

Efikasi Ekstark Biji *Annona reticulata* L. pada *Callosobruchus maculatus* di Laboratorium

Efficacy of Annona reticulata L. Seed Extract in Callosobruchus maculatus in the Laboratory

Victor G. Siahaya *

Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Pattimura,
Jln. Ir. M. Putuhena, Kampus Poka, Ambon 97233, Indonesia
*E-mail Penulis Korespondensi: vg.siahaya@faperta.unpatti.ac.id

ABSTRACT

Extracts from the *Annona muricata* plant parts are known to have a broad-spectrum insecticidal potential against various species of insect pests. This study aimed to study the bioactive compounds of *Annona reticulata* fruit extract against *Callosobruchus maculatus* in the laboratory. The study used five extract treatments that were repeated three times. The treatment consisted of formulations with concentrations of 0.135%, 0.182%, 0.246%, 0.331%, and 0.450%, and controls. The test was carried out by the residual method on the petri dish and tested on the female insect *C. maculatus*, as well as testing the content of metabolites in the seeds. Phytochemical test results showed that *A. reticulata* seeds contain alkaloids, phenolics, flavonoids, tannins, steroids, and saponins. The results showed that paralysis already occurred as early as 1 day after treatment (dat) for all given concentrations of the extract, and the death of test insects tended to increase from the lowest concentration to the highest concentration. The mortality of test insects also tends to increase from the first day of observation to the third day after treatment. Mortality and paralysis tend to increase with increasing time. The lethal effect of *A. reticulata* seed extract is very high by reaching 100% at 3 dat (72 hours). The LC₉₅ values of *A. reticulata* seed extract were 1.89% , 0.49% and 0.36% respectively for analysis times of 1, 2, and 3 hsp. *Annona reticulata* seed extract has a high insecticidal activity (knock down effect and toxicity) against *Callosobruchus maculatus*.

Keywords: *Annona reticulata*; botanical insecticides; *Callosobruchus maculatus*; phytochemicals

ABSTRAK

Ekstrak dari bagian tanaman *Annona muricata* diketahui memiliki potensi insektisidal berspektrum luas terhadap berbagai spesies serangga hama. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari senyawa bioaktif dari ekstrak buah *Annona reticulata* terhadap *Callosobruchus maculatus* di laboratorium. Penelitian menggunakan lima perlakuan ekstrak yang diulang sebanyak tiga kali. Perlakuan terdiri dari formulasi dengan konsentrasi 0,135%, 0,182%, 0,246%, 0,331%, dan 0,450%, dan kontrol. Pengujian dilakukan dengan metoderesidu pada cawan petri dan diujikan pada serangga betina *C. maculatus*, serta menguji kandungan metabolit dalam bijinya. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa biji *A. reticulata* mengandung alkaloid, fenolik, flavonoid, tanin, steroid, dan saponin. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kelumpuhan sudah terjadi sejak 1 hari setelah perlakuan (hsp) untuk semua konsentrasi ekstrak yang diberikan, dan kematian serangga uji cenderung meningkat dari konsentrasi terendah hingga konsentrasi tertinggi. Kematian serangga uji juga cenderung meningkat mulai hari pertama pengamatan hingga hari ketiga setelah perlakuan. Mortalitas dan kelumpuhan cenderung meningkat sesuai dengan bertambahnya waktu. Efek mematikan dari ekstrak biji *A. reticulata* sangat tinggi dengan mencapai 100% pada 3 hsp (72 jam). Nilai LC₉₅ ekstrak biji *A. reticulata* berturut-turut adalah 1,89% , 0,49% dan 0,36% masing-masing untuk waktu analisis 1, 2, dan 3 hsp. Ekstrak biji *Annona reticulata* mempunyai aktivitas insektisida (efek knock down dan toksisitas) yang tinggi terhadap *Callosobruchus maculatus*.

Kata Kunci: *Annona reticulata*; *Callosobruchus maculatus*; fitokimia; insektisida nabati

PENDAHULUAN

Hama merupakan masalah utama baik di lapangan maupun di dalam gudang penyimpanan, dan dapat menyebabkan kerugian lebih dari setengah dari hasil yang diharapkan. Kumbang *Callosobruchus maculatus* Fabricius, adalah hama kosmopolitan benih kacang-kacangan dan merupakan salah satu hama gudang yang sangat penting di negara-negara beriklim tropis dan subtropis (Kang *et al.*, 2013; Massango *et al.*, 2017). Kerusakan kacang-kacangan selama dalam penyimpanan yang disebabkan adanya infestasi telur dari imago betina *C. maculatus* dapat mencapai 20-50% (Radha dan Susheela, 2014).

Kacang-kacangan merupakan bahan pangan kedua setelah beras dan gandum. Penyusutan hasil terbesar selama dalam penyimpanan yang disebabkan oleh serangga hama dapat mencapai 80%, yang salah satunya dari kelompok Coleoptera.

Saat ini, pengendalian hama gudang lebih banyak mengandalkan penggunaan insektisida dan fumigan sintetik, yang merupakan metode pengendalian hama tercepat. Cara umum ini dianggap mahal, menyebabkan pencemaran lingkungan, dan juga dapat membahayakan konsumen. Pada tingkat petani, pengendalian hama gudang biasanya dilakukan secara mekanik dengan mengumpulkan imago dan memusnahkannya. Cara ini dianggap kurang efektif pada skala luas dan stadium hama yang merusak, dimana larva terdapat dalam biji seringkali lepas pada fase penyimpanan berikutnya. Oleh karena itu maka pengembangan insektisida yang lebih aman sangat perlu diupayakan.

Meskipun jumlah penelitian terbatas, sejumlah besar senyawa dengan sifat kimia yang beragam telah diisolasi dalam beberapa struktur genus Annonaceae, termasuk alkaloid, acetogenin, diterpen, dan flavonoid. Di antara senyawa tersebut, acetogenin yang sangat menonjol karena kelimpahan strukturalnya dan berbagai aktivitas biologis yang ditunjukkan, seperti aktivitas insektisidal dan akarisisidal yang kuat (Colom *et al.*, 2010). Acetogenin merupakan rangkaian poliketida (Liaw *et al.*, 2015) yang berasal dari Asia dan Amerika Utara dan Selatan, dan hanya ditemukan pada beberapa genera dari famili Annonaceae (Johnson, 2000) dengan konsentrasi yang cukup tinggi dalam bijinya. Seluruh kelompok acetogenin telah dipatenkan sebagai pestisida dimana asimicin diakui sebagai pestisida acetogenin yang didefinisikan secara struktural (Parmar dan Walia, 2001). Mengingat efek akut dan kronis yang menjanjikan pada spesies hama penting pertanian, beberapa formulasi berbasis acetogenin seperti Anosom®, BioRakshak®, dan AnonaCin® baru-baru ini dirilis di India (Ribeiro *et al.*, 2017).

Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa *Annonaceae* sp. mampu mematikan serangga hama. Vanichpakorn *et al.* (2014) melaporkan ekstrak etanol daun *A. muricata* terbukti memiliki aktivitas berspektrum luas terhadap imago *Sitophylus oryzae*. Arimbawa *et al.* (2018) melaporkan hasil pengujian ekstrak *A. muricata* yang berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan *Crocidolomia pavonana* F. Fitri (2019) juga melaporkan bahwa ekstrak biji *A. squamosa* efektif mematikan kutu putih *Pseodococcus viburni*. Hingga saat ini potensi insektisidal ekstrak biji *A. reticulata* belum pernah diuji toksisitasnya terhadap *Callosobruchus maculatus*.

Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas insektisidal ekstrak biji *Annona reticulata* L. terhadap kumbang kacang hijau *Callosobruchus maculatus* L.

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Pestisida, Fakultas Pertanian dan di Laboratorium Analisis Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Pattimura yang berlangsung selama Oktober sampai Desember 2021.

Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan dalam proses ekstraksi adalah seperangkat alat ekstraksi: tabung erlenmeyer, vacuum rotary evaporator, magnetic stirrer, water bath. Peralatan lainnya meliputi: toples plastik (berdiameter 15 cm, tinggi 15 cm), kain kasa 20 x 20 cm, tutup toples, menara semprot potter, gelas ukur, labu ukur, cawan petri, pipet, kuas halus, timbangan analitik, kertas tissue, botol, spatula, kertas Whatman No.41, dan lain-lain.

Bahan penelitian yang digunakan adalah biji *Annona reticulata*, dan untuk ekstraksi pelarut yang digunakan adalah etanol. Bahan-bahan lainnya adalah kacang hijau sebagai pakan untuk perbanyakan dan pengujian, Tween 80, aquades, *Callosobruchus maculatus* sebagai serangga yang akan diuji.

Ekstrak Biji *Annona reticulata*

Biji *A. reticulata* dikupas, kemudian diblender dan diayak. Serbuk biji yang diperoleh diekstrak dengan etanol dengan perbandingan 1 : 10 (w/v) dalam erlenmeyer dan diaduk dengan pengaduk magnetik (magnetic stirrer) selama 24 jam. Kemudian 7/10 bagian etanol digunakan untuk mengekstrak dan 3/10 bagian sisanya digunakan untuk membilas.

Ekstrak yang diperoleh disaring dengan menggunakan kertas Whatman No.41 dan diisap dengan pompa vakum. Dari filtrat yang diperoleh, pelarutnya diuapkan dalam ruang uap selama 24 jam atau dengan menggunakan rotary evaporator pada suhu 45°C dan tekanan rendah, sehingga diperoleh ekstrak pekat yang akan diuji aktivitas insektisidanya.

Uji Fitokimia

Ekstrak biji *A. reticulata* dianalisis dengan dilakukan uji kandungan alkaloid, saponin, tanin, flavonoid, steroid, triterpenoid, fenolik, dengan langkah-langkah yang dikemukakan oleh Harborne (1987) sebagai berikut:

Identifikasi kandungan alkaloid. Sebanyak 1 ml ekstrak biji *Annona reticulata* dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambah dengan 5 tetes amonia pekat. Setelah itu, disaring kemudian ditambah 2 ml asam sulfat 2N dan dikocok hingga memberi lapisan atas dan bawah. Larutan dibagi menjadi 3 bagian, pada tabung pertama ditambahkan 1 tetes pereaksi Mayer, adanya alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan. Pada tabung kedua ditambah 1 tetes pereaksi

Dragendorff dan terbentuknya endapan menandakan adanya alkaloid. Tabung ketiga ditambah 1 tetes pereaksi Wagner dan terbentuknya endapan coklat menandakan adanya alkaloid.

Uji kandungan steroid dan triterpenoid. Sebanyak 1 ml ekstrak biji *Annona reticulata* dimasukkan dalam tabung reaksi. Kemudian ditambah dengan asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat. Jika terbentuk warna biru atau hijau menandakan adanya steroid. Jika terbentuk warna ungu atau jingga menandakan adanya triterpenoid.

Uji kandungan fenolik. Sebanyak 1 ml ekstrak biji *Annona reticulata* diteteskan pada pelet porselen. Kemudian ditambah dengan metanol, lalu diaduk sampai homogen. Setelah itu, ditambah FeCl_3 . Adanya fenolik ditandai dengan terbentuknya warna hijau, kuning, orange, atau merah.

Uji kandungan flavonoid. Sebanyak 1 ml ekstrak biji *Annona reticulata* dimasukkan dalam tabung reaksi. Kemudian ditambah dengan 5 tetes etanol, lalu dikocok sampai homogen. Setelah itu ditambah dengan pita Mg dan 5 tetes HCl pekat. Jika menghasilkan warna kuning, orange, dan merah menandakan adanya flavonoid.

Uji kandungan saponin. Sebanyak 1 ml ekstrak biji *Annona reticulata* dimasukkan dalam tabung reaksi. Kemudian ditambah 2 ml aquades, lalu dikocok sampai homogen. Setelah itu, dipanaskan selama 2-3 menit. Dinginkan, setelah dingin kocok dengan kuat. Adanya busa yang stabil selama 30 detik menunjukkan sampel mengandung saponin.

Uji kandungan tanin. Sebanyak 1 ml ekstrak biji *Annona reticulata* dimasukkan dalam tabung reaksi. Kemudian ditambah 5 tetes NaCl 10%, lalu dikocok sampai homogen. Setelah itu disaring, filtrat yang dihasilkan ditambah dengan gelatin 1% dan NaCl 10%. Terbentuknya endapan menandakan adanya tanin.

Serangga Uji

Callosobruchus maculatus dewasa dikumpulkan dari biji kacang hijau yang sudah terinfestasi secara alami, kemudian dipelihara pada benih steril di dalam laboratorium pada $26 \pm 1^\circ\text{C}$ dan kelembaban 75%. Imago dibiarkan kawin dan bertelur selama satu minggu, kemudian induk serangga dikeluarkan dan media yang berisi telur disimpan dalam kondisi yang sama sampai dewasa. Generasi berikutnya yang baru muncul digunakan untuk penelitian lebih lanjut.

Metode Pengujian

Pengujian efek kontak ekstrak biji *A. reticulata* dilakukan dengan metode residu pada cawan petri. Berdasarkan hasil uji terdahulu, maka ditentukan lima tingkat konsentrasi yang berjarak geometrik yaitu 0,135%, 0,182%, 0,246%, 0,331%, 0,450% dan kontrol.

Ekstrak pekat biji *A. reticulata* dilarutkan dalam etanol. Larutan yang pertama dibuat yaitu yang mempunyai konsentrasi tertinggi (0,45%), kemudian konsentrasi yang lebih rendah dibuat dengan pengenceran konsentrasi tertinggi.

Ke dalam setiap cawan petri diberikan 0,5 ml larutan sesuai konsentrasi perlakuan, sedangkan kontrol diberikan 0,5 ml etanol. Larutan diratakan pada permukaan cawan petri dengan cara memutar/menggoyangkannya, setelah kering serangga uji dimasukkan ke dalam masing-masing cawan petri sebanyak 20 ekor serangga betina per cawan.

Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap dengan lima perlakuan ekstrak dan kontrol yang diulang sebanyak tiga kali.

Pengamatan

Pengamatan dilakukan setiap hari selama tiga hari setelah perlakuan (hsp). Parameter yang diamati meliputi jumlah serangga uji yang mati, lumpuh dan yang masih hidup.

Analisis Data

Data jumlah serangga yang mati dianalisis dengan analisis probit (Finney, 1971), kemudian ditentukan persamaan regresinya dan dihitung LC50 dan LC95 beserta selang kepercayaannya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui adanya senyawa aktif yang terdapat pada ekstrak biji buah nona (*Annona reticulata*). Hasil identifikasi pada uji fitokimia dapat dilihat pada Tabel 1. Kandungan senyawa metabolit sekunder yang teridentifikasi pada biji *A. reticulata*, adalah: fenolik, flavonoid, dan tanin yang cukup tinggi, alkaloid dan steroid sedang, sedikit saponin, sementara tripenoid tidak muncul.

Zaman dan Pathak (2013) serta Mohamed *et al.* (2021) melaporkan hasil penelitiannya, bahwa pada daun *A. reticulata* mengandung metabolit sekunder seperti alkaloid, steroid, flavonoid, tanin, kuinon, glikosida, fenolik, senyawa asam amino, karbohidrat dan protein. Begitu pula Satyanarayana *et al.* (2013) melaporkan, bahwa pada kulit batang *A. reticulata* mengandung tanin, senyawa alkaloid dan fenolik sedangkan pada akar *A. reticulata* mengandung acetogenin,

alkaloid, flavonoid, tanin, karbohidrat dan protein. Hal ini menunjukkan bahwa hampir tidak ada perbedaan kandungan metabolit sekunder baik pada daun, kulit batang, akar dan biji dari *A. reticulata*.

Tabel 1. Hasil uji fitokimia ekstrak buah *Annona reticulata* L.

Metabolit Sekunder	Ekstrak			
	Tinggi	Sedang	Rendah	Tidak ada
Alkaloid		++		
Fenolik	+++			
Flavonoid	+++			
Tanin	+++			
Steroid		++		
Tripinoid				-
Saponin			+	

Mortalitas

Mortalitas dan kelumpuhan kumulatif imago betina *Callosobruchus maculatus* disajikan dalam Tabel 2, masing-masing untuk pengamatan satu hari setelah perlakuan (hsp), dua hari setelah perlakuan dan tiga hari setelah perlakuan. Kelumpuhan sudah terjadi sejak 1 hsp untuk semua konsentrasi ekstrak yang diberikan. Kematian serangga uji cenderung meningkat dari konsentrasi perlakuan ekstrak yang terendah hingga ke konsentrasi perlakuan yang tertinggi.

Tabel 2. Respon *C. maculatus* terhadap perlakuan ekstrak biji *A. reticulata* pada 1, 2, 3 hari sesudah perlakuan (hsp)

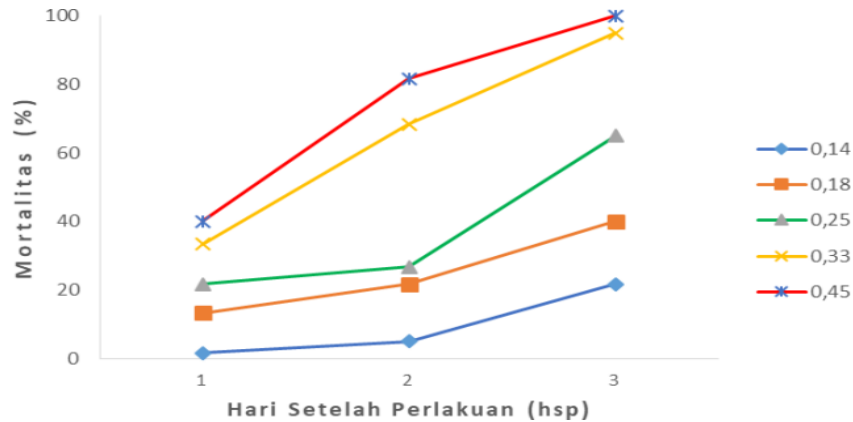
Konsentrasi ekstrak	Ulangan																	
	1			2			3			1			2			3		
	Lumpuh	Mati		Lumpuh	Mati		Lumpuh	Mati		Lumpuh	Mati		Lumpuh	Mati		Lumpuh	Mati	
Hari Setelah Perlakuan (hsp)																		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Kontrol	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,14%	18	19	16	0	0	3	19	18	16	0	0	3	19	17	13	1	3	7
0,18%	15	17	15	2	2	5	14	11	8	4	9	12	6	18	13	2	2	7
0,25%	17	17	10	3	3	10	17	14	3	3	6	17	12	13	8	7	7	12
0,33%	14	9	2	6	11	18	15	6	1	5	14	19	10	4	0	9	16	20
0,45%	11	3	0	9	17	20	15	4	0	5	16	20	10	4	0	10	16	20

Pada 1 hsp perlakuan ekstrak biji *A. reticulata* dengan konsentrasi 0,45% telah mengakibatkan mortalitas dan kelumpuhan rata-rata *C. maculatus* sebesar 100%, sedangkan untuk konsentrasi terendah (0, 14%) dapat mengakibatkan mortalitas dan kelumpuhan serangga uji sebesar 78,33% (Tabel 2). Pada 2 hsp mortalitas dan kelumpuhan *C. maculatus* untuk perlakuan 0,25%, 0,33%, dan 0,45% telah mencapai 100%. Sedangkan pada 3 hsp, mortalitas dan kelumpuhan serangga uji untuk perlakuan 0,14% hanya mencapai 96,67%. Mortalitas dan kelumpuhan cenderung meningkat sesuai dengan bertambahnya waktu (Tabel 2).

Imago betina *C. maculatus* yang diberi perlakuan biji *A. reticulata* pada berbagai konsentrasi menunjukkan respon mortalitas yang meningkat sesuai dengan meningkatnya konsentrasi yang diberikan. Nilai mortalitas serangga uji juga cenderung meningkat mulai hari pertama setelah perlakuan (hsp) hingga hari ketiga setelah perlakuan ekstrak *A. reticulata*, terutama pada konsentrasi 0,33% dan 0,45% (Gambar 1).

Efek mematikan dari ekstrak biji *A. reticulata* sangat tinggi dengan mencapai 100% pada 3 hsp (72 jam). Hasil penelitian dari Rajapakse dan Ratnasekera (2008) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun *A. reticulata* memiliki toksisitas kontak yang kuat terhadap *C. maculatus*, dengan mortalitas 91% pada 72 jam. Ahad *et al.* (2012) juga memperoleh mortalitas 100% *C. maculatus* yang diberi ekstrak etanol daun *A. reticulata* sebesar 3% dalam 72 jam dengan

uji toksisitas langsung. Selanjutnya, Shin *et al.* (2010) melaporkan bahwa ekstrak biji *A. reticulata* menunjukkan aktivitas insektisida terhadap *Myzus persicae* dan *Nilaparvata lugens* dengan nilai LD50 masing-masing 0,45 dan 1,42 mg/ml.



Gambar 1. Perkembangan mortalitas imago betina *C. maculatus* akibat perlakuan ekstrak biji *A. reticulata*

Mohamed *et al.* (2021) meneliti aktivitas insektisida ekstrak metanol daun *A. reticulata* terhadap larva instar empat awal *Culex quinquefasciatus* dan menemukan pengaruh ekstrak pada tahap larva awal sangat tinggi dibandingkan dengan tahap akhir larva. Hal ini membuktikan bahwa potensi ekstrak biji *A. reticulata* cukup tinggi untuk digunakan sebagai insektisida nabati.

Hasil analisis probit hubungan antara konsentrasi ekstrak biji *Annona reticulata* dengan mortalitas imago betina *Callosobruchus maculatus* disajikan pada Tabel 3. Penurunan nilai LC memberi indikasi peningkatan nilai toksisitas dari konsentrasi yang diberikan. Peningkatan signifikan dari jumlah serangga uji juga mengindikasikan bahwa konsentrasi yang diberikan memiliki efek knockdown yang tinggi.

Tabel 3. Parameter regresi probit ekstrak biji *A. reticulata* terhadap imago betina *C. maculatus*

Waktu analisis (hsp)	a ± Sa	b ± Sb	LC ₅₀ (SK 50%)	LC ₉₅ (SK 95%)	g
1	5,86 ± 0,29	2,86 ± 0,50	0,50 (0,42 – 0,71)	1,89 (1,14 – 5,19)	0,12
2	8,57 ± 0,76	6,25 ± 1,25	0,27 (0,20 – 0,37)	0,49 (0,37 – 1,60)	0,41
3	9,40 ± 0,44	6,23 ± 0,64	0,20 (0,18 – 0,21)	0,36 (0,32 – 0,42)	0,04

Keterangan: Sb = simpangan baku; a = koefisien regresi; b = kemiringan regresi; LC = konsentrasi letal; hsp = hari setelah perlakuan

Pada Tabel 3 terlihat bahwa efek knock down dari ekstrak biji *A. reticulata* cukup nyata, ditunjukkan bahwa jumlah persentase serangga uji yang lumpuh cenderung selalu lebih besar dari pada serangga uji yang mati pada 2 hsp (48 jam). Efek seperti ini diduga disebabkan oleh bioaktivitas dari acetogenin. Cara kerja dari acetogenin mirip dengan insektisida Lufenuron dan Cypermetrin yang sudah tersedia secara komersial (Tolosa *et al.*, 2014). Parmar dan Walia (2001) mengemukakan bahwa acetogenin bioaktif seperti annonin dan senyawa terkait, yaitu, squamocin, asimicin, annonacin, dan cohibinsin, banyak terdapat pada ranting dan cabang, buah mentah, serta biji dari beberapa spesies *Annona* (Annonaceae). Sementara Ribeiro *et al.* (2017) mengatakan, bahwa selain toksisitas yang mematikan, ekstrak berbasis acetogenin atau senyawa terisolasi juga mempengaruhi perkembangan serangga dan perilaku makan serta oviposisi.

KESIMPULAN

Kesimpulan-kesimpulan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa biji *Annona reticulata* mengandung alkaloid, fenolik, flavonoid, tanin, steroid, dan saponin.
2. Ekstrak biji *Annona reticulata* mempunyai aktivitas insektisida (efek knock down dan toksisitas) yang sangat tinggi terhadap hama *Callosobruchus maculatus*.

3. Nilai LC95 ekstrak biji *Annona reticulata* terhadap *Callosobruchus maculatus* berturut-turut adalah 1,89% , 0,49% dan 0,36% masing-masing untuk waktu analisis 1, 2, dan 3 hari setelah aplikasi.
4. Biji *Annona reticulata* memiliki potensi yang sangat baik untuk dijadikan bahan pestisida nabati yang dapat dimanfaatkan untuk pengendalian *Callosobruchus maculatus*.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahad, M. A., Sayed, M. A., Siddiqui, M. N., & Haque, M. M. (2012). Evaluation of some indigenous plant extracts against pulse beetle, *Callosobruchus chinensis* L. (Bruchidae: Coleoptera) in stored green gram *Vigna radiata* L.). *Global Journal of Medicinal Plant Research*, 1(1), 33-41. <https://doi.org/10.3329/jesnr.v7i2.22224>
- Arimbawa, I. D. M., Martiningsih, N. G. A. G. E., & Javandira, C. (2018). Uji potensi daun sirsak (*annona muricata* l) untuk mengendalikan hama ulat krop (*Crociodolomia pavonana* F). *Agrimeta*, 8(15), 60-71. <https://e-journal.unmas.ac.id/index.php/agrimeta/article/view/78/73>
- Colom, O. A., Salvatore, A., Willink, E., Ordóñez, R., Isla, M. I., Neske, A., & Bardon, A. (2010). Insecticidal, mutagenic and genotoxic evaluation of annonaceous acetogenins. *Natural Product Communications*, 5(3), 391-394. <https://doi.org/10.1177/1934578X1000500310>
- Finney, D. J. (1971). Probit Analysis. 3rd Ed. Cambridge University Press. Cambridge. England.
- Fitri, A. (2019). Pengaruh ekstrak biji buah srikaya (*Annona squamosa*) terhadap hama kutu putih (*Pseudococcus viburni*). Skripsi. Universitas Islam Negeri Raden Intan. Lampung. 95p. <http://repository.radenintan.ac.id/7288/1/Skripsi%20Full.pdf>
- Harborne J. B. (1998). Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis. 3rd Edition. Chapman and Hall, London.
- Johnson, H. A. (2000). Thwarting Resistance: Annonaceous Acetogenins as News Pesticidal and Antitumor Agents. In: Cutler, S. J., and H. G. Cutler (Ed.). *Biologically Active Natural Products: Pharmaceuticals*. Boca Raton; London; New York: Washington: CRC Press. pp.173-184. <http://ndl.ethernet.edu.et/bitstream/123456789/48282/1/170.pdf.pdf#page=186>
- Kang, J. K., Pittendrigh, B. R., & D. W. (2013). Insect resistance management for stored product pests: A case study of cowpea weevil (*Coleoptera: bruchidae*). *Journal of Economic Entomology*, 106(6), 2473-2490. <https://doi.org/10.1603/EC13340>
- Liaw, C. C., Liou, J. R., Wu, T. Y., Chang, F. R., & Wu, Y. C. (2015). Acetogenins from Annonaceae. *Progress in the Chemistry of Organic Natural Products*, 101, 113-230. https://doi.org/10.1007/978-3-319-22692-7_2
- Massango, H., Faroni, L., Haddi, K., Heleno, F., Jumbo, L. V., & Oliveira, E. (2017). Toxicity and metabolic mechanisms underlying the insecticidal activity of parsley essential oil on bean weevil, *Callosobruchus maculatus*. *Journal of Pest Science*, 90(2), 723-733. <https://doi.org/10.1007/s10340-016-0826-8>
- Mohamed, R. A. E. H., Al-Keridis, L. A., Nagmouchi, S., & Benammar, R. (2021). Susceptibility of *Culex quinquefasciatus* (Say) larvae to methanolic extracts of *Annona reticulata*. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 24 (10), 1077-1083. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2021.1077.1083>
- Parmar, B. S., & Walia, S. (2001). Prospects and problems of phytochemical biopesticides. In: Koul., O, and G.S. Dhaliwal (eds). *Phytochemical Biopesticides*. Hardwood Academic Publishers. Amsterdam. The Netherlands. pp.133-210. <https://link.springer.com/article/10.1007/s11101-017-9512-6>
- Radha, R., & Susheela, P. (2014). Studies on the life history and ovipositional preference of *Callosobruchus maculatus* reared on different pulse. *Research Journal of Animal, Viterinary and Fishery Sciences*, 2(6), 1-5. <http://www.isca.in/AVFS/Archive/v2/i6/1.ISCA-RJAVFS-2014-024.pdf>
- Rajapakse, R. H. S., & Ratnasekera, D. (2008). Pesticide potential of some selected tropical plant extracts against *Callosobruchus maculatus* (F.) and *Callosobruchus chinensis* (L.) (Coleoptera: Bruchidae). *Tropical Agricultural Research and Extension*, 11(1), 69-71. <https://doi.org/10.4038/tare.v11i0.1793>
- Ribeiro, L. P., Souza, C. M., Bicalho, K.U., Baldin, E. L. L., Forim, M. R., Fernandes, J. B., & Vendramim, J. D. (2017). The potential use of *Annona* (Annonaceae) by products as a source of botanical insecticides. *Boletín de la Sociedad Española de Entomología Aplicada (SEEA)*, 2, 26-29. <http://seea.es/pdf/26%20The%20potential%20use%20of%20Annona.pdf>
- Satyanarayana, T., Gangarao, B., Surendra, G., & Rajesh, K. (2013). Pharmacognostical and phytochemical studies of *Annona reticulata* Linn. *International Journal of Research in Pharmacy and Chemistry (IJRPC)*, 3(2), 477-482. <http://ijrpc.com/files/45-3121.pdf>
- Shin, S. H., Choi, G. H., Choi, D. S., Kwon, O. K., Im, G. J., Park, J. U., Choi, B. R., Kim, T. W., & Kim, J. H. (2010). Insecticidal activity of the crude extract and its fractions of custard apple (*Annona reticulata* L.). *Journal of Applied Biological Chemistry*, 53(1), 21-24. <https://doi.org/10.3839/jabc.2010.004>
- Tolosa, D., Hidalgo, J. R., Sal, P.E., Popich, S., Bardón, A., & Neske, A. (2014). Insecticidal effects of the annonaceous acetogenin squamocin and the acetogenin fraction of seeds of *Rollinia occidentalis* on soybean and corn pests. *Journal of Agricultural Chemistry and Environment*, 3(1), 156-160. <https://doi.org/10.4236/jacen.2014.34019>
- Vanichpakorn, P., Vanichpakorn, Y., Kulvijitra, R., & Ding, W. (2014). Bioactivities of *Annona muricata* L. leaf extracts against *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae). Proceedings of the 11th International Working Conference on Stored Product Protection 24-28 November 2014 Chiang Mai, Thailand. pp.1071-1079. <http://spiru.cgahr.ksu.edu/proj/iwscpp/pdf2/11/170.pdf>
- Zaman, K., & Pathak, K. (2013). Pharmacognostical and phytochemical studies on the leaf and stem bark of *Annona reticulata* L. *Journal of Pharmacognosy Phytochemistry*, 1(5), 1-8. https://www.phytojournal.com/vol1Issue5/Issue_jan_2013/1.1.pdf