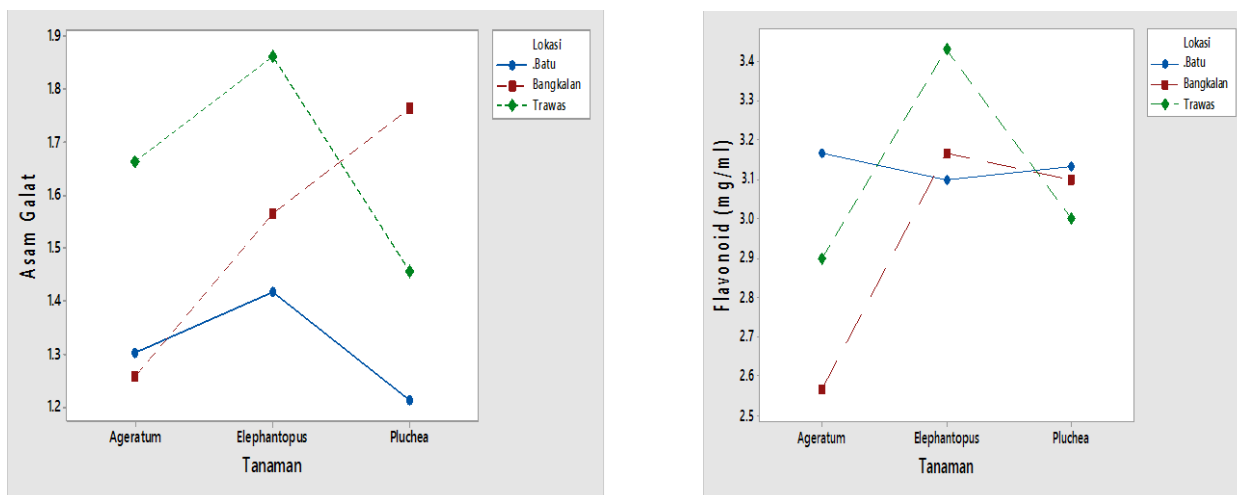


Figure 1. Interaction pattern of the plant species with altitude habitat to phenol and flavonoid level (mg/mL). Note: Bangkalan=lowlands; Trawas=middle lands; Batu=highlands

Discussion

Potential of secondary metabolites (production, persistence, and effectiveness) of an organism and its effects on the target organisms had diversity generally caused by genetic or environmental factors. The influence of environmental factors needs to be emphasized because of their interaction with genetic factors in the phenotypic expression of secondary metabolites. Diversity of secondary metabolites in plants is caused by interaction between plants with ever-changing environment produced a variety of compounds to defend himself against abiotic and biotic environment. Secondary metabolites are the result of metabolic adaptation of plants to the environment. Plant secondary metabolites protect against a variety of herbivores and pathogens and various abiotic stresses (Mazid *et al.*, 2011).

One way of biosynthesis of phenol is catalyzed by phenylalanine ammonia lyase (PAL). PAL is the branching between primary and secondary metabolism, so its catalyzed reaction is an important stage in the formation of many phenolic compounds. PAL activity can be increased due to several factors, such as low levels of nutrients, light, and microbial infections. Control point located on the initiation of transcription. PAL activity regulation in plants is maintained by various PAL coding genes in many species, and some expressed only in certain tissues or under certain environmental conditions (Taiz and Zeiger, 2010 ; Khan *et al.*, 2011). In general, when the plant is stressed, the production of secondary metabolites can be increased because the growth is often inhibited because fixed carbon is not allocated to growth, but allocated to the formation of secondary metabolites (Mooney *et al.*, 1991; Gairola *et al.*, 2010).

The effect of altitude habitat (climate and soil) to the level of secondary metabolites as studied by Jaakola *et al.* (2010) showed that the higher the solar radiation has an impact on secondary metabolite profiles. For example, the production of phenolic compounds increased as a response to increasing UV radiation. Research on *Hypericum perforatum* L. growing under different temperature and light intensities indicated that the accumulation of secondary metabolites is very dependent on temperature, light intensity and phenological cycle. Total phenolic compounds greatly changed during the development phase of plant, and the highest level achieved in flowering phase with the higher light intensity and temperature (Radušienė, *et al.*, 2012). Increased ozone (average 32.4 ppb) can increase total phenol content of the leaves (Savirnata *et al.*, 2010).

Variation of secondary metabolites is related to variations in climate and soil conditions such as air and soil temperature, soil moisture, acidity, organic C and nutrient content, so the altitude habitat that affect environmental conditions would also affect the diversity of secondary metabolites produced. The existence of organic matter in the soil also supports secondary metabolites in plants. The expression of secondary metabolites in the field is influenced by soil texture, nutrients, pH, organic C, soil cultivation techniques and cropping systems. Nitrogen and phosphate deficiency directly affected the accumulation of phenylpropanoids. Potassium (K), Sulfur (S), Magnesium (Mg) and iron (Fe) deficiency can also increase the concentration of phenolic and increase the release of phenolic in nature (Junaedi *et al.*, 2006; Ramakrishna *et al.*, 2011). This was supported also by soil texture data in the middle lands which showed that the clay-textured soil had sufficient levels of organic matter and N nutrient, and C/N ratio 10 were close to C/N soil ratio (Yuliani, *et al.*, 2015). Good soil conditions resulted in optimal growth, and created large secondary metabolite levels in middle areas.

Conclusion

The total phenolic contents of *P. indica* were showed in lowland (1.76 ± 0.04 mg/mL) was found higher as compared to the middle land (1.45 ± 0.03 mg/mL) and highland (1.21 ± 0.04 mg/mL). The total flavonoid contents of *P. indica* were showed no mean difference of lowland (3.1 ± 0.1 mg/mL), middle land (3.0 ± 0.1 mg/mL) and highland (3.2 ± 0.1 mg/mL). The total phenolic contents of *A. conyzoides* in middle land (1.66 ± 0.1 mg/mL) was higher than highland (1.30 ± 0.03 mg/mL) and lowland (1.25 ± 0.02 mg/mL). The total flavonoid on *A. conyzoides* in highland (3.2 ± 0.06 mg/g dry weight) was higher than *A. conyzoides* growing in middle land

(2.9 ± 0.0 mg/g dry weight) and in lowland (2.6 ± 0.06 mg/g dry weight). The total phenolic (1.86 ± 0.03 mg/mL) and flavonoid (3.4 ± 0.06 mg/mL) contents of *Elephantopus scaber* were showed in middle land was found higher as compared to the lowland and highland. The highest phenolic content was found to be in methanol extract, and the highest flavonoid content was found to be in ethyl acetate fraction of Asteraceae

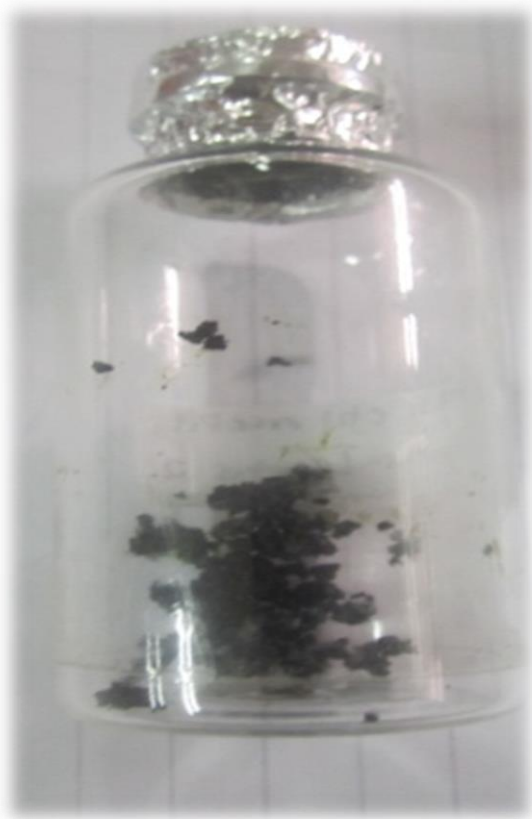
References

1. Andarwulan, N., Flavonoid content and antioxidant activity of vegetables from Indonesia. Food Chemistry, 2010, 12, 1231- 1235
2. Cronquist, A. 1997. *The Evolution and Classification of Flowering Plant*. Kansas: Allen Press.
3. Dorman, H.J.D., Hiltunen R., Fe(III) reductive and free radical-scavenging properties of summer savory (*Satureja hortensis* L.) extract and subfractions. Food Chemistry, 2004, 88, 1887-1892.
4. Gairola, S., Noresah M.S., Arvind B., and Chandra P.K., Influence of Climate Change on Production of Secondary Chemicals in High Altitude Medicinal plants: Issues needs immediate attention. Journal of Medicinal Plants Research, 2010, 4(18), 1825-1829.
5. Grainge, M., and S. Ahmed. 1988. *Handbook of Plants with Pest Control Properties* : New York: John Wiley and Sons
6. Inderjit and Keating K.I., Allelopathy: Principles, Procedures, and Promises for Biological Control. di dalam: Sparks DL (ed) Adv. Agron., 2003, 67, 141-231.
7. Jaakola, L. and Anja H., 2010. Effect of Latitude on Flavonoid Biosynthesis in Plants. Plant, Cell and Environment, 33, 1239–1247.
8. Joshi, R.K., Qualitative Analysis of Phenolic Constituents from Leaves of *Anaphalis Contorta*. International Journal of Natural Products Research, 2011, 1(2), 23-25.
9. Junaedi, A., M. Ahmad Chozin, Kwang H.K., Current Research Status of Allelopathy. Hayati, 2006, 13(2), 79-84.
10. Khan, T.A., Mohd M., and Firoz M., Status of Secondary Plant Product Under Abiotic Stress: an Overview. Journal of Stress Physiology & Biochemistry, 2011, 7 (2), 75-98.

11. Krimplstatter, R., Benjamin MA, Renate Spitaler, Ernst Ellmerer and Christian Zidorn. 2011. Phenolics from Rhagadiolus Stellatus (Asteraceae, Cichorieae). *Scientia Pharmaceutica* 79: 175-179.
12. Kumar, S., Antioxidant and Free radical Scavenging potential of *Citrullus colocynthis* (L.) Schrad. Methanolic fruit extract. *Acta Pharmacology*, 2008, 58, 215-220.
13. Lambers, H., F. Stuart Chapin, Thijs L. P., Plant Physiological Ecology. Springer-Verlag, New York, 1998.
14. Luger, P., The Crystal structure of hop-17(21) en Asetat of P.indicapteropoda Hemsl from Vietnam. *Crystal Res Technology*, 2000, 35(3), 355-362.
15. Mazid, M., Khan T.A, Mohammad F., Role of Secondary Metabolites in Defense Mechanisms of Plants. *Biology and Medicine*, 2011, 3(2), 232-249.
16. Mooney, H.A., Winner W.E., Pell E.J., Response of Plants to Multiple stresses. Academic Press, San Diego, California, USA, 1991.
17. Olofsdotter, M., 2001. Rice-a step toward use allelopathy. *Agron J.*, 93:3-8.
18. Ozgen, U., Ahmet M., Zeynep T., Maksut C., Ali Y., Antioxidant activities and Total Phenolic Compound amount of Some Asteraceae Species. *Turkish J.Pharm.Sci*, 2004, 1(3), 203-216.
19. Radušienė, J., Birutė K., Žydrūnas S., Effect of External and Internal Factors on Secondary Metabolites Accumulation in st. John's wort. *Botanica Lithuanica*, 2012, 18(2), 101–108.
20. Ramakrishna, A., and Gokare A.R., Influence of Abiotic Stress Signals on secondary metabolites in plants. *Plant Signaling & Behavior*, 2011, 6(11), 1720-1731.
21. Renuga, B.F. and K. Sahayaraj. 2009. Influence of Botanical in Total Head Protein of *Spodoptera litura* Fab. *Journal of Biopesticides* 2 (1): 52-55.
22. Riedel, H., Z. Cai, O. Kutuk and I. Smetanska. 2010. Obtaining Phenolic Acid from Cell Cultures of Various Artemisia Species. *African Journal of Biotechnology* 9 (51) pp 8805-8809.
23. Savirnata, N.M., Jukunen-Titto R, Oksanen E., Karjalainen R.O., Leaf Phenolic Compounds in red clover (*Trifolium Pratense* L.) induced by exposure to moderately elevated ozone. *Environmental Pollution*, 2010, 158(2), L440-446.

24. Sen T, Ghosh TK, and Chaudhuri AKN. 1993. Studies on The Mechanism of Anti-Inflammatory and Anti-Ulcer Activity of *P. indica*: Probable involvement of 5-lipoxygenase pathway. *Life Sciences* 52, 737-43.
25. Singleton, V.L., Orthofer R.M. and Ramuela-Raventos R.M., Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by means of Folin Ciocalteu Reagent. *Methods Enzymol*, 1999, 299, 152-178.
26. Stanojevic, L., Mihajo S., Vesna N., Ljubisa N., Dusica R., Jasna C., Vesna T., Antioxidant Activity and Total Phenolic and Flavonoid Contents of *Hieracium pilosella* L. *Extract. Sensors*, 2009, 9, 5702-5714.
27. Taiz, L. and Eduardo Z., *Plant Physiology*. Benjamin/Cumming Publishing, California, 2010.
28. Traithip, A., *Phytochemistry and antioxidant activity of P. indica*. Mahidol University, 2005.
29. Uchiyama T, Miyase T, Ueno A, and Usmanghani K. 1989. Terpenic Glycosides from *P. indica*-. *Phytochemistry (Oxford)* 28, 3369-72.
30. Vanhaelen, M., J. Lejoly, M. hanocq and L. Molle, Climate and geographical aspect of medicinal plant constituents. *The Medicinal Plant Industry*, 1991, 2(1), 59-76.
31. Wijaya, S., Ting Kang Nee, Khoo Teng Jin, Wardah Mustafa Din, and Christophe Wiart. 2011. Antioxidant, Anti-Inflammatory, Cytotoxicity and Cytoprotection Activities of *Crassocephalum Crepidioides* (Benth.) S.Moore.Extracts and Its Phytochemical Composition. *European Journal of Scientific Research* 67 (1) :157-165.
32. Wan Yong Ho, Huynh Ky, Swee Keong Yeap, Raha Abdul Rahim, Abdul Rahman Omar ,Chai Ling Ho and Noorjahan Banu Alitheen. 2009. Traditional Practice, Bioactivities and Commercialization Potential of *E. scaber* Linn. *Journal of Medicinal Plants Research*. 3(13):1212-1221.
33. Yuliani, Soemarno, Bagyo yanuwadi, and Amin Setyo Leksono.2015.The Relationship between Habitat Altitude, Enviromental Factors and Morphological Characteristics of *Pluchea Indica*, *Ageratum Conyzoides* and *Elephantopus Scaber*. *OnLine Journal of Biological Sciences*.15(3):143-151.

Lampiran 8 produk : Biopestisida dan buku ajar



Ekstrak Biopestisida dari *Elephantopus scaber*

HAND OUT

BIOPESTISIDA

“Aplikasi Senyawa Metabolit Sekunder Dari Tumbuhan”



Oleh:

Yuliani

Lisa Lisdiana

JURUSAN BIOLOGI

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS NEGERI SURABAYA

2016

Lampiran 9 Bukti submit pada Jurnal International

Indian Journal of Natural Products and Resources (IJNPR) [Formerly Natural Product Radiance (NPR)]

OP-HOME IJNPR-HOME ABOUT USER HOME SEARCH CURRENT ARCHIVES ANNOUNCEMENTS NISCAIR

21-Nov-2016 17:27:48 IST

NPR

Journal Help

Home > User > Author > Submissions > #15487 > Summary

#IJNPR-1554 Summary

SUMMARY REVIEW EDITING

Submission

AuthorsYuliani, Yuliani ; Soemarno, Soemarno ; Yanuwadi, Bagyo ; Leksono, Amin Setyo

TitleTHE INFLUENCE OF VARIOUS ALTITUDE HABITAT ON THE ACCUMULATION OF FENOL AND FLAVONOID IN ASTERACEAE LEAVES

Original file15487-46302-1-SM.DOCX12-11-2016

Supp. filesNone

SubmitterDr. Yuliani Yuliani

Date submitted12-11-2016 - 02:07 PM

SectionArticles

EditorPramila Majumdar

Status

StatusIn Review

Initiated12-11-2016

Last modified12-11-2016

Submission Metadata

21-Nov-2016 17:27:48 IST

Journal Help

USER

You are logged in as...

yulianiap

My Journals

My Profile

Log Out

NOTIFICATIONS

View

Manage

AUTHOR

Submissions

Active (1)

Archive (0)

New Submission

JOURNAL CONTENT

Search

All

Search

Browse

By Issue

By Author

By Title

Expanding the horizons of natural products research

Brawijaya University, Malang, Indonesia

Title and Abstract

TitleTHE INFLUENCE OF VARIOUS ALTITUDE HABITAT ON THE ACCUMULATION OF FENOL AND FLAVONOID IN ASTERACEAE LEAVES

Abstract

The aims of the study was to quantitatively analyze the phenolic and flavonoid content of three kinds of plants from Asteraceae family, those are *Pluchea indica*, *Ageratum conyzoides*, and *Elephantopus scaber*, on three different habitats which differ on the altitudes (lowland 28.3 - 31.72 meters above sea level, middle land 727 - 937 m asl, and highland 1303 - 1322 m asl). The simplicia of Asteraceae leaves were macerated and extracted with methanol, ethyl acetate, aquades and n-butanol. The total phenolic (gallic acid/GAE) and flavonoid (quercetin/QE) contents were determined using UV-VIS spectrometer. The results were then analyzed by two-way ANOVA. The results showed that the total phenolic content of *P. indica* from lowland was 1.76±0.04 mg/mL. It was higher than that from the middle land (1.45±0.03 mg/mL) and highland (1.21±0.04 mg/mL). The total flavonoid content from three habitats were not significantly difference (3.1±0.1 mg/mL). The total phenolic contents of *A. conyzoides* in middle land (1.66±0.1 mg/mL) was higher than those from highland (1.30±0.03 mg/mL) and lowland (1.25±0.02mg/mL). The total flavonoid of *A. conyzoides* in highland (3.2±0.06 mg/g dry weight) was higher than that growing in middle land (2.9±0.0 mg/g dry weight) and in lowland (2.6±0.06 mg/g dry weight). The total phenolic (1.86 ±0.03 mg/mL) and flavonoid (3.4 ±0.06 mg/mL) contents of *E. scaber* in middle land was higher when compared to those from the lowland and highland. The highest phenolic content was found in methanol extract, and the highest flavonoid content was found in ethyl acetate fraction of Asteraceae.

Indexing

Academic discipline and sub-disciplines—

KeywordsAccumulation, phenolic, flavonoid, Asteraceae leaves, altitude habitat

Languageen

Supporting Agencies

Agencies—

Indian Journal of Natural Products and Resources (IJNPR) [Formerly Natural Product Radiance (NPR)]

89

Lampiran 10 Draft PATEN

Deskripsi

BIOPESTISIDA DARI EKSTRAK DAUN *Elephantopus scaber* DAN PROSES PEMBUATAN SERTA PENGGUNAANNYA DALAM PENGENDALIAN *Spodoptera litura*

Bidang Teknik Invensi

Invensi ini berhubungan dengan biopestisida (pestisida hayati) dan proses pembuatan Biopestisida dari senyawa metabolit sekunder tumbuhan *Elephantopus scaber* (tapak liman) sebagai pengendali hama *Spodoptera litura* (ulat grayak), lebih khusus lagi invensi ini berhubungan dengan penggunaan ekstrak tumbuhan tersebut pada konsentrasi tertentu yang dapat mengendalikan ulat *S. litura* (mengakibatkan mortalitas 80-95%).

Latar Belakang Invensi

Biopestisida atau pestisida hayati adalah pestisida yang berasal dari senyawa metabolit sekunder tumbuhan yang digunakan untuk mengendalikan dan membasmi organisme pengganggu. Metabolit sekunder merupakan senyawa yang diproduksi oleh tumbuhan untuk pertahanan terhadap serangga, herbivora, mikroorganisme patogen dan berbagai macam cekaman abiotik. Berbagai tumbuhan diketahui mempunyai potensi besar untuk dikembangkan sebagai pengendali serangga hama, diantaranya dari famili Asteraceae. Asteraceae merupakan tumbuhan yang tersebar luas dan kebanyakan mengandung senyawa kimia polifenol, flavonoid dan sesquiterpen, seperti halnya *Elephantopus scaber* (tapak liman), yang diketahui mengandung bahan aktif (fenol) dan dapat mempengaruhi aktifitas biologis serangga.

Elephantopus scaber merupakan tumbuhan obat dan mempunyai kandungan kimia yang meliputi flavonoid (daun-ekstrak metanol), fenol (daun-rhizoma ekstrak methanol), saponin (rhizoma-ekstrak metanol), steroid (daun-rhizoma ekstrak metanol dan kloroform), tanin (daun-ekstrak kloroform dan metanol), terpen (daun, rhizoma-ekstrak metanol dan kloroform), triterpenoid, sesquiterpen lacton, elephantopin, selain itu juga mengandung epifriedelinol, lupeol, stigmasterol, triacontan-1-ol, dotriacontan-1-ol, lupeolacetate, deoxyelephantopin, isodeoxyelephantopin, dan luteolin-7-glucosida. Senyawa tersebut dapat berperan sebagai anti mikroba dan insektisida.

Biopestisida yang diperoleh, diaplikasikan pada serangga *Spodoptera litura* (ulat grayak). Ulat grayak umumnya menyerang tanaman padi, jagung, sayuran (cabai, kubis, kentang), buah, dan tembakau. *Spodoptera litura* menyerang tanaman budidaya pada fase vegetatif dan menyebabkan kerusakan sekitar 12,5 % dan lebih dari 20 % tanaman budidaya, pada umur lebih dari 20 hari setelah tanam. Selama ini pengendalian *S. litura* menggunakan pestisida

sintetik tetapi karena penggunaan yang berlebihan maka timbul resistensi terhadap insektisida, dan pencemaran lingkungan.

Berdasarkan penelusuran paten yang telah dilakukan yaitu international Patent: PCT/ID 01/00003 National Patent: ID 0 000 438S, NO: 1220/R.MURI/VIII/2004, pembuatannya dengan mengekstrak bahan aktif pestisida alami yang dilakukan dengan menghancurkan bahan tersebut dalam kondisi basah atau kering menjadi bentuk bubuk atau jus, lalu diekstraksi dengan memfermentasikan bahan tersebut agar bahan aktif terlepas dan dapat dimurnikan sehingga lebih efektif fungsinya. Ekstraktornya menggunakan mikroba *BioP2000Z* dengan cara memfermentasikan selama 1 - 3 minggu. Berbagai tanaman digunakan seperti cabe, tuba, tembakau tetapi tidak menyebutkan *Elephantopus scaber* sebagai bahan tanamannya. Cara pembuatannya juga berbeda, yang kami klaimkan tidak menggunakan mikroba.

Berikutnya no paten WO 2008015413 A2 dengan penemu Sujay Anil Shah, terbit tanggal 7 Pebruari 2008, telah menemukan insektisida dari daun tanaman *Chrysanthemum (Tanacetum) cinerariae* yaitu *pyrethrum*. Composisi, tanaman dan penggunaannya berbeda dengan yang di klaimkan.

No paten WO2003006036 A3, dengan penemu Ranjitsinh Solanki, terbit tanggal 27 Mei 2004 menemukan bahwa *Elephantopus scaber* digunakan sebagai obat anti kanker dan bukan sebagai insektisida. Berdasarkan hal tersebut maka penggunaan *elephantopus scaber* sebagai biopestisida belum pernah dipatenkan.

Invensi ini memanfaatkan ekstrak daun tanaman *Elephantopus scaber* yang berasal dari daerah dataran menengah (trawas, Mojokerto). Karena berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa fenol dari daun *E.scaber* yang berasal dari dataran menengah mempunyai kadar fenol yang lebih tinggi dibandingkan dengan daun *E.scaber* yang berasal dari dataran rendah dan dataran tinggi. Kandungan fenol yang tinggi berdampak pada efektifitas dari biopestisida yang dikembangkan. Sementara berbagai penelitian tentang biopestisida tidak mengkaitkan antara habitat dengan kandungan senyawa metabolit sekunder yang diperoleh.

Uraian Singkat Invensi

Invensi ini menghasilkan biopestida dari ekstrak daun *E.scaber* yang daunnya diperoleh dari dataran menengah, dan sudah diaplikasikan pada ulat *S.litura* dan sudah diketahui konsentrasi yang optimal dalam mengendalikan hama tersebut. Proses pembuatannya adalah sebagai berikut:

- a. Daun Tanaman *Elephantopus scaber* diambil dari dataran menengah (daerah trawas Mojokerto) ketinggian 700-950 m dpl.
- b. Selanjutnya daun dibuat dalam bentuk serbuk (*simplisia*), yaitu daun tanaman dikeringanginkan selama 10 hari (pada

- suhu kamar). Daun dikatakan kering apabila diremas daun terlihat remah. Dari daun 1 kg basah menjadi 200 gr kering.
- c. Daun kering, kemudian digiling menjadi serbuk, dan disaring dengan saringan ukuran 40 mesh menjadi tepung daun kering.
 - d. Tepung daun kering dari tumbuhan *E.scaber* dimaserasi dengan petroleum eter (1:4 b/v) pada suhu kamar selama 24 jam, kemudian disaring.
 - e. Residu tepung daun yang sudah dikeringkan pada suhu kamar, diambil 10 gram dan diekstrak dengan methanol 150 ml menggunakan ekstraksi soxhlet pada suhu 65°C selama 3 jam.
 - f. Pelarut methanol diuapkan dengan *rotary evaporator* sehingga menjadi ekstrak methanol.
 - g. Ekstrak methanol siap digunakan sebagai biopestisida dengan konsentrasi tertentu.

Uraian Lengkap Invensi

Sebagaimana yang telah dikemukakan bahwa untuk mendapatkan produksi metabolit sekunder yang optimal harus menyesuaikan dengan habitat tumbuhnya. Karena itu daun *E.scaber* yang digunakan diambil dari dataran menengah 700-950 m dpl. Seluruh daun *E.scaber* diambil dan dipisahkan dari batangnya. Daun kemudian dibersihkan, dirajang menjadi lebih kecil dan dikeringanginkan (tidak di bawah sinar matahari) sampai kering dan remah. Dari 1 kg daun segar menjadi 200 gram daun kering. Proses pengeringan daun sekitar 10 hari. Daun kering, kemudian digiling menjadi serbuk, dan disaring dengan saringan ukuran 40 mesh menjadi tepung daun kering.

Tepung daun kering dari tumbuhan *E.scaber* kemudian dimaserasi dengan petroleum eter (1:4 b/v) pada suhu kamar selama 24 jam, kemudian disaring (di vacuum). Residu tepung daun yang sudah dikeringkan pada suhu kamar, diambil 10 gram dan diekstrak dengan methanol 150 ml menggunakan ekstraksi soxhlet pada suhu 65°C selama 3 jam. Pelarut methanol diuapkan dengan *rotary evaporator* sehingga menjadi ekstrak methanol. Ekstrak methanol (cairan pekat) siap digunakan sebagai biopestisida dengan konsentrasi tertentu.

Untuk digunakan sebagai biopestisida maka ekstrak methanol *E.scaber* diencerkan dengan pelarut DMSO (dimethylsulphoxide sebagai pelarut organik) yang diencerkan sebesar 10%. Konsentrasi yang digunakan adalah 2%, 4%, 6%, 8% (konsentrasi yang dapat menyebabkan kematian *S.litura* sebesar 81,19% -96%/ LC 50 2,88 % sedangkan yang menyebabkan mortalitas 80 % LC80 adalah konsentrasi 6,64 %). Cara pengencerannya sebagai berikut:

Konsentrasi 8% dibuat dengan cara mencampurkan 0,8 gram ekstrak ke dalam 0,5 ml DMSO (DMSO sudah diencerkan 10%) sampai larut dan menambahkan aquades sampai 10 ml. Konsentrasi yang lain diencerkan dengan cara yang sama. Konsentrasi 6% dibuat dengan cara mencampurkan 0,6 gram ekstrak ke dalam 0,5 ml DMSO sampai larut dan menambahkan aquades sampai 10 ml. Konsentrasi 4% dibuat dengan cara mencampurkan 0,4 gram ekstrak ke dalam 0,5 ml DMSO sampai larut dan menambahkan aquades sampai 10 ml. Konsentrasi 2% dibuat dengan cara mencampurkan 0,2 gram ekstrak ke dalam 0,5 ml DMSO sampai larut dan menambahkan aquades sampai 10 ml.

Penggunaan biopestisida dari ekstrak tumbuhan *E.scaber* mulai diberikan pada tanaman budidaya yang sudah mempunyai daun sebanyak 4-5 helai, dengan cara disemprotkan dengan jarak 30 cm dari tumbuhannya, disemprotkan ke ulat dan tanamannya (ulat instar dua dan tiga). Volume biopestisida setiap tanaman sebanyak 5 ml/ untuk tanaman yang mempunyai 4-5 helai daun. Volume biopestisida yang diberikan akan bertambah sebanyak dua kali apabila tanaman mempunyai jumlah daun dua kali lipat.

Klaim

1. *Elephantopus scaber* sebagai biopestisida
2. Pengambilan sampel daun *Elephantopus scaber* yang akan digunakan sebagai ekstrak, diambil dari dataran menengah dengan ketinggian 700-950 dpl.
3. Metode Pembuatan Biopestisida dari ekstrak daun *Elephantopus scaber* meliputi langkah-langkah sebagai berikut :
 - a. Daun Tanaman *Elephantopus scaber* dibuat dalam bentuk serbuk (*simplisia*), yaitu daun tanaman dikeringanginkan selama 10 hari (pada suhu kamar). Daun dikatakan kering apabila diremas daun terlihat remah. Dari daun 1 kg basah menjadi 200 gr kering.
 - b. Daun kering, kemudian digiling menjadi serbuk, dan disaring dengan saringan ukuran 40 mesh menjadi tepung daun kering.
 - c. Tepung daun kering dari tumbuhan *E.scaber* dimaserasi dengan petroleum eter (1:4 b/v) pada suhu kamar selama 24 jam, kemudian disaring.
 - d. Residu tepung daun yang sudah dikeringkan pada suhu kamar, diambil 10 gram dan diekstrak dengan methanol 150 ml menggunakan ekstraksi soxhlet pada suhu 65°C selama 3 jam.

- e. Pelarut methanol diuapkan dengan *rotary evaporator* sehingga menjadi ekstrak methanol.
 - f. Ekstrak methanol siap digunakan sebagai biopestisida dengan konsentrasi tertentu.
4. Konsentrasi yang digunakan untuk biopestisida adalah 2 %, 4%, 6% dan 8 %.Proses pengenceran dengan menggunakan DMSO dan aquades.
 5. Penggunaan biopestisida sebanyak 5 ml/tanaman (dengan 4-5 helai daun), dengan jarak semprot 15 cm.
 6. Metode sesuai dengan klaim-klaim, dimana penggunaan biopestisida dari ekstrak daun *E.scaber* dapat mematikan ulat *Sopodoptera litura* sebesar 81,19 - 96 %.

Abstrak

BIOPESTISIDA DARI EKSTRAK DAUN *Elephantopus scaber* DAN PROSES PEMBUATAN SERTA PENGGUNAANNYA DALAM PENGENDALIAN *Spodoptera litura*

Invensi ini berhubungan dengan pembuatan Biopestisida dari daun *E.scaber* yang diperoleh dari dataran menengah dan dilakukan ekstrak methanol, adapun langkah-langkah sebagai berikut :

- a. Daun Tanaman *Elephantopus scaber* diambil dari dataran menengah ketinggian 700-950 m dpl. Selanjutnya daun dibuat dalam bentuk serbuk (*simplisia*), yaitu daun tanaman dikeringanginkan selama 10 hari (pada suhu kamar).Daun dikatakan kering apabila diremas daun terlihat remah. Dari daun 1 kg basah menjadi 200 gr kering.
- b. Daun kering, kemudian digiling menjadi serbuk, dan disaring dengan saringan ukuran 40 mesh menjadi tepung daun kering. Tepung daun kering dari tumbuhan *E.scaber* dimaserasi dengan petroleum eter (1:4 b/v) pada suhu kamar selama 24 jam, kemudian disaring.
- c. Residu tepung daun yang sudah dikeringkan pada suhu kamar, diambil 10 gram dan diekstrak dengan methanol 150 ml menggunakan ekstraksi soxhlet pada suhu 65°C selama 3 jam. Pelarut methanol diuapkan dengan *rotary evaporator* sehingga menjadi ekstrak methanol.
- d. Ekstrak methanol siap digunakan sebagai biopestisida dengan konsentrasi 2%-8%. Dengan proses perwujudan invensi ini dapat mematikan ulat *Sopodoptera litura* sebesar 81,19 - 96 %.

Lampiran 11. Dokumentasi penelitian

Dokumentasi Kegiatan Penelitian



Peletakkan botol perlakuan ekstrak tapak liman (kiri) botol ekstrak dengan konsentrasi T4 (Tapak liman konsentrasi 4% dengan ulangan 1-5) (kanan) botol ekstrak dengan konsentrasi T6 (Tapak liman konsentrasi 6% dengan ulangan 1-5)



Peletakkan botol perlakuan ekstrak paitan (kiri) botol ekstrak dengan konsentrasi P2 (Paitan konsentrasi 2% dengan ulangan 1-5) (tengah) botol ekstrak dengan konsentrasi P4 (Paitan konsentrasi 4% dengan ulangan 1-5) (kanan) botol ekstrak dengan konsentrasi P6 (Paitan konsentrasi 6% dengan ulangan 1-5)

Peletakkan botol perlakuan kontrol dengan ulangan 1-5





Pelabelan perlakuan ekstrak tanaman paitan P6U1 (Ekstrak paitan konsentrasi 6%
ulangan ke-1)



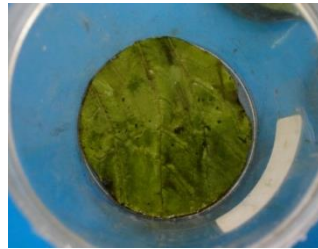
Tempat ulat sebelum
diperlakukan ditempatkan
pada botol dengan
penutup kasa



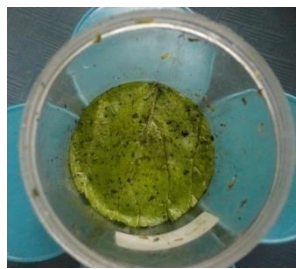
(kiri) DMSO konsentrasi
100% (kanan) DMSO
konsentrasi 10% yang
sudah diencerkan dengan
akuades



Daun sawi yang diberi
ekstrak tumbuhan ataupun
DMSO sebagai kontrol



(kiri)Daun sawi yang basah oleh DMSO 10% (kanan) Daun sawi yang basah oleh larutan ekstrak siap untuk diberi ulat



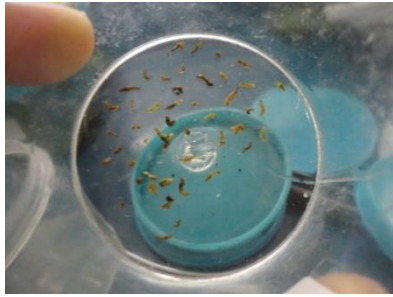
(kiri) Botol yang berisi ulat *Spodoptera litura* perlakuan kontrol (kanan) Botol yang berisi ulat *Spodoptera litura* perlakuan ekstrak



Daun yang dimakan ulat pada perlakuan kontrol



Ulat yang mati



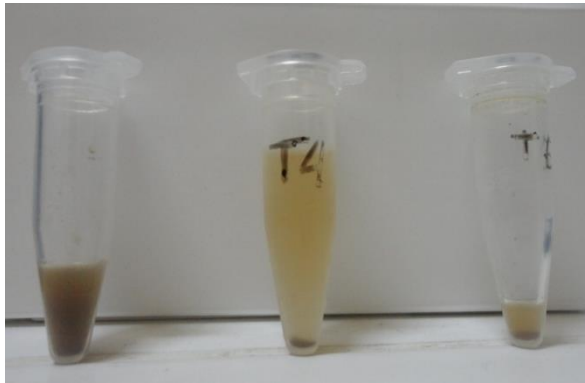
Ulat yang mati ditempatkan pada botol yang sudah dilabelin dan dimasukkan dalam freesher



Ulat yang mati dari refrigerator dipindah ke cool box (kondisinya harus dingin)



Ulat ditumbuk pada mortar sampai halus, menumbuknya serah jarum jam ditambahkan larutan buffer 1-2 ml



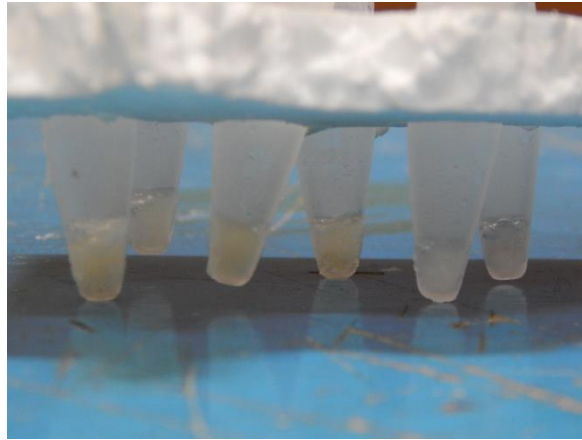
Filtrat yang sudah didapatkan (kiri) kontrol, (tengah) perlakuan ekstrak tapak liman konsentrasi 4% (kanan) perlakuan ekstrak tapak liman konsentrasi 6 %



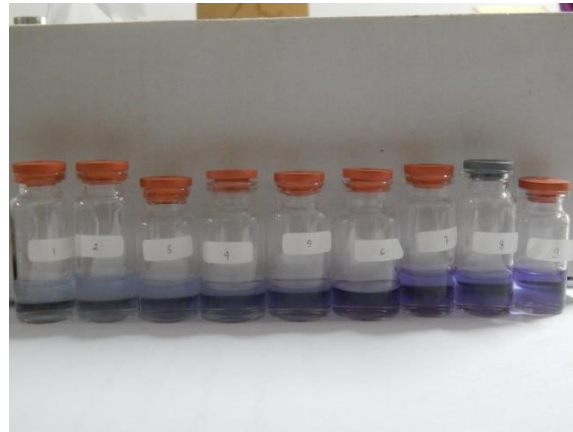
Filtrat disentrifuse 10.000 rpm, 4 °C selama 20 menit posisinya diurutkan dari volume filtrat yang paling sedikit



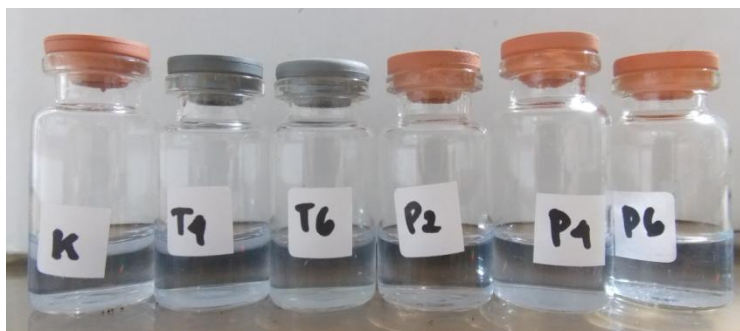
Supernatan diambil dari ependof dan dipindahkan ke ependof yang steril



Sampel *Spodoptera litura* yang akan dispektrofotometri dan elektrofresis



Larutan standart yang telah ditambahkan dengan biuret



Sampel *Spodoptera litura* yang sudah ditambahkan NaCl 0,9 % 990 μ l dan biuret 3 ml setelah diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit (siap untuk diukur kadar proteinnya dengan spektrofotometer)



Pengukuran absorbansi larutan standart dan sampel *Spodoptera litura*



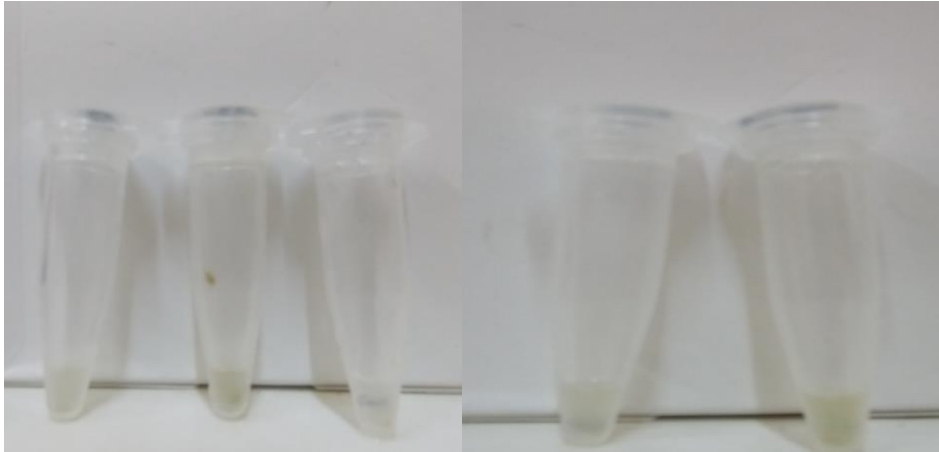
Ulat *Plutella xylosa*



Pemindahan ulat *Plutella xylosa* ke dalam toples yang sudah diberi sawi dan ekstrak.



Filtrat *Plutella xylosa*



Sampel protein *Plutella xylosa* (dari kiri: sampel P6, sampel P2, dan P4)

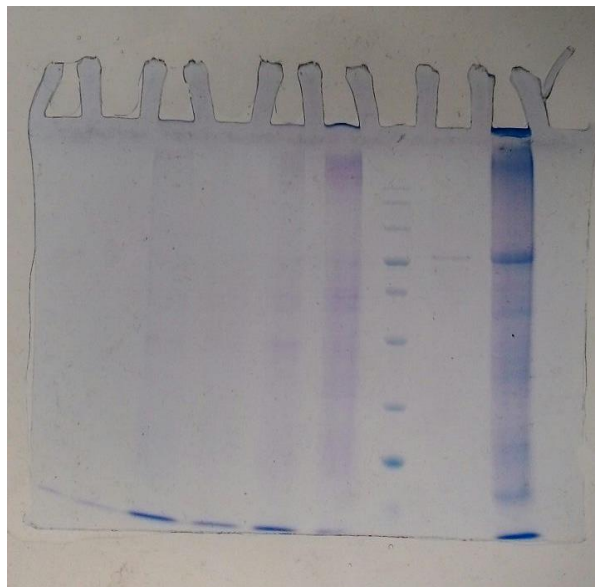
Sampel protein *Plutella xylosa* (dari kiri: sampel kontrol, sampel T4)



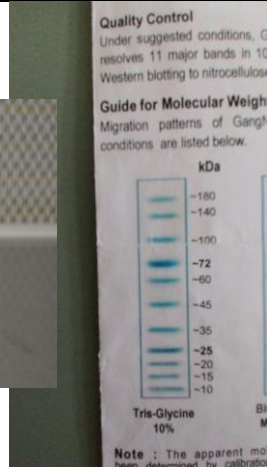
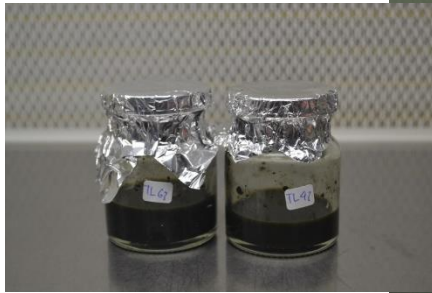
Sampel ulat *Plutella xylosa* yang siap untuk uji spektrofotometri setelah ditambahkan biuret.



Proses elektroforesis



Gel hasil elektroforesis (dari kiri sampel *Spodoptera litura* perlakuan paitan 6%, tapak liman 6%, tapak liman 4%, paitan 2%, paitan 4%, kontrol; kemudian marker; kemudian perlakuan pada sampel *Plutella xylosa* perlakuan kontrol dan tapak liman 6%)



Berat band pada marker yang digunakan.



Pertanian padi Organik di Kecamatan Lawang Jawa Timur



Media NA



Lampiran 12. Lembar Pembahasan dan Pengesahan dari Pembahas

LEMBAR PEMBAHASAN

Draft laporan penelitian yang berjudul:

Pengaruh bayang-bisa terhadap kualitas Agrobacterium
untuk meningkatkan kualitas Agrobacterium
dalam proses transformasi

Dengan tim peneliti sebagai berikut

1. Dr. Yuliana, MSc
2. Rika Hidayati, MSc, MEd
- 3.
- 4.

Telah direview pada hari Rabu tanggal 06/2016 di
LPPM Universitas Negeri Surabaya.

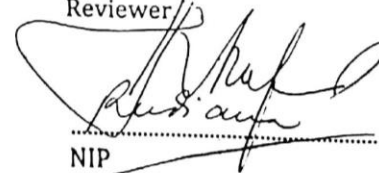
Catatan

1. Tergantung dengan kondisi air dan komposisi.
2. Perlu elektroporasi H₂O dan H₂O pada
sel-sel Agrobacterium dalam bentuk agar.
2. Perlu elektroporasi.
3. Formulasi transformasi pedoman.
4. Perlu untuk proses mikroba.

Surabaya,

Reviewer

NIP



LEMBAR PEMBAHASAN

Draft laporan penelitian yang berjudul:

Pengembangan Biopestisida dari Flora lokal untuk Menghambat Agroekosistem Jarak Pada Organik

Dengan tim peneliti sebagai berikut

1. Dr. Yuliani M.Si
2. Lisa Lisdiana S.K., M.Si
- 3.
- 4.

Telah direview pada hari 14-11-2016 tanggal hari Senin di LPPM Universitas Negeri Surabaya.

Catatan:

1. Hasil akhir penyusunan (Kopi tidak selesai) sedikit mungkin di sempatkan, atau di disimpulkan berdasarkan hasil yang ada, dengan kendala terhadap analisis

Surabaya, 14-11-2016
Reviewer,

Prof. Dr. Lenny Yuliani, M.Si
NIP 195109121985032001

PENGESAHAN DARI PEMBAHAS

Laporan Penelitian yang berjudul

Pengembangan Biopestisida dari Flora Lokal untuk meningkatkan Kualitas
Agrosistem Sawah Padi Organik

Dengan peneliti berikut:

1. Dr. Yuliani, M.Si.
2. Lisa Lisdiana, S.Si, M.Si
3. _____
4. _____
5. _____

~~Belum~~/sudah* direvisi berdasarkan masukan pembahas

Surabaya, 28 - November 2016
Reviewer,



Dr. Rudiana Agustin, M.Pd.
NIP. 196008101990022001

*) coret yang tidak sesuai

KEPUTUSAN
REKTOR UNIVERSITAS NEGERI SURABAYA
Nomor 249/UN38/HK/LT/2016

Tentang
PEMBENTUKAN DAN PENGANGKATAN TIM PENELITI PADA PENELITIAN KOMPETITIF NASIONAL
UNIVERSITAS NEGERI SURABAYA TAHUN ANGGARAN 2016

REKTOR UNIVERSITAS NEGERI SURABAYA

- Menimbang : a. bahwa sesuai dengan surat Direktur Riset dan Pengabdian Kepada Masyarakat nomor 0299/E3/2016, tanggal 27 Januari 2016, dan nomor 053/SP2H/LT/DRPM/II/2016, tanggal 17 Februari 2016, maka perlu menunjuk tim Peneliti pada penelitian Kompetitif Nasional Tahun Anggaran 2016.
b. Bahwa untuk keperluan tersebut pada butir a diatas, memandang perlu menerbitkan Keputusan ini.

- Mengingat : 1. Undang-Undang RI Nomor 20 tahun 2003 tentang Sistem Pendidikan Nasional;
2. Undang-Undang RI Nomor 12 tahun 2012 tentang Pendidikan Tinggi;
3. Peraturan Pemerintah Nomor 4 tahun 2014 tentang Penyelenggaraan Pendidikan Tinggi dan Pengelolaan Perguruan Tinggi;
4. Keputusan Presiden RI Nomor 269 tahun 1965 tentang Pendirian IKIP Surabaya;
5. Keputusan Presiden RI Nomor 93 tahun 1999 tentang Perubahan IKIP Surabaya menjadi Universitas Negeri Surabaya;
6. Keputusan Mendikbud RI Nomor 164/MPK.A4/KP/2014 tentang Pengangkatan Rektor Universitas Negeri Surabaya;
7. Keputusan Mendikbud RI Nomor 279/O/1999 tentang Organisasi dan Tata Kerja Universitas Negeri Surabaya;
8. Keputusan Mendiknas RI Nomor 92/O/2001 tentang Statuta Universitas Negeri Surabaya;
9. Keputusan Menkeu RI Nomor 50/KMK.05/2009 tentang Penetapan Universitas Negeri Surabaya Pada Departemen Pendidikan Nasional sebagai Instansi Pemerintah yang menerapkan Pengelolaan Keuangan Badan Layanan Umum;
10. Peraturan Menteri Keuangan RI Nomor 92/PMK.05/2011 tentang Rencana Bisnis dan Anggaran Serta Pelaksanaan Anggaran Badan Layanan Umum;
11. Surat Pengesahan Menteri Keuangan Nomor SP DIPA- 042.01.2.400918/2016, tentang DIPA BLU tahun 2016;

MEMUTUSKAN

- Menetapkan :
Pertama : Membentuk dan mengangkat Tim peneliti pada penelitian Hibah Kompetitif Nasional Universitas Negeri Surabaya Tahun Anggaran 2016, yang susunan nama-namanya tercantum dalam lampiran Keputusan ini.
Kedua : Dalam melaksanakan tugasnya, Tim peneliti wajib berpedoman pada ketentuan yang berlaku, dan secara tertulis memberikan laporan kepada Rektor Universitas Negeri Surabaya.
Ketiga : Keputusan ini berlaku sejak tanggal ditetapkan sampai dengan selesainya kegiatan tersebut dengan ketentuan bahwa segala sesuatunya akan ditinjau dan diubah sebagaimana mestinya apabila ternyata dikemudian hari terdapat kekeliruan dalam penetapan ini.

Ditetapkan di : Surabaya
Pada tanggal : 1 Maret 2016
Rektor,

ttd

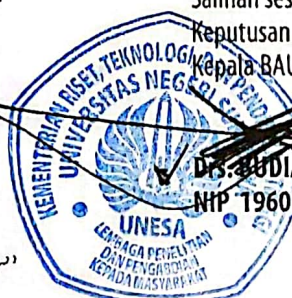
WARSONO
NIP 196005191985031002

Salinan sesuai dengan bunyi
Keputusan yang asli.
Kepala BAU dan Keuangan,

DR. AUDIARSO, S.H, M.M.
NIP 196005131980101002

Salinan disampaikan kepada Yth:

1. Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi
2. Sekretaris Jenderal Kemenristekdikti
3. Inspektur Jenderal Kemenristekdikti
4. Para Pembantu Rektor Unesa
5. Para Dekan, Dir. PPs, Kepala LPPM
6. Kepala Biro di lingkungan Unesa



**DAFTAR PENETAPAN PENERIMA PENELITIAN KOMPETITIF NASIONAL
TAHUN ANGGARAN 2016**

No.	Fakultas	Jurusan	Judul	Rumpun Ilmu	Tim Peneliti	NIDN	Gol.	Pend	L/P	Dana	Waktu (bln)	Skim
1	FIP	PG-PAUD	Pengembangan Model Pembelajaran Berbasis Konstruktivisme dan Diseminasinya untuk Menumbuhkan Kecerdasan Majemuk Anak Usia Dini	Pgtd dan (Paud)	Dr. Sri Setyowati, M.Pd. Prof. Dr. Mustaji, M.Pd.	0027076506 0005106404	IV/a IV/d	S3 S3	P L	110.000.000	8	Tim Pasca Sarjana Lanjutan
2	FBS	Pend. Sendratasik	Musik Ul-daul Sebagai Ekspresi Budaya Masyarakat Madura (Kajian Etnomusikologi)	Etnomusikologi	Drs. Bambang Sugito, M.Sn. Dra. Eko Wahyuni Rahayu, M.Hum. Dr. Hj. Warih Handayaniyung, M.Pd.	0016116401 0029116003 0026096002	IV/a III/d IV/c	S2 S2 S3	L P P	60.000.000	8	Fundamental Lanjutan
3	FBS	Pend. Sendratasik	Cengkok Wayang Kulit Jawa Timuran	Seni Pedalangan	Drs. Bambang Soeyono, M.Hum. Joko Winarko, S.Sn., M.Sn. Prof. Dr. Darni, M.Hum.	0020116004 0026037604 0026096502	IV/a III/b IV/c	S2 S2 S3	L L P	50.000.000	8	Fundamental Lanjutan
4	FMIPA	Biologi	Pemetaan Asam Amino (Free Amino Acid) dan Rhizobakteri pada Semanggi (Marsilea crenata Presl.) dan Klambang (Salvinia molesta) Sebagai Fitoremediasi Logam Pb	Biologi (dan Bioteknologi Umum)	Dr. Fida Rachmadiarti, M.Kes. Guntur Trimulyono, S.Si., M.Sc.	0018026504 0009048004	IV/c III/c	S3 S2	P L	60.000.000	8	Fundamental Lanjutan
5	FMIPA	Kimia	Mempelajari Karakteristik Senyawa N-Asetil Glukosamin Pada Proses Hidrolisis Kitin Menggunakan Enzim Ktinase Dari Pseudomonas sp TNH 54	Kimia	Dr. Nuniek Herdyastuti, M.Si. Dr. Sari Edi Cahyaningrum, M.Si.	0010117004 0029127002	IV/a IV/a	S3 S3	P P	50.000.000	8	Fundamental Lanjutan
6	FMIPA	Biologi	Model Persebaran Lalat Buah Bactrocera (Diptera: Tephritidae) di Wilayah Kota Surabaya menggunakan Pendekatan Sistem Informasi Geografis (SIG) berdasarkan Vegetasi tanaman Inang	Biologi (dan Bioteknologi Umum)	Dr. Tjipto Haryono, M.Si. Eko Budiyanto, S.Pd., M.Si.	0025075101 0025047408	IV/b III/d	S3 S2	L L	50.000.000	8	Fundamental Lanjutan
7	FMIPA	Matematika	Eksplorasi Pemahaman dan Keyakinan Guru dalam Pemecahan Masalah Matematika	Pendidikan Matematika	Dr. Tatag Yuli Eko Siswono, S.Pd., M.Pd. Ika Kurniasari, S.Pd., M.Pd. Yuliani Puji Astuti, S.Si., M.Si.	0008077106 0018048304 0031077804	IV/a III/c III/c	S3 S2 S2	L P P	60.000.000	8	Fundamental Lanjutan
8	FMIPA	Biologi	Keanekaragaman Salak di Madura Ditinjau dari Variasi Morfologi dan Variasi Genetik	Biologi (dan Bioteknologi Umum)	Novita Kartika Indah, S.Pd., M.Si. Dra. Wisanti, M.S.	0006117006 0021046106	IV/a IV/b	S2 S2	P P	60.000.000	8	Fundamental Lanjutan
9	FMIPA	Biologi	Pengembangan Biopestisida dari Flora Lokal untuk meningkatkan Kualitas Agroekosistem Sawah Padi Organik	Biologi (dan Bioteknologi Umum)	Dr. Yuliani, M.Si. Lisa Lisdiana, S.Si., M.Si.	0021076801 0007028303	IV/c III/b	S3 S2	P P	60.000.000	8	Fundamental Lanjutan

	FMIPA	Kimia	Analisis Karakter Sains Berwawasan Green Chemistry Terintegrasi pada Mata Kuliah Kimia Dasar dalam rangka Mewujudkan Green Education	Pendidikan Kimia	Mitarlis, S.Pd., M.Si. Bertha Yonata, S.Pd., M.Pd. Rusly Hidayah, S.Si., M.Pd.	0004027004 0022068201 0025098105	IV/b III/c III/b	S2 S2 S2	P P L	60.000.000	8	Fundamental Lanjut
10	FT	Teknik Mesin	Optimalisasi Produktivitas UKM Tempe Melalui Rancangan Bangun Peralatan Proses Produksi	Teknik Mesin (dan Ilmu Permesinan Lain)	Drs. Djoko Suwito, M.Pd. Agung Prijo Budijono, S.T., M.T.	0005036509 0020096903	IV/c IV/a	S2 S2	L L	60.000.000	8	Fundamental Lanjut
12	FT	PKK	Kajian dan Pendokumentasian Tata Rias pengantin Tradisional Jawa Timur	Pendidikan Kesejahteraan Keluarga (Tataboga, Busana, Rias Dll)	Dr. Maspiyah, M.Kes. Nia Kusianti, S.Pd., M.Pd. Dra. Dewi Lutfiati, M.Kes.	0001046411 0017127706 0018116102	IV/b III/c III/d	S3 S2 S2	P P P	60.000.000	8	Fundamental Lanjut
13	FT	Teknik Sipil	Kompetensi Mahasiswa Ditinjau dari Penalarannya Pada Pembelajaran Praktikum Bahan Bangunan Berbasis Problem Based Instruction	Pendidikan Teknik Bangunan	Dra. Indiah Kustini, M.T. Dr. Nurmi Frida Dorintan Bertua Pakpahan, M.Pd.	0001085610 0022076011	IV/b III/c	S2 S3	P P	60.000.000	8	Fundamental Lanjut
14	FT	PKK	Pengembangan Model Pembinaan Karakter Dalam Membentuk Wirausaha Baru Yang Terintegrasi Pada Mata Pelajaran Pengelolaan Usaha Mandiri Berbasis Project-Based Learning Di SMK N 3 Malang	Pendidikan Kesejahteraan Keluarga (Tataboga, Busana, Rias Dll)	Dra. Any Sutadiningsih, M.Si. Dr. Hj. Sri Handayani, S.Pd., M.Kes.	0024045904 0010027105	IV/c III/d	S2 S3	P P	60.000.000	8	Fundamental Lanjut
15	FT	Teknik Sipil	Pengaruh Penjangkaran Keatas terhadap Kekuatan Geser Hubungan Kolom-Balok Beton Bertulang (Pengembangan Model Usulan Parker & Bullman)	Teknik Sipil	Drs. Ir. Karyoto, M.S. Drs. Bambang Sabariman, S.T., M.T.	0016125103 0013046304	IV/c IV/b	S2 S2	L L	60.000.000	8	Fundamental Lanjut
16	FE	Manajemen	Pengembangan IBCG Rating Sebagai Pengukuran Kualitas Corporate Governance Dan Pengaruhnya Pada Nilai Perusahaan	Manajemen	Dr. Musdholifah, S.E., M.Si. Dr. Uilil Hartono, S.E., M.Si.	0003067807 0002107609	IV/a III/b	S3 S3	P L	60.000.000	8	Fundamental Lanjut
17	FIP	PLB	Pengembangan Pembelajaran Membaca Dan Menulis Berbasis Balance Literacy Untuk Membangun Kemandirian Belajar Siswa Reguler Dan ABK Di Sekolah Inklusif	Pendidikan Bahasa (dan Sastra) Indonesia	Dr. Yuliyati, M.Pd. Dr. Suparti, M.Pd. Drs. Sujuarwanto, M.Pd.	0002075710 0015066104 0001076209	IV/a IV/a IV/b	S3 S3 S2	P P L	112.000.000	8	Kompetensi Lanjutan
18	FBS	Pend. Bhs & Sastra Indonesia	Pengembangan Prototipe Perencanaan Pembelajaran Bahasa Indonesia SMP yang Efektif untuk Meningkatkan Kinerja Guru	Pendidikan Bahasa (dan Sastra) Indonesia	Prof. Dr. H. Bambang Yulianto, M.Pd. Dr. Hetty Purnamasari, M.Pd. Hasan Subekti, S.Pd., M.Pd.	0005076009 0712026801 0028058002	IV/e III/b III/c	S3 S3 S2	L P L	110.000.000	8	Kompetensi Lanjutan
19	FBS	Pend. Bahasa Mandarin	Konstruksi Ajaran Islam Dalam Novel Novel Religi Sastra Indonesia Tahun 2000-An	Sastra (dan Bahasa) Indonesia	Dr. Hj. Heny Subandiyah, M.Hum. Prof. Dr. H. Harris Supratno	0030116403 0028085506	IV/b IV/e	S3 S3	P L	85.000.000	8	Strategis Nasional Lanjutan

No.	Fakultas	Jurusan	Judul	Rumpun Ilmu	Tim Peneliti	NIDN	Gol.	Pend.	L/P	Dana	Waktu (Bn)	
40	FIP	Pendidikan Luar Sekolah	Analisis Model Kepemimpinan Pendidikan Non Formal Di PKBM Sanggar Belajar Yaalatif, Kabupaten Jombang		Widodo, S.Pd., M.Pd.	0002117508	III/c	S2	L	40.900.000	8	Disertasi Doktor
41	FIP	Kurikulum Teknologi Pendidikan	Peningkatan Ketrampilan Kerjasama Siswa Smp Kelas VIII IPS Melalui Penerapan Strategi Pembelajaran Kooperatif Type Jigsaw		Mochamad Syaichudin, S.Ag., M.Pd.	0013077305	III/b	S2	L	40.000.000	8	Disertasi Doktor
42	FMIPA	Kimia	Recovery Emas Dari Larutan Dengan Silika-Arginin Tertapis Pada Magnetit		Dra. Amaria, M.Si.	0029066401	IV/c	S2	P	45.600.000	8	Disertasi Doktor
43	FMIPA	Matematika	Pemisahan Sinyal Instrumen Gamelan Menggunakan Projection Pursuit		Dra. Atik Wintarti, M.Kom.	0012106608	IV/a	S2	P	46.500.000	8	Disertasi Doktor
44	FE	Akuntansi	Analisis Pengaruh Strategi Bisnis Terhadap Penghindaran Pajak Pada Konteks di Indonesia dengan Ukuran Penghindaran Pajak yang Komprehensif		Dianwicaksh Arietiara, S.E., Ak., M.Ak.	0031038004	III/d	S2	P	44.500.000	8	Disertasi Doktor
45	FBS	Pendidikan Bahasa & Sastra Indonesia	Pengembangan Keterampilan Menulis Berbasis Psychowriting untuk Menunjang Literacy Writing	Pendidikan Bahasa (dan Sastra) Indonesia	Dr. Syamsul Sodik, M.Pd. Dr. Kamidjan, M.Hum. Anas Ahmadi, S.Pd., M.Pd.	0013026601 0001085302 0011058005	IV/a IV/c III/c	S3 S3 S2	L L L	100.000.000	8	Kompetensi
JUMLAH Rp:										3.369.500.000		
TERBILANG: Tiga milyar tiga ratus enam puluh sembilan juta lima ratus ribu rupiah												

Salinan sesuai dengan bunyi
Keputusan yang asli.

Kepala Bau dan Keuangan,

WARSONO
NIP 196005191980101002

Ditetapkan di : Surabaya
Pada tanggal : 1 Maret 2016
Rektor,

ttd

WARSONO
NIP 196005191980101002