

5/Bio/1991/015

Re

**ISOLASI Bacillus thuringiensis**  
**DAN PENGUJIAN TOKSISITASNYA TERHADAP**  
**LARVA Plutella xylostella**

**NURWIDIANI**



**JURUSAN BIOLOGI**  
**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM**  
**INSTITUT PERTANIAN BOGOR**

**1991**

@Hak cipta milik IPB University

IPB University



IPB University  
Bogor Indonesia

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang  
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :  
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah  
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.  
2. Dilarang menggunakan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Perpustakaan IPB University

## RINGKASAN

NURWIDIANI. Isolasi Bacillus thuringiensis dan Pengujian Toksisitasnya terhadap Larva Plutella xylostella. Di bawah bimbingan RATNA NURI HADIOETOMO dan TEDJA IMAS.

Tujuan penelitian ini mengisolasi galur-galur B. thuringiensis tambahan dari contoh tanah yang berasal dari daerah peternakan ulat sutra dan menguji toksisitas galur-galur tersebut bersama-sama dengan galur-galur yang diperoleh dari penelitian terdahulu terhadap larva P. xylostella.

Dari 22 contoh tanah yang diperiksa, berhasil diperoleh 1913 isolat Bacillus. Dari isolat-isolat ini, lima isolat (0,26%) diduga sebagai bakteri penghasil kristal protein (p.k.p.). Dari contoh tanah yang diperiksa, ternyata empat (18,18%) mengandung bakteri p.k.p.. Koloni bakteri yang diduga sebagai bakteri p.k.p. semuanya tampak berwarna putih dengan permukaan kasar, bentuk tak beraturan dan menyebar, tepian tak beraturan dan mempunyai elevasi timbul. Selain itu, kelima isolat tersebut mempunyai endospora berbentuk oval dengan letak subterminal dan bentuk kristal protein bulat.

Isolat-isolat bakteri p.k.p. yang digunakan untuk uji toksisitas berasal dari hasil isolasi sendiri ditambah dengan 50 isolat dari hasil penelitian terdahulu.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



Dari 55 isolat bakteri p.k.p. yang diuji, hanya 22 isolat (40%) dapat menyebabkan kematian larva secara total, dua isolat dapat membunuh 90% larva, 21 isolat (38,18%) dapat membunuh 5-40% larva, sedangkan 10 isolat (18,18%) tidak dapat membunuh larva sama sekali. Dari seluruh jangka waktu pengamatan, tidak ditemui larva yang mati pada cawan kontrol.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang  
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

ISOLASI Bacillus thuringiensis  
DAN PENGUJIAN TOKSISITASNYA TERHADAP  
LARVA Plutella xylostella

NURWIDIANI

Karya Ilmiah

sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Biologi

pada

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Institut Pertanian Bogor

JURUSAN BIOLOGI

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

INSTITUT PERTANIAN BOGOR

BOGOR

1 9 9 1

Judul : ISOLASI Bacillus thuringiensis DAN  
PENJUJIAN TOKSISITASNYA TERHADAP LARVA  
Plutella xylostella

Nama Mahasiswa: NURWIDIANI

N I M : G22.0473

Menyetujui:

*R. S. Hadioetomo*

Dr. Ir. Ratna Siri Hadioetomo  
Pembimbing I

*Hastuti*

Ir. Tedia Imas, MS.  
Pembimbing II



Mengetahui:

*Mansioer*

Drh. Ikin Mansioer, M. Sc.  
Ketua Jurusan

Tanggal Lulus: 9 APR 1991

## KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, penulis panjatkan ke khadirat Allah SWT atas segala rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan laporan masalah khusus ini.

Laporan ini ditulis berdasarkan penelitian yang dilakukan mulai bulan Agustus 1989 sampai dengan bulan April 1990 di Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.

Pada kesempatan ini, penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Dr. Ir. Retna Siri Hadioetomo dan Ir. Tedja Imas, MS., atas segala bimbingan dan pengarahan yang diberikan selama penulisan laporan ini.
2. Dr. Jatnika, Ir. Tata, MS. dan Bapak Iskandar dari Lembaga Penelitian Hortikultura Segunung, Cipanas, Jawa Barat yang telah menyediakan larva Plutella xylostella instar pertama.
3. Staf dan karyawan Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, FMIPA, IPB, atas segala bantuan dan penyediaan fasilitas untuk penelitian ini.
4. Ir. Diah Puswardani, Ir. Nunik Fajarwati, Mbak Retno, Sulandi, Ir. Resopim, Ir. Iman Pusmana, Ir. Abiyono Tavipa, yang telah memberikan saran, semangat serta membantu pelaksanaan penelitian.



5. Bapak Tateng Sutarman, Ibu Wiarsih, Teh Ita, dan Isan atas bantuan serta dukungan semangat dan doa yang senantiasa diberikan.

6. Semua pihak yang tidak mungkin penulis sebutkan satu persatu yang telah membantu sejak persiapan penelitian sampai dengan penulisan laporan ini.

Penulis menyadari bahwa laporan ini masih jauh dari sempurna. Walaupun demikian, semoga laporan ini memberi manfaat kepada semua pihak yang memerlukannya. Kritik dan saran masih penulis harapkan untuk kebaikan bersama.

Bogor, April 1991

Penulis

## RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Tasikmalaya pada tanggal 21 Agustus 1966 sebagai anak kedua dari tiga bersaudara dari ayah Tateng Sutarman dan ibu Wiarsih.

Pada tahun 1979, penulis lulus dari SD Negeri Empang 3 Bogor, dan lulus dari SMP Negeri 1 Bogor serta SMA Negeri 1 Bogor pada tahun 1982 dan 1985.

Penulis terdaftar sebagai mahasiswa Institut Pertanian Bogor pada tahun 1985 melalui jalur Penelusuran Minat Dan Kemampuan (PMDK). Pada tahun 1986 terdaftar sebagai mahasiswa di Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.

Selama di Institut Pertanian Bogor, penulis pernah menjadi Asisten Luar Biasa pada mata ajaran Mikrobiologi Dasar pada tahun 1990.



## DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL .....	xi
DAFTAR GAMBAR .....	xii
PENDAHULUAN .....	1
TINJAUAN PUSTAKA .....	3
Pengendalian Hama Pertanian .....	3
Bacillus Sebagai Insektisida Mikroba .....	5
Sejarah dan Distribusi <u>Bacillus thuringiensis</u> .....	7
Ciri-ciri Morfologi dan Fisiologi <u>Bacillus thuringiensis</u> .....	10
Toksin-toksin <u>Bacillus thuringiensis</u> .....	12
Delta-endotoksin .....	12
Pembentukan Kristal .....	13
Mekanisme Kerja Kristal Protein .....	14
Alfa-eksotoksin .....	15
Beta-eksotoksin .....	15
Faktor Ku u ( <u>louse factor</u> ) .....	16
Spora .....	16
Spektrum Inang <u>Bacillus thuringiensis</u> .....	16
Biologi <u>Plutella xylostella</u> .....	19
BAHAN DAN METODE ..	22
Waktu dan Tempat Penelitian .....	22
Isolasi <u>Bacillus thuringiensis</u> .....	22



Pemeliharaan Larva Serangga .....	24
Penyiapan Suspensi Bakteri Penghasil Kristal Protein (p.k.p.) .....	26
Pengujian Toksisitas Bakteri p.k.p. ....	27
HASIL DAN PEMBAHASAN .....	30
Hasil .....	30
Pembahasan .....	38
KESIMPULAN .....	46
SARAN .....	48
DAFTAR PUSTAKA .....	49
LAMPIRAN .....	54

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
    - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
    - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
  2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

## DAFTAR TABEL

Nomer	Teks	Halaman
1.	Jumlah Isolat <u>Bacillus</u> yang Diamati dan Isolat Bakteri Penghasil Kristal Protein (p.k.p.) yang Diperoleh .....	31
2.	Hasil Isolasi <u>Bacillus thuringiensis</u> dari Berbagai Contoh Tanah di Beberapa Kabupaten di Indonesia .....	32
3.	Persentase Mortalitas Larva pada Uji Toksisitas Terhadap <u>Plutella xylostella</u> .....	34
<u>Lampiran</u>		
1.	Rapat Optis dan Konsentrasi Spora Suspensi Biakan pada Berbagai Tingkat Pengenceran .....	55
2.	Hasil Pengujian Terperinci Toksisitas Bakteri Penghasil Kristal Protein Terhadap Larva <u>P. xylostella</u> Instar Ketiga .....	57
3.	Sidik Ragam Rancangan Acak Lengkap Uji Toksisitas Bakteri Penghasil Kristal Protein Terhadap Larva <u>P. xylostella</u> Instar Ketiga Pada Hari Pertama .....	63
4.	Hasil Uji Beda Nyata Terkecil Pada Hari Pertama .....	63
5.	Sidik Ragam Rancangan Acak Lengkap Uji Toksisitas Bakteri Penghasil Kristal Protein terhadap Larva <u>P. xylostella</u> Pada Hari Kedua .....	65
6.	Hasil Uji Beda Nyata Terkecil Pada Hari Kedua .....	65

## DAFTAR GAMBAR

### T e k s

Nomer		Halaman
1.	Koloni-koloni yang Memperlihatkan Ciri-ciri <u>Bacillus</u> Hasil Penggoresan dengan Tusuk Gigi Steril Pada Medium NA .....	24
2.	Hasil Pemurnian Bakteri Penghasil Kristal Protein dengan Menggunakan Metode Penggoresan Kuadran .....	25
3.	Biakan Murni Bakteri Penghasil Kristal Protein yang Disimpan Dalam Agar Miring NA pada Suhu 4°C .....	25
4.	Tempat Pemeliharaan Larva <u>P. xylostella</u> ...	26
5.	Pengujian Suspensi Spora dan Kristal Bakteri Penghasil Kristal Protein Terhadap Larva <u>P. xylostella</u> yang Diberi Makan Daun Sawi .....	29
6.	Koloni-koloni yang Diduga Sebagai Bakteri Penghasil Kristal Protein .....	33
7.	Bentuk Endospora dan Protein Kristal Isolat Hasil Isolasi .....	33
8.	Penampakan Larva <u>P. xylostella</u> yang Telah Mati dengan Tubuh Berwarna Hitam Kering Dan Melengkung .....	37

### Lampiran

1.	Kurva Standar yang Menyatakan Hubungan Antara Kekorutan dengan Konsentrasi Spora Dalam Biakan Isolat N.01 .....	56
----	---	----

## PENDAHULUAN

Bacillus thuringiensis sudah lama dikenal orang sebagai salah satu insektisida mikroba yang bersifat patogen terhadap serangga. Sifat patogen yang dimilikinya disebabkan karena bakteri ini memproduksi beberapa macam toksin yang bersifat insektisida, di antaranya delta-endotoksin, alfa-eksotoksin dan beta-eksotoksin (Dulmage, 1981; Dubois dan Lewis, 1981). Di antara toksin-toksin tersebut, delta-endotoksin merupakan salah satu toksin yang sudah diproduksi secara komersial oleh beberapa negara, di antaranya Belgia, Amerika Serikat, Perancis, Rusia dan Jepang (Dubois dan Lewis, 1981).

Di Indonesia produk-produk komersial berbahan aktif B. thuringiensis sudah dikenal dengan merk dagang Bactospeine, Dipel dan Thuricide, masing-masing diimpor dari negara Belgia, Amerika dan Switzerland (Ditjen Pertanian Tanaman Pangan, 1988). Bahan aktif B. thuringiensis yang digunakan dalam produk komersial tersebut adalah galur kurstaki HD1 (Dubois dan Lewis, 1981). Di Indonesia, Bactospeine dan Dipel sudah dikenal oleh petani di Pangalengan sejak tahun 1983, sedangkan Thuricide baru dikenal pada tahun 1985 (Tavipa, 1990). Insektisida mikroba tersebut sudah digunakan untuk mengendalikan hama serangga pada tanaman kubis, kelapa sawit, tomat dan tebu (Ditjen Pertanian Tanaman Pangan, 1988).



B. thuringiensis dapat diisolasi dari serangga yang sudah mati atau yang sudah kering (Burgerjon dan Martouret, 1971), atau dari tanah. Usaha untuk mengisolasi galur-galur B. thuringiensis asli Indonesia telah dirintis di Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor. Beberapa penelitian terdahulu yang dilakukan di laboratorium ini telah menghasilkan sejumlah isolat B. thuringiensis. Sebagian besar isolat tersebut sudah diujikan terhadap beberapa macam larva serangga.

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi galur-galur B. thuringiensis tambahan dari contoh tanah yang berasal dari daerah peternakan ulat sutra dan menguji toksisitas galur-galur tersebut bersama-sama dengan galur-galur yang diperoleh dari penelitian terdahulu terhadap larva Plutella xylostella.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



## PINJAUAN PUSTAKA

### Pengendalian Hama Pertanian

Pengendalian populasi hama merupakan salah satu cara yang cukup penting untuk memperoleh hasil panen yang lebih besar dengan kualitas yang lebih baik. Menurut Ramulu (1979), terdapat berbagai cara dalam usaha pengendalian hama pertanian, di antaranya ialah pengendalian hama secara legislatif, mekanik, kimiawi, fisik, biologi atau melalui cara-cara budidaya tanaman.

Di antara cara-cara pengendalian hama tersebut, pengendalian hama secara kimia dengan menggunakan insektisida lebih banyak digunakan, karena mempunyai beberapa keuntungan, yaitu aplikasinya di lapangan relatif mudah, dapat memberikan hasil yang sangat cepat, bahan yang bersangkutan dapat diperoleh dengan mudah, serta harganya relatif murah (Daryanto, 1985). Akan tetapi, penggunaan insektisida yang kurang bijaksana dapat menimbulkan dampak negatif, seperti timbulnya pengaruh samping terhadap serangga bukan sasaran, resistensi serangga hama, timbulnya resurgensi hama, serta residunya bersifat toksik dan tidak selalu mudah diuraikan di alam (Doutt, 1967; Kilin, 1979).

Kemungkinan adanya dampak-dampak negatif tersebut menyebabkan para ahli memusatkan kembali perhatiannya pada pengendalian hama terpadu yang melibatkan pengendalian secara hayati (Oka dan Sukardi, 1982). Menurut pendapat

DeBach (1964), pengendalian hayati merupakan kegiatan parasit, predator dan patogen dalam memelihara kepadatan organisme lain pada tingkat populasi rata-rata yang lebih rendah daripada tingkat populasi tanpa kegiatan parasit, predator dan patogen yang bersangkutan. Menurut van Emden (1980), pengendalian hayati mempunyai beberapa keuntungan, yaitu tidak toksik terhadap manusia dan hewan berguna, tidak menimbulkan resistensi dan resurgensi hama, mempunyai spesifisitas yang tinggi dan tidak menimbulkan residu yang dapat mencemari lingkungan.

Selain mempunyai beberapa keuntungan, pengendalian hayati juga mempunyai beberapa kekurangan, diantaranya adalah pengaruhnya relatif lambat (inang tidak segera mati) dan biaya produksi relatif mahal (van Emden, 1980).

Menurut Tanada (1967) dan van den Bosch (1982), mikroorganisme yang digunakan dalam pengendalian hayati meliputi bakteri, virus, cendawan dan nematoda yang bersifat patogen terhadap serangga (dikenal sebagai insektisida mikroba).

Bakteri yang digunakan sebagai insektisida mikroba pada umumnya berasal dari genus Bacillus yang bersifat patogen terhadap serangga. Salah satu ciri genus Bacillus yaitu dapat membentuk endospora pada waktu pertumbuhan vegetatif (Bucher, 1981).

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



## Bacillus Sebagai Insektisida Mikroba

Menurut Bucher (1981), Bacillus yang digunakan sebagai insektisida mikroba dapat dikelompokkan menjadi patogen obligat (contoh: B. popilliae dan B. larvae), pembentuk spora berkrystal (contoh: B. thuringiensis) dan patogen fakultatif (contoh: B. cereus dan B. sphaericus).

Menurut Aronson, Beckman dan Dunn (1986), ada tiga spesies Bacillus yang telah diproduksi secara komersial sebagai insektisida mikroba yaitu B. thuringiensis, B. popilliae dan B. lentimorbus. Di Amerika Serikat sudah terdaftar 410 formulasi B. thuringiensis serta enam formulasi B. popilliae dan B. lentimorbus. Formulasi-formulasi ini telah diijinkan sebagai pengendali hama serangga di negara tersebut. Di pihak lain, belum ada formulasi untuk B. sphaericus, tetapi khusus B. sphaericus galur 1593 sudah dievaluasi sampai taraf pilot batches untuk produk komersial.

Sebenarnya patogen pertama pada serangga yang dikembangkan, dipasarkan dan digunakan sebagai insektisida mikroba adalah B. popilliae (Van den Bosch, 1982). Akan tetapi, karena bakteri ini merupakan patogen obligat pada serangga, maka spora bakteri ini hanya dapat diperoleh dengan cara mengkulturkannya pada serangga inangnya, sehingga biaya produksi menjadi sangat mahal (Cox dan Atkin, 1979). Bakteri ini banyak digunakan untuk membunuh

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :  
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah  
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.  
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

kumbang Jepang popillia japonica (Tanada, 1967; Van den Bosch, 1982). Demikian juga halnya dengan B. lentimorbus, sporanya hanya dapat diperoleh secara in vivo menggunakan serangga tertentu sebagai inangnya. Penggunaan spora B. lentimorbus terbatas pada kumbang dari ordo Coleoptera (Aronson et al., 1986).

Aronson et al. (1986) juga mengemukakan bahwa penyebaran B. sphaericus cukup luas, meliputi tanah maupun perairan. Akan tetapi, galur-galur B. sphaericus mula-mula diisolasi dari larva nyamuk Culex spp. dan Anopheles spp. yang telah mati. Demikian juga, galur-galur B. sphaericus banyak diisolasi dari nyamuk Aedes spp. yang telah mati. Serangga sasaran yang potensial untuk B. sphaericus adalah larva nyamuk spesies tertentu. Sebenarnya, B. sphaericus memiliki potensi yang lebih besar dalam hal daya bunuhnya terhadap larva nyamuk dan kemampuannya membelah diri di alam dibandingkan dengan B. thuringiensis subsp. israelensis. Dalam keadaan tertentu, B. sphaericus dapat menimbulkan penyakit dalam suatu populasi nyamuk. B. sphaericus ini kemudian menyebar dan menetap di lingkungan perairan sehingga menarik sekali apabila digunakan untuk mengendalikan nyamuk pada habitat-habitat yang sulit dicapai seperti genangan-genangan air pada lubang-lubang pohon.

Di antara ketiga spesies Bacillus tersebut, penggunaan B. thuringiensis sebagai insektisida mikroba sudah sangat luas, yaitu dalam bidang pertanian, kehutanan dan kesehatan (Dubois dan Lewis, 1981). Insektisida mikroba ini mempunyai beberapa keuntungan, yaitu bersifat spesifik, aman untuk lingkungan (Van den Bosch, 1982), tidak beracun, tidak patogenik terhadap manusia dan hewan berguna, mudah diproduksi melalui fermentasi modern dan mudah disimpan (Van emden, 1980).

Di samping memiliki keuntungan, penggunaan B. thuringiensis sebagai insektisida mikroba juga mempunyai beberapa kekurangan, yaitu biaya produksinya relatif mahal, sensitif terhadap faktor fisik di lingkungan (seperti radiasi ultra violet, pH dan panas), dan tidak dapat dipatenkan seperti halnya insektisida kimia karena mudah diisolasi dari alam (Van den Bosch, 1982).

#### Sejarah dan Distribusi B. thuringiensis

Pada tahun 1901 dan 1902, bakteri pembentuk spora diisolasi oleh Ishiwata dari larva ulat sutra (Bombyx mori) yang telah mati dan dikenal sebagai B. sotto. Pada tahun 1911, seorang ahli serangga Jerman bernama Berliner mengisolasi bakteri pembentuk spora dari Anagasta kuhniella di Thuringia; ternyata bakteri ini memiliki tubuh paraspora yang kemudian pada tahun 1915 dinamakan B.

thuringiensis (de Barjac dan Bonnefoi, 1968). Kultur ini hilang, tetapi pada tahun 1927 Mattes berhasil mengisolasi kembali mikroorganisme ini. Sejak saat itu, mikroorganisme ini menjadi sumber penelitian yang ekstensif dan merupakan awal perkembangan B. thuringiensis secara komersial. Ketika bakteri tersebut diidentifikasi pada pertengahan tahun 1950, ternyata galur B. sotto Ishiwata dan B. thuringiensis Berliner adalah galur-galur spesies yang sama (Dubois dan Lewis, 1981).

Perkembangan B. thuringiensis sebagai insektisida mikroba dimulai pada tahun 1929, ketika Metalnikov dan Chorine untuk pertama kalinya menggunakan B. thuringiensis untuk mengendalikan ngengat gypsy. Pada tahun 1938 produk komersial B. thuringiensis pertama kali dibuat dengan nama dagang Sporeine. Sampai awal tahun 1960, B. thuringiensis yang diproduksi secara komersial terbatas hanya pada B. thuringiensis galur Berliner. Akan tetapi, setelah dilakukan penelitian terhadap galur-galur B. thuringiensis lainnya, bakteri yang banyak digunakan adalah galur kurstaki ID1. Hingga saat ini, produk komersial B. thuringiensis berupa campuran spora dan kristal telah diproduksi oleh negara Amerika, Perancis, Rusia dan Jepang. Sebagai contoh, dua perusahaan di Amerika yaitu Sandoz Inc. dan Abbott Laboratories sudah memproduksi

bioinsektisida berbahan aktif B. thuringiensis, masing-masing dengan merk dagang Thuricide dan Dipel (Dubois dan Lewis, 1981).

Distribusi B. thuringiensis sangat luas, meliputi tanah atau perairan. Sejak pertama kali ditemukan, B. thuringiensis dapat diisolasi dari larva ulat sutra (B. mori) yang sudah mati (de Barjac dan Bonnefoi, 1968). Menurut Ohba dan Aizawa (1986), salah satu sumber yang paling baik untuk mengisolasi B. thuringiensis adalah limbah peternakan ulat sutra, karena serangan bakteri ini sesungguhnya merupakan endemi di daerah peternakan ulat sutra. Isolasi bakteri tersebut telah dilakukan oleh Ohba dan Aizawa (1986), dengan frekuensi 6,1% di Fukushima dan 11,4% di Fukuoka. Selain itu, sudah ada yang melaporkan bahwa dari tanah-tanah hutan dan tanah-tanah yang bukan tempat peternakan ulat sutra di Jepang, serta tanah-tanah di Amerika Serikat sudah berhasil diisolasi galur-galur baru B. thuringiensis. Menurut Margalit dan Dean (1985), galur-galur baru B. thuringiensis juga berhasil diisolasi dari kolam rawa-rawa gurun Negev, Israel.

Seperti yang disebutkan di atas, frekuensi kandungan B. thuringiensis di dalam tanah cukup beragam. Keadaan ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor, di antaranya kelembaban, polusi udara (Pinnock, Brand dan Milstead,



1971), nutrisi dan adanya bakteri predator (contoh Cupriavidus necator) yang dapat menyerang spora B. thuringiensis (Casida, 1988). Diketahui bahwa viabilitas spora cepat menurun di dalam tanah yang disimpan cukup lama (Pruell, Burges dan Wyborn, 1980). Menurut tinjauan oleh Aronson et al. (1986), spora B. thuringiensis subsp. aizawai akan hilang 135 hari sesudah contoh tanah tersebut diinokulasi dengan bakteri yang bersangkutan di bawah kondisi yang tidak menunjang perkecambahan spora.

#### Ciri-ciri Morfologi dan Fisiologi B. thuringiensis

Menurut Holt (1972), B. thuringiensis termasuk dalam genus Bacillus, famili Bacillaceae, ordo Eubacteriales, dan kelas Shcizomycetes.

Koloni B. thuringiensis dalam medium padat tampak berupa bulatan tidak teratur, berwarna putih dengan diameter 5-10  $\mu\text{m}$ . Permukaan koloninya kasar dan tidak rata (Bucher, 1981). Sel vegetatifnya mempunyai panjang 3-5  $\mu\text{m}$  dan lebar 1,0-1,2  $\mu\text{m}$  (Fischer, 1974). Sporanya berbentuk oval dan letaknya subterminal (Barjac dan Bonnefoi, 1968). B. thuringiensis dapat dibedakan dari Bacillus lain yang juga membentuk tubuh paraspora (B. popilliae dan B. fribourgensis) karena bentuk selnya ramping atau langsing. Pada B. popilliae dan B. fribourgensis pembentukan spora

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

menyebabkan sel vegetatifnya menjadi bengkak sehingga tampak seperti telapak sepatu (Sneath, 1936).

Adanya kristal protein merupakan salah satu ciri pembeda antara B. thuringiensis dan B. cereus (Heimpel, 1967). Akan tetapi, berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Aronson et al. (1986), B. cereus 569 dapat menerima plasmid yang menyandikan pembentukan protoksin dari B. thuringiensis subsp. kurstaki HD1 dengan frekuensi kurang dari satu persen dan dari B. thuringiensis subsp. kurstaki HD73 dengan frekuensi 30-40%. Menurut Aronson et al. (1986), pada tahun 1982 Gonzales et al. pertama kali melaporkan pemindahan plasmid di antara sel-sel B. thuringiensis melalui perkawinan antar sel. Setelah menerima plasmid yang mengandung gen-gen protoksin, sel resipien (transipien) dapat menghasilkan protoksin dengan sifat antigenik yang sama dengan yang dimiliki galur donor.

B. thuringiensis merupakan bakteri aerob gram positif dan motil dengan suhu pertumbuhan maksimum dan minimum masing-masing 40-45°C dan 10-15°C (Fischer, 1974). Secara fisiologis B. thuringiensis dapat mereduksi nitrat menjadi nitrit, tetapi tidak dapat mereduksi sulfat menjadi sulfid. Produksi asam dihasilkan dari peruraian ribosa, glukosa, fruktosa, gliserol, maltosa, trehalosa dan pati. Asam tidak dihasilkan dari peruraian arabinosa, xilosa, galaktosa, sorbosa, rannosa, eritritol, sorbitol, manitol, dulcitol,

meso-inositol, laktosa, rafinosa dan inulin. B. thuringiensis memberikan reaksi positif pada uji merah metil dan uji katalase, akan tetapi memberikan reaksi negatif pada uji oksidase dan pembentukan indol. Hemolisis positif terjadi pada medium agar darah kuda. Bakteri ini tidak dapat menggunakan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon (de Barjac dan Bonnefoi, 1968).

#### Toksin-toksin B. thuringiensis

Menurut Dulmage (1981), B. thuringiensis menghasilkan beberapa macam toksin, di antaranya delta-endotoksin, alfa-eksotoksin, beta-eksotoksin dan faktor kutu (louse factor).

Delta-endotoksin. Toksin ini disebut juga kristal protein (Margalit dan Dean, 1985). Bentuk kristal protein B. thuringiensis bermacam-macam, di antaranya ialah bipiramida, kuboid atau tak beraturan (Aronson et al., 1986). Selain itu, ada juga yang berbentuk romboid (Ohba dan Aizawa, 1979) dan bulat (Ohba dan Aizawa, 1986). Mengenai korelasi antara toksisitas dengan bentuk kristal protein ada beberapa pendapat yang berbeda. Hofte dan Whiteley (1989), menyatakan bahwa kristal protein yang spesifik terhadap Lepidoptera merupakan kristal protein yang paling banyak dipelajari. Dari 20 gryl sekuen, sebanyak enam gen yang berbeda bisa dikenal di antara ke-20 sekuen



tersebut. Seluruhnya ada 20 gen yang menyandikan 130-140 kDa protein terakumulasi dalam kristal protein berbentuk bipiramida selama proses sporulasi B. thuringiensis. Namun di pihak lain ternyata Ohba dan Aizawa (1986) menemukan kristal protein berbentuk bulat yang toksik terhadap Lepidoptera (Bombyx mori) dan kristal protein berbentuk bipiramida yang tidak toksik terhadap larva serangga yang sama.

Kristal protein tidak larut dalam air atau pelarut organik, tidak tahan panas dan toksisitasnya akan hilang apabila diperlakukan dengan denaturasi protein biasa. Kristal protein tersusun dari 18 macam asam amino dan kira-kira 25% dari asam amino tersebut adalah asam aspartat dan asam Glutamat (Heimpel, 1967). Kristal protein dari subspecies-subspecies B. thuringiensis pada umumnya merupakan polipeptida berukuran 130-140 kDa (Aronson et al., 1986).

Pembentukan Kristal. Kristal dibentuk dalam sel vegetatif selama fase pembentukan spora dan dibentuk di luar eksosporium, kecuali pada B. thuringiensis var. finitimus yang kristal proteinnya dibentuk di antara spora dan eksosporium (Fischer, 1974).

Pembentukan kristal terdiri dari tujuh tahap dan berlangsung selama 12 jam sampai spora dan kristal terbentuk sempurna. Kristal dihasilkan sesudah bakteri benar-benar

akan bersporulasi. Sebuah mRNA stabil dibentuk  $3/4$  jam sebelum tahap I sporulasi. Sintesis kristal pertama kali terdeteksi pada tahap II atau III, tetapi pertumbuhan yang utama terjadi pada tahap III dan IV. Ukuran kristal mencapai maksimum pada tahap V. Pada waktu berlangsungnya proses sporulasi, tidak terjadi sintesis DNA atau RNA (Fast, 1981). Pembentukan kristal pada umumnya disandikan oleh plasmid. Plasmid akan hilang apabila galur B. thuringiensis ditumbuhkan pada suhu di atas suhu pertumbuhan normal. Sebagai contoh, galur HD-9 menghasilkan protoksin (kristal) apabila ditumbuhkan pada suhu  $25^{\circ}\text{C}$ , tetapi apabila ditumbuhkan pada suhu  $30-32^{\circ}\text{C}$  galur ini tidak dapat membentuk kristal (Aronson *et al.*, 1986).

Mekanisme kerja kristal protein. Kristal protein masih berupa protoksin sebelum kristal protein tersebut diuraikan oleh enzim proteolitik menjadi pecahan-pecahan polipeptida yang bersifat toksik di dalam usus serangga. Toksin yang dihasilkan berinteraksi dengan sel-sel epitelium usus pada serangga yang rentan. Toksin ini menyebabkan terbentuknya lubang pada dinding usus sehingga merusak keseimbangan osmotik, sehingga sel menjadi bengkak (Hofte dan Whiteley, 1989). Bengkaknya sel menyebabkan terganggunya transport glukosa, pengambilan oksigen dan hilangnya ATP dengan cepat. Selain itu, keseimbangan pH dan pengambilan ion di dalam hemolimfa menjadi terganggu.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Kejadian ini berakhir dengan kematian serangga (Aronson et al., 1986).

Alfa-eksotoksin. Toksin ini ditemukan dalam supernatan pada proses fermentasi dan oleh Toumanoff disebut sebagai enzim lesitinase C. Toksin ini larut dalam air, tidak tahan panas dan dihasilkan oleh bakteri lain selain B. thuringiensis. Adanya toksin yang serupa, tetapi bukan lesitinase C dilaporkan oleh Krieg. Toksin ini toksik terhadap tikus dan Plutella maculipennis dan dinamakan faktor tikus (mouse factor) atau toksin termosensitif (Dubois dan Lewis, 1981).

Beta-eksotoksin. Toksin ini larut dalam air, tahan panas dan sangat toksik terhadap beberapa spesies lalat (Dulmage, 1981). Toksin ini dikeluarkan dan disebarkan ke medium sekelilingnya pada waktu berlangsungnya fermentasi selama pertumbuhan vegetatif (Dubois dan Lewis, 1981). Setelah diidentifikasi, ternyata toksin ini merupakan analog ATP (Dulmage, 1981). Menurut Aronson et al. (1986), beta-eksotoksin merupakan adenina nukleotida yang menghambat sintesis RNA pada serangga dan hewan lainnya. Selain itu, beta-eksotoksin bersifat toksik terhadap beberapa spesies vertebrata. Karena bersifat toksik terhadap vertebrata, maka toksin ini tidak digunakan sebagai pestisida, kecuali di Uni Soviet (Lynch dan Hobbie, 1988).

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Faktor kutu (louse factor). Adanya toksin ini pertama kali dilaporkan pada tahun 1974, yaitu berupa ekso-toksin yang dihasilkan oleh beberapa galur B. thuringiensis. Toksin ini larut dalam air, tahan panas dan dihasilkan oleh galur-galur B. thuringiensis yang tidak menghasilkan beta-eksotoksin (Dubois dan Lewis, 1981).

Spora. Endospora dapat bertahan hidup dalam keadaan kekurangan nutrisi, tahan terhadap panas dan unsur-unsur fisik lainnya seperti pembekuan, kekeringan, radiasi ultraviolet serta terhadap bahan-bahan kimia yang dapat menghancurkan bakteri yang tidak membentuk spora. Ketahanan tersebut disebabkan oleh adanya selubung spora yang tebal dan keras (Hadiotomo, 1985). Selain itu, adanya kompleks Ca-dipikolinat yang merupakan 10% dari berat kering spora menyebabkan spora tahan terhadap panas dan dapat mempertahankan keadaan dorman (Dawes dan Sutherland, 1976).

Menurut laporan Dubois dan Lewis (1981), pada selubung spora B. thuringiensis ditemukan protein yang sama dengan delta-endotoksin. Spora juga toksik terhadap beberapa spesies ordo Lepidoptera. Adanya spora meningkatkan toksisitas B. thuringiensis terhadap serangga sasaran.

Spektrum Inang B. thuringiensis

B. thuringiensis dan galur-galurnya dapat membunuh 137 spesies serangga anggota Lepidoptera, Hymenoptera,

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :  
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah  
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.  
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Diptera dan Coleoptera. Pengujian toksisitas ini dilakukan di luar laboratorium (Heimpel, 1967). Selain itu, aktivitas entomopatogen galur-galur B. thuringiensis berbeda-beda untuk berbagai spesies serangga. Spesies yang paling rentan adalah spesies dalam ordo Lepidoptera, Coleoptera dan Orthoptera (Burgerjon dan Martouret, 1971).

Spesifisitas B. thuringiensis ditentukan oleh keadaan usus larva yang mempengaruhi kelarutan dan/atau pemecahan protoksin serta ditentukan juga oleh adanya situs pengikatan yang spesifik dalam usus tiap-tiap serangga. Serangga-serangga tertentu kurang rentan terhadap kristal protein B. thuringiensis, hal ini disebabkan karena tidak efisiennya kelarutan kristal protein di dalam usus serangga tersebut. Secara *in vitro*, kelarutan kristal protein secara nyata akan meruikan aktivitas toksik. Toksin B. thuringiensis var. kurstaki akan berikatan dengan suatu glikoprotein yang dikenal sebagai N-asetilgalaktosamina pada sel epitelium usus serangga yang rentan. Dengan adanya pengikatan tersebut, diduga sel epitelium usus tersebut akan mengalami lisis (Hofte dan Whiteley, 1969).

Dalam usus larva, pH mempengaruhi kelarutan kristal protein. Selain dipengaruhi oleh pH alkalin, perombakan kristal protein menjadi fragmen-fragmen toksik ditentukan pula oleh adanya enzim proteolitik yang sesuai. Kristal protein yang berupa protoksin berukuran 130-140 kDa

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



diuraikan oleh enzim proteolitik menjadi fragmen-fragmen toksin berukuran 60-70 kDa (Hofte dan Whiteley, 1989). Pada B. thuringiensis var. kurstaki, kristal protein berupa subunit tunggal glikoprotein dengan BM  $1,34 \times 10^5$  dalam usus serangga akan diuraikan oleh enzim proteolitik menjadi toksin berukuran  $6,8 \times 10^4$  (Tyrel et al., 1981).

Berdasarkan kerentanan terhadap campuran spora dan kristal, Krieg (1963) dan Aronson et al. (1986), mengelompokkan serangga menjadi empat tipe. Serangga tipe 1 akan mati dengan cepat disebabkan oleh kristal protein, sedangkan spora tidak dapat meningkatkan toksisitasnya. Pada tipe ini pH usus sangat tinggi 9,5-10,5. Contohnya adalah Bombyx mori. Serangga tipe 2 akan mati dengan adanya kristal protein dan efeknya akan bertambah dengan adanya spora. Pada tipe ini pH usus berkisar antara 7,5-9,5. Sebagai contoh adalah spesies-spesies anggota Lepidoptera pada umumnya. Serangga tipe 3 hanya mati oleh campuran spora dan kristal. Pada tipe ini aksi kristal protein menyebabkan pH menjadi netral, sehingga memungkinkan spora berkecambah. Serangga akan mati sesudah Bacillus mencapai hemocoel. Contohnya adalah Anagasta kuhniella. Serangga tipe 4 tidak mati meskipun memakan campuran spora dan kristal. Tidak terjadi efek toksik meskipun pH usus cukup tinggi (9,5-10,5). Sebagai contoh adalah larva Noctuidae yang merupakan anggota Lepidoptera.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah  
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

## Biologi Plutella xylostella

Menurut tinjauan oleh Hasibuan (1982), P. xylostella Linnaeus (sinonim P. maculipennis Curtis) mempunyai nama daerah ama bodas, ama karancang (Sunda), omo kapar (Jawa Timur), omo kupu kliru (Jawa Tengah) dan dalam bahasa Inggris disebut diamond back moth.

Sejak awal tahun 1916 telah diketahui bahwa P. xylostella merupakan hama utama pada tanaman kubis di Jawa, Bali, Sumatra, Sulawesi dan banyak daerah lainnya di Indonesia (Vos, 1953). Menurut Kartosuwondo (1986), tumouhan inang P. xylostella meliputi kubis, sawi putih (petsai), sawi hijau (caisim), lobak serta jenis kubis-kubisan lainnya.

Larva serangga ini terdiri dari empat instar (Vos, 1953; Kartosuwondo, 1986). Tubuh instar pertama berwarna agak keruh, berambut penuek dan nalus serta berkepala hitam. Larva instar kedua berwarna putih kekuningan, berambut pendek dan halus serta berkepala hitam. Larva instar ketiga berwarna hijau, rambutnya tampak jelas berwarna hitam dan kepalanya berbercak coklat dengan warna dasar kekuningan. Larva instar keempat atau instar terakhir mirip instar ketiga, kecuali ukurannya lebih besar (Kartosuwondo, 1986).

Menurut tinjauan oleh Hasibuan (1982), larva instar pertama belum banyak makan dan gerakannya masih lambat.

Larva instar kedua hidupnya menyebar di bawah atau di atas daun, tetapi belum banyak makan. Larva instar ketiga gerakannya lincah dan daun-daun yang dimakannya bertambah banyak dan meninggalkan bekas seperti jendela-jendela rutin yang tidak teratur bentuknya. Larva instar keempat sudah segan makan dan pada akhirnya tidak mau makan sama sekali.

Menurut Vos (1953), stadium larva *P. xylostella* dipengaruhi oleh suhu. Semakin tinggi suhu, semakin singkat lamanya tiap instar larva. Hasil penelitian di Laboratorium yang dilakukan oleh Vos (1953) di Pacet (1100 dari permukaan laut; suhu 16-25°C) memperlihatkan bahwa lamanya instar pertama, kedua, ketiga dan keempat berturut-turut adalah empat hari, dua hari, tiga hari dan tiga hari. Akan tetapi, hasil penelitian Vos di Bogor (suhu 25-30°C) memperlihatkan bahwa lamanya instar pertama, kedua, ketiga dan keempat berturut-turut adalah dua hari, dua hari, dua hari dan tiga hari.

Kepompong *P. xylostella* berwarna hijau terang, dan menjelang imago keluar berwarna gelap. Di Pacet, stadium kepompong menghabiskan waktu enam hari, sedangkan di Bogor empat hari (Vos, 1953).

Imago serangga ini merupakan ngengat kecil berwarna coklat keabu-abuan (Entomosiswojo, 1987). Panjang tubuh imago betina berkisar antara 5,0-6,5 mm dan rentang sayapnya berkisar antara 4-12 mm. Lama hidup imago betina







berkisar antara 7-17 hari. Panjang tubuh imago jantan berkisar antara 5,0-6,0 mm dan rentang sayapnya berkisar antara 9-11 mm. Lama hidup imago jantan berkisar antara 2-12 hari (Kartosuwondo, 1986).

Telur serangga ini berbentuk jorong dan berwarna kuning (Kartosuwondo, 1986). Ngengat betina meletakkan telurnya secara tunggal atau dalam kelompok kecil tidak lebih dari enam butir telur per kelompok (Vos, 1953). Menurut Hosang dan Sembel (1983), telur lebih banyak diletakkan di bagian bawah daun daripada di bagian atas daun. Panjang telur berkisar antara 0,41-0,55 mm dan lebarnya berkisar antara 0,35-0,50 mm.

Berdasarkan penelitian Vos (1953), umur hidup *P. xylostella* di Pacer adalah 21 hari, sedangkan di Bogor 15 hari.

## BAHAN DAN METODE

### Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dari bulan Agustus 1989 sampai dengan bulan April 1990 di Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.

### Isolasi Bacillus thuringiensis

Bacillus thuringiensis diisolasi dari contoh tanah yang berasal dari daerah peternakan ulat sutra, yang meliputi tiga kabupaten di propinsi Sulawesi Selatan, dua kabupaten di Jawa Tengah, dan satu kabupaten di Jawa Timur.

Bakteri B. thuringiensis dapat diisolasi dari tanah dengan cara mensuspensikan satu gram contoh tanah ke dalam sembilan mililiter air suling steril dalam tabung reaksi berukuran 18 x 150 mm dan dikocok dengan kuat selama lebih kurang lima menit menggunakan alat pengocok vortex merk Assistant Reamix 2789. Suspensi tersebut dipanaskan dalam penangas air pada suhu 80°C selama 10 menit. Maksud pemanasan ini adalah untuk membunuh sel-sel vegetatif dan memecahkan dormansi spora. Selanjutnya dilakukan pengenceran serial sampai dengan pengenceran 10<sup>-4</sup>. Dari pengenceran 10<sup>-3</sup> dan 10<sup>-4</sup>, masing-masing sebanyak 0,1 ml suspensi diambil dengan menggunakan pipet

satu mililiter, lalu dicawankan dengan metode cawan sebar pada medium Agar Nutrien (NA) dengan dua kali ulangan. Cawan-cawan tersebut diinkubasikan dengan posisi terbalik pada suhu  $28^{\circ}\text{C}$  selama dua sampai tiga hari.

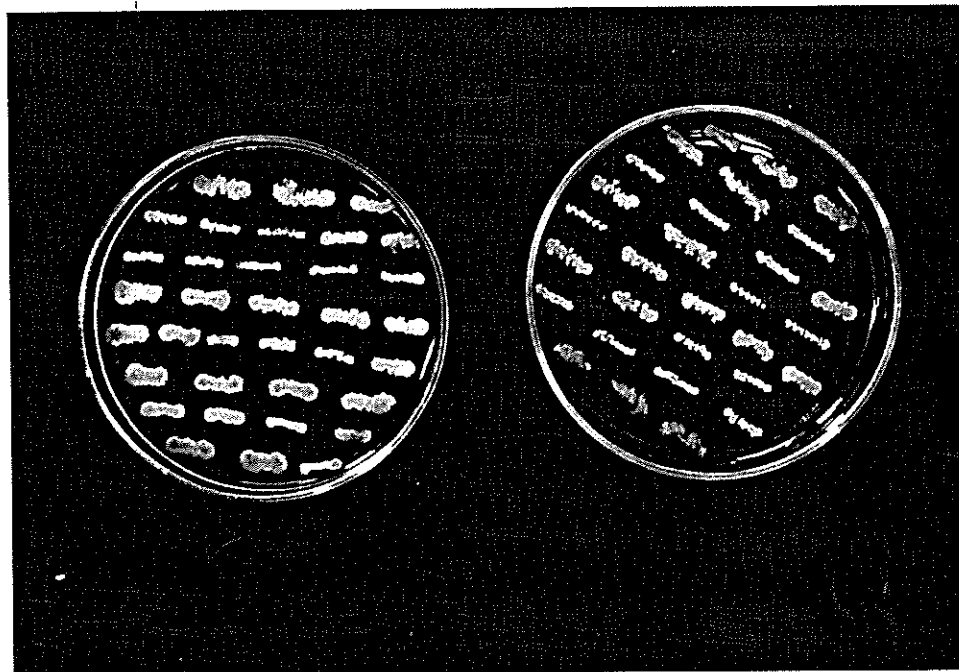
Setelah diinkubasikan selama dua sampai tiga hari, dilakukan pengamatan terhadap koloni bakteri yang tumbuh di permukaan medium NA. Koloni-koloni yang memperlihatkan ciri-ciri Bacillus, yaitu koloni-koloni yang berwarna putih, tampak kasar dan tidak rata, dengan bulatan tidak teratur sebesar 5-10 mm (Bucher, 1981), dipindahkan dengan tusuk gigi steril ke permukaan medium NA segar dalam cawan petri. Satu cawan petri dapat memuat 45-55 goresan bakteri (Gambar 1). Cawan petri tersebut diinkubasikan dengan posisi terbalik pada suhu  $28^{\circ}\text{C}$  selama dua sampai tiga hari.

Dari masing-masing koloni yang tumbuh dari hasil penggoresan tersebut dibuat lekapan basah (wet mount), lalu diamati di bawah mikroskop kontras fase Olympus BH-2, pada perbesaran 1000 kali (Ohba, Aizawa dan Furusawa, 1979). Apabila koloni yang diamati memperlihatkan sel vegetatif berbentuk batang yang mengandung spora dan benda lain di sebelah spora, maka koloni tersebut diduga sebagai bakteri penghasil kristal protein (p.k.p.). Koloni-koloni yang diduga sebagai bakteri p.k.p. tersebut dimurnikan dengan metode penggoresan kuadran (Hadioetomo, 1985). Koloni murni hasil penggoresan

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
    - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
    - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
  2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



Gambar 1. Koloni-koloni yang Memperlihatkan Ciri-ciri Bacillus Hasil Penggoresan dengan Tusuk Gigi Steril pada Medium NA

dapat dilihat pada Gambar 2. Koloni yang sudah murni disimpan dalam agar miring NA pada suhu 4°C untuk pengujian selanjutnya (Gambar 3).

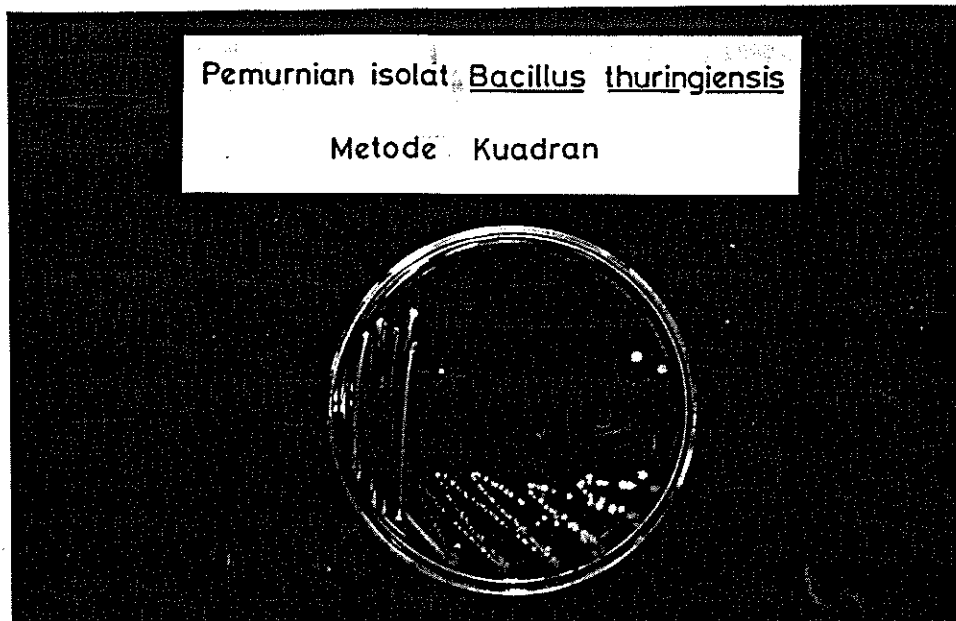
#### Pemeliharaan Larva Serangga

Larva Plutella xylostella diperoleh dari Lembaga Penelitian Hortikultura Segunung, Cipanas, Jawa Barat, berupa larva instar pertama. Larva ini dipelihara dalam tempat pemeliharaan seperti terlihat pada Gambar 4, dengan diberi makan daun sawi (caisim) sampai diperoleh larva instar ketiga yang siap digunakan untuk pengujian toksisitas bakteri pembentuk kristal protein.

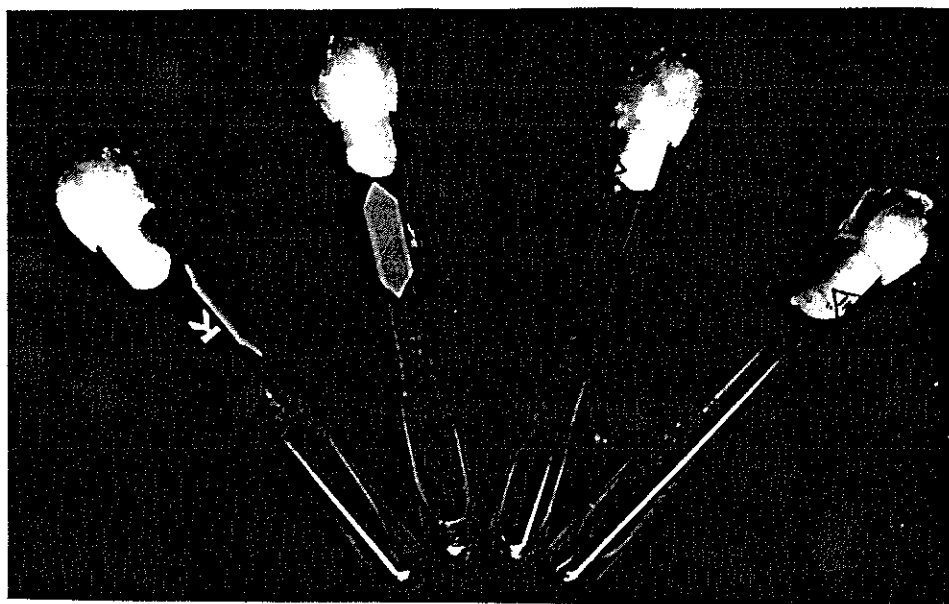


- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
    - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
    - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
  2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

25

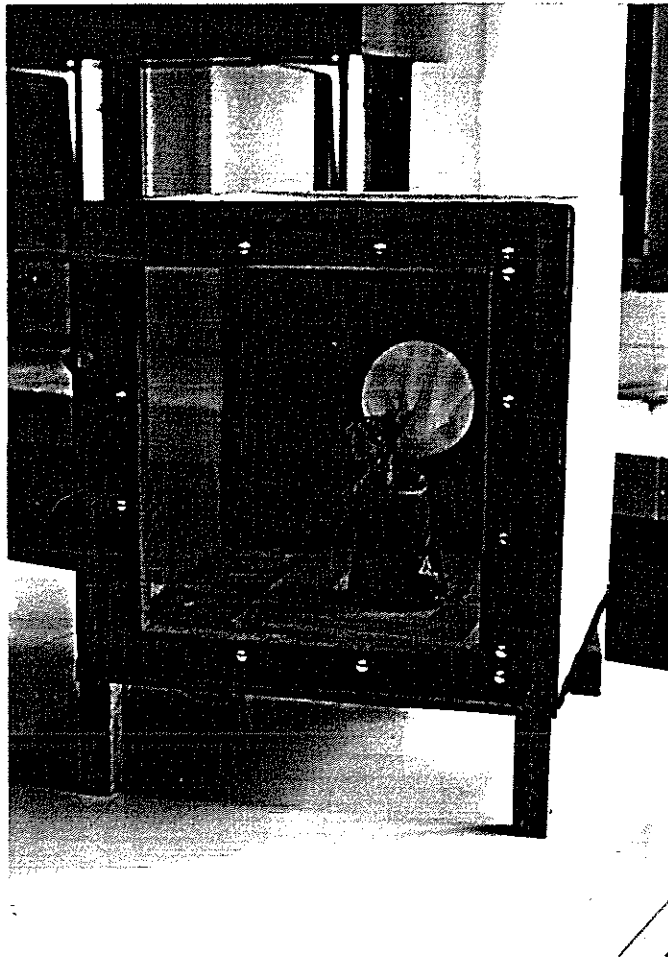


Gambar 2. Hasil Pemurnian Bakteri penghasil Kristal Protein dengan Menggunakan Metode Penggoresan Kuadran



Gambar 3. Biakan Murni Bakteri penghasil Kristal Protein yang Disimpan Dalam Agar Miring NA pada Suhu 4°C





Gambar 4. Tempat Pemeliharaan Larva Plutella xylostella

#### Penyiapan Suspensi Bakteri p.k.p.

Untuk memperoleh suspensi bakteri p.k.p., dua lup penuh biakan murni masing-masing isolat bakteri p.k.p.



berumur 10 hari diambil dari agar miring NA, lalu diinokulasikan ke dalam 25 ml kaldu nutrien (NB) steril dalam erlenmeyer berkapasitas 300 ml. Biakan tersebut dikocok dengan mesin pengocok (shaker) horizontal (Eberbach, Crop, MI, USA) pada suhu ruang dengan kecepatan rata-rata 140 ekskursi per menit. Pengocokan terus dilakukan sampai sebagian besar biakan membentuk spora (lebih kurang empat hari).

Sel-sel dalam biakan tersebut dipanen melalui sentrifugasi dengan menggunakan Automatic Preparative Ultra-sentrifuges model SCP 85 H (Hitachi Koki Co., Ltd., Japan) pada suhu 10 C selama 15 menit dengan kecepatan  $111.70 \times g$ . Gentel (pellet) yang diperoleh yang terdiri dari spora dan kristal, dicuci dua kali dengan air suling steril lalu disuspensikan kembali dalam air suling steril sampai diperoleh konsentrasi lebih kurang  $10^8$  spora per mililiter. Konsentrasi diduga dengan memanfaatkan kurva standar yang menyatakan hubungan antara kekeruhan biakan dengan jumlah spora per mililiter (lihat Lampiran 1). Suspensi ini siap diujikan pada larva P. xylostella instar ketiga setelah dibubuhi Triton B1956 untuk mencapai konsentrasi  $4^0/00$ .

#### Pengujian Toksisitas Bakteri p.k.p.

Untuk pengujian toksisitas bakteri p.k.p., mula-mula daun sawi yang sudah dipotong-potong sehingga

berukuran  $5 \times 5 \text{ cm}^2$  direndam dalam suspensi spora selama lebih kurang lima menit, kemudian dikering udarakan.

Duapuluh larva *P. xylostella* instar ketiga diletakkan dalam cawan petri beralaskan lap kertas (napkin), kemudian larva-larva tersebut diberi makan daun sawi yang telah direndam dalam suspensi spora (Gambar 5). Mortalitas diamati setiap hari selama empat hari.

Isolat-isolat bakteri p.k.p. yang digunakan untuk uji toksisitas berasal dari hasil isolasi sendiri ditambah dengan 50-isolat dari hasil penelitian terdahulu (Rusmana, 1990; Tavipa, 1990; Kastitonif, 1990; Kuswardani, 1990).

Penelitian ini dilakukan mengikuti rancangan acak lengkap dengan model persamaan sebagai berikut (Steel dan Torrie, 1980):

$$Y_{ij} = U + P_i + E_{ij}$$

$Y_{ij}$  = pengamatan pada perlakuan ke-i ulangan ke-j

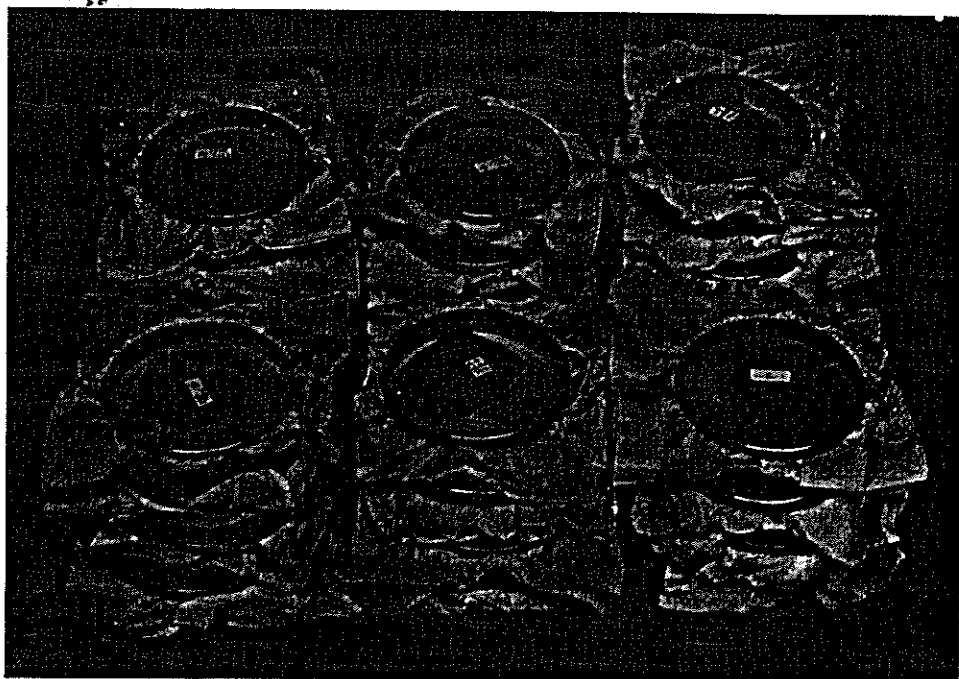
$U$  = rata-rata umum

$P_i$  = Pengaruh perlakuan ke-i

$E_{ij}$  = kesalahan pada perlakuan ke-i, ulangan ke-j

Data mortalitas serangga yang diakibatkan oleh masing-masing isolat dianalisis menggunakan uji beda nyata terkecil.





Gambar 5. Pengujian Suspensi Spora dan Kristal Bakteri p.k.p. terhadap Larva Plutella xylostella yang Diberi Makan Daun Sawi

Sebagai kontrol digunakan daun sawi yang direndam dalam air suling steril yang telah diberi larutan Triton B1956 dengan konsentrasi akhir 4<sup>0</sup>/oo.

Sebagai pembanding digunakan daun sawi yang telah direndam dalam suspensi B. thuringiensis var Kurstaki HD-1 yang diisolasi dari bubuk Thuricide (produksi PT Sandi Aneka Warna). Selain itu digunakan juga bubuk Thuricide yang dilarutkan dalam air dengan dosis yang disesuaikan dengan petunjuk pemakaian di lapangan, tetapi hasil uji toksisitasnya tidak diolah.



## HASIL DAN PEMBAHASAN

### H a s i l

Dari hasil pencawanan suspensi tanah pada medium NA, diperoleh koloni bakteri dengan morfologi yang cukup beragam. Bentuknya berkisar dari bundar, bundar dengan tepian menyebar atau rizoid, warnanya ada yang putih, putih keruh, putih agak kuning atau kuning, sedangkan tepianannya licin atau bercabang tak beraturan dengan elevasi datar, timbul atau cembung. Berdasarkan pengamatan lekapan basah di bawah mikroskop kontras fase (perbesaran 1000 x), pada umumnya koloni-koloni tersebut merupakan koloni Bacillus. Endospora yang terbentuk mempunyai letak dan bentuk beragam. Letak endospora ada yang sentral, terminal atau subterminal, sedangkan bentuknya ada yang elips, bulat atau oval.

Sebanyak 1913 isolat Bacillus telah berhasil dikumpulkan dari 22 contoh tanah. Koloni Bacillus yang diamati di bawah mikroskop kontras fase berkisar dari 87 sampai dengan 137 koloni dengan rata-rata 87 koloni dari setiap contoh tanah (Tabel 1).

Dari 1913 isolat Bacillus yang diamati, ada lima isolat (0,26%) yang memiliki tubuh paraspora. Isolat-isolat tersebut berasal dari empat (18,18%) contoh tanah yang diperiksa (Tabel 2).

Tabel 1. Jumlah Isolat Bacillus yang Diamati dan Isolat Bakteri Penghasil Kristal Protein (p.k.p.) yang Diperoleh

Contoh tanah	Jumlah <u>Bacillus</u>	Bakteri p.k.p.	
		Jumlah	Frekuensi (%)
R.01	90	2	2,22
R.02	64	1	1,56
R.03	80	1	1,25
R.04	106	1	0,94
R.05	86	0	0,00
R.06	78	0	0,00
R.07	63	0	0,00
R.08	64	0	0,00
R.09	103	0	0,00
R.10	115	0	0,00
R.11	90	0	0,00
R.12	110	0	0,00
R.13	137	0	0,00
R.14	78	0	0,00
R.15	62	0	0,00
R.16	74	0	0,00
R.17	103	0	0,00
R.18	80	0	0,00
R.19	74	0	0,00
R.20	104	0	0,00
R.21	74	0	0,00
R.22	78	0	0,00
Jumlah: 1913			5,97

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
    - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
    - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
  2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Tabel 2. Hasil Isolasi Bacillus thuringiensis Dari Berbagai Contoh Tanah Di Beberapa Kabupaten Di Indonesia

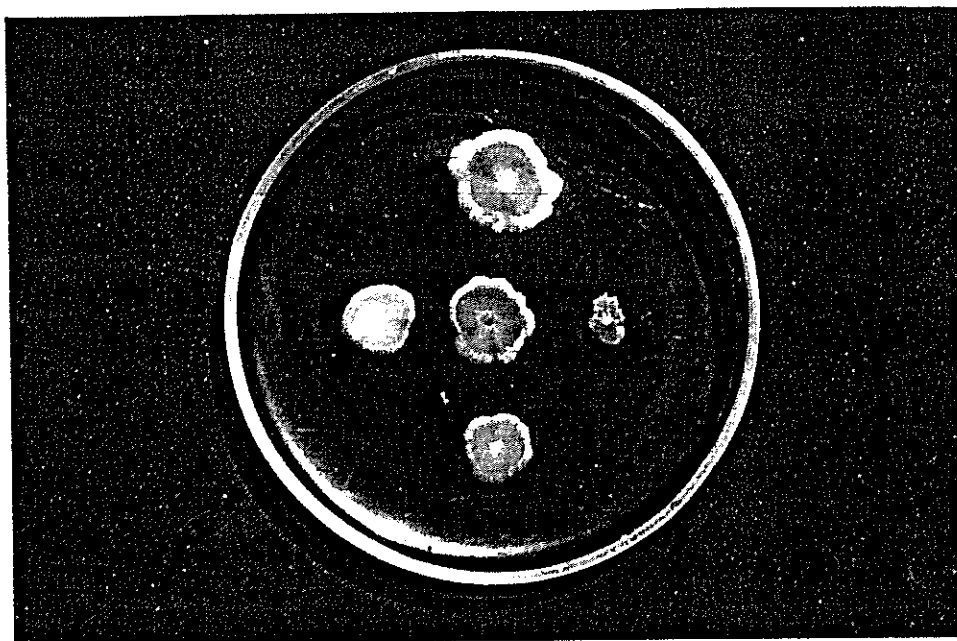
Kabupaten	Contoh tanah yang mengandung b.p.k.p./ contoh tanah yang diisolasi	Isolat b.p.k.p./ isolat <u>Bacillus</u>
		Jumlah
Soppeng	3/3	3/250
Pasuruan	1/11	2/954
Pati	0/5	0/482
Sidrap	0/1	0/86
Tana Toraja	0/1	0/78
Temanggung	0/1	0/63
Jumlah	4/22 (18,18%)	5/1913 (0,26%)

Koloni bakteri yang diduga sebagai bakteri pembentuk kristal protein (p.k.p.) semuanya tampak berwarna putih dengan permukaan kasar, bentuk tak beraturan dan menyebarkan, tepian tak beraturan dan mempunyai elevasi timbul (Gambar 6). Selain itu, kelima isolat tersebut mempunyai endospora berbentuk oval dengan letak subterminal dan bentuk kristal protein bulat (Gambar 7).

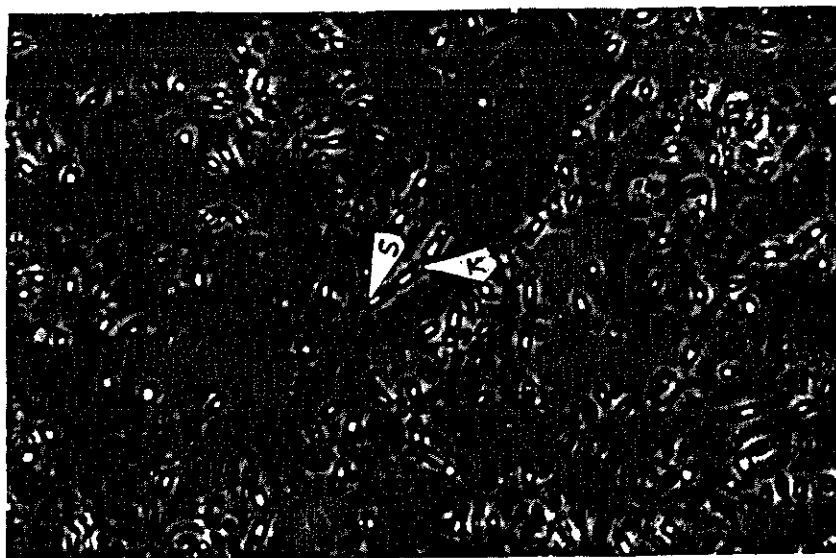
Hasil pengujian toksisitas 55 bakteri p.k.p. terhadap larva P. xylostella dapat dilihat pada Tabel 3. Dari 55 isolat yang diujikan hanya 22 isolat (40%) yang dapat menyebabkan kematian larva secara total, 23 isolat dapat membunuh 5-90% larva dan 10 isolat tidak dapat membunuh larva sama sekali.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :  
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah  
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.  
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



Gambar 6. Koloni-koloni yang Diduga Sebagai Bakteri p.k.p.



Gambar 7. Bentuk Endospora dan Protein Kristal Isolat Hasil Isolasi

S = spora

K = Kristal protein





Tabel 3. Persentase Mortalitas Larva pada Uji Toksisitas terhadap Plutella xylostella

Sandi isolat	Bentuk kristal protein	Persentase mortalitas rata-rata larva (%) sampai hari			
		ke-1	ke-2	ke-3	ke-4
Thuricide 2g/l	bipiramida	95	100		
M.02	bulat	65	100		
Pembanding	bipiramida	60	100		
M.03	bipiramida	55	100		
R.18	bipiramida	60	90	100	
M.01	bipiramida	55	85	100	
M.02	bipiramida	50	95	100	
R.02	bipiramida	50	90	100	
Ka.02	bipiramida	45	85	100	
M.06	bipiramida	55	95	100	
R.16	bipiramida	50	90	100	
R.05	bipiramida	45	85	100	
M.04	bipiramida	25	90	100	
R.01	bipiramida	10	90	100	
Ka.01	bipiramida	70	95	95	100
T.01	bipiramida	45	70	95	100
R.08	bipiramida	35	55	90	100
T.06	bipiramida	30	70	95	100
R.22	bipiramida	20	60	80	100
Ku.01	bulat	10	45	95	100
R.17	bipiramida	10	40	85	100
R.28	bipiramida	5	25	55	100
R.19	bipiramida	5	80	90	100
N.04	bulat	5	20	40	100
N.03	bulat	45	65	70	90
R.13	bipiramida	20	35	65	90
N.01	bulat	0	25	40	40
N.05	bulat	5	10	25	40
R.23	bipiramida	25	25	25	25
Ku.02	bulat	5	5	10	25
R.10	bipiramida	5	5	5	15
R.21	bipiramida	5	10	10	10
R.15	oval	5	10	10	10
T.05	bipiramida	5	5	5	5
R.25	bipiramida	0	0	5	20
Ku.03	bulat	0	0	5	20
M.05	amorf	0	0	5	10
R.22	bipiramida	0	0	5	10

@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



Tabel 3 - Lanjutan

Sandi isolat	Bentuk kristal protein	Persentase mortalitas rata-rata lara (%) sampai hari			
		ke-1	ke-2	ke-3	ke-4
Ka.03	bulat	0	0	5	5
R.03	bipiramida	0	0	5	5
R.07	bipiramida	0	0	5	5
Ka.04	bipiramida	0	0	0	10
T.03	bipiramida	0	0	0	5
Ku.01	bulat	0	0	0	5
T.04	bipiramida	0	0	0	5
Ku.05	bulat	0	0	0	5
R.09	bipiramida	0	0	0	5
R.20	bipiramida	0	0	0	0
T.02	bipiramida	0	0	0	0
R.11	bipiramida	0	0	0	0
R.06	bipiramida	0	0	0	0
R.14	oval	0	0	0	0
Ka.05	mirip bipiramida	0	0	0	0
R.27	bipiramida	0	0	0	0
R.24	tak beraturan	0	0	0	0
R.26	bipiramida	0	0	0	0
R.04	tak beraturan	0	0	0	0
Kontrol	..	0	0	0	0

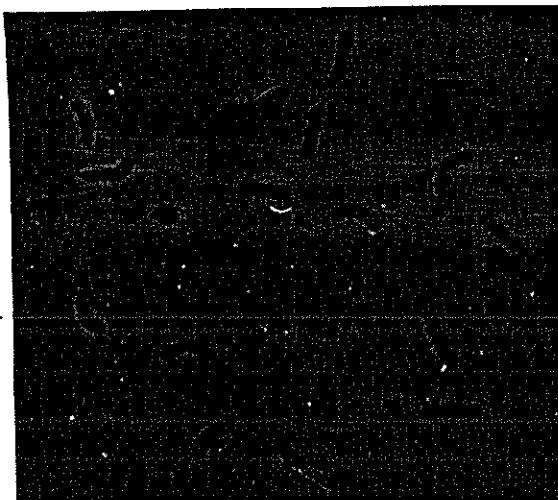
Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Dari 22 isolat yang dapat membunuh larva secara total, ada yang dapat membunuh dengan cepat dan ada pula yang lambat. Pada hari pertama, hanya satu isolat dapat menyebabkan mortalitas rata-rata tertinggi (70%), isolat itu adalah Ka.01, satu isolat yaitu N.02 menyebabkan mortalitas rata-rata 65%. Kedua isolat ini lebih toksik daripada pembanding menurut uji BNT pada taraf 1% (Lampiran 3 dan 4), sedangkan pembanding hanya menyebabkan mortalitas rata-rata 60% sama dengan mortalitas rata-rata yang disebabkan oleh isolat R.18. Pada hari kedua, ada dua isolat yaitu M.03 dan N.02 yang memperlihatkan toksisitas yang sama dengan pembanding berdasarkan uji BNT pada taraf 1% (Lampiran 5 dan 6). Kedua isolat ini menyebabkan mortalitas rata-rata 100%. Pada hari ketiga, sebanyak 10 isolat dapat menyebabkan mortalitas rata-rata 100%. Pada hari keempat sejumlah 10 isolat lainnya termasuk isolat Ka.01 dapat menyebabkan mortalitas rata-rata 100%. Pengamatan yang dilakukan pada hari kelima pada umumnya tidak memperlihatkan adanya mortalitas tambahan. Dalam jangka seluruh waktu pengamatan tidak ada larva yang mati pada cawan kontrol. Hasil pengujian toksisitas dari masing-masing isolat terhadap larva *P. xylostella* dapat dilihat pada Lampiran 2.



Gejala-gejala yang timbul setelah larva Plutella xylostella memakan spora-spora bakteri p.k.p. adalah gerakannya menjadi lambat yang akhirnya apabila disentuh tidak bergerak sama sekali. Pada tubuhnya mula-mula timbul bercak berwarna coklat yang kemudian menjadi coklat tua sampai kehitaman serta tubuhnya menjadi kering dan melengkung (Gambar 8).



Gambar 8. Penampakan Larva P. xylostella yang Telah Mati dengan Tubuh Berwarna Hitam, Kering dan Melengkung



## Pembahasan

Penyebaran B. thuringiensis sangat luas meliputi tanah atau perairan. Sejak pertama kali ditemukan, B. thuringiensis dapat diisolasi dari larva ulat sutra (Bombyx mori) yang sudah mati (de Barjac dan Bonnefoi, 1968). Menurut Ohba dan Aizawa (1986), salah satu sumber yang paling baik untuk mengisolasi B. thuringiensis adalah limbah peternakan ulat sutra, karena serangan bakteri ini sesungguhnya merupakan endemi di daerah peternakan ulat sutra. Mengingat hal tersebut, maka bukanlah suatu hal yang luar biasa jika B. thuringiensis banyak ditemukan dan diisolasi dari limbah peternakan ulat sutra. Namun demikian, sudah ada yang melaporkan bahwa dari tanah-tanah hutan dan tanah-tanah bukan tempat peternakan ulat sutra di Jepang serta tanah-tanah di Amerika Serikat sudah berhasil diisolasi galur-galur baru B. thuringiensis (Ohba dan Aizawa, 1986). Selain itu, galur-galur baru B. thuringiensis juga berhasil diisolasi dari kolam rawa-rawa gurun Negev, Israel (Margalit dan Dean, 1985).

Bakteri genus Bacillus merupakan salah satu mikroorganisme penghuni tanah yang membentuk spora. Spora merupakan suatu bentuk dorman suatu bakteri tertentu. Endospora dapat bertahan hidup dalam kekurangan nutrisi, tahan panas dan unsur-unsur fisik lainnya seperti pembekuan, kekeringan, radiasi ultra violet serta terhadap

bahan-bahan kimia yang dapat menghancurkan bakteri yang tidak membentuk spora. Ketahanan tersebut disebabkan karena adanya selubung spora yang tebal dan keras (Hadioetomo, 1985). Selain itu, adanya kompleks Ca-dipikolinat yang merupakan 10% dari berat kering spora menyebabkan spora tahan terhadap panas dan dapat mempertahankan keadaan dorman (Dawes dan Sutherland, 1976). Perlakuan renjatan panas pada suhu 80°C selama 10 menit dapat mematikan sel vegetatif sekaligus menghilangkan dormansi spora. Perlakuan ini cukup memberikan hasil yang dikehendaki, karena sebagian besar bakteri yang tumbuh dalam cawan isolasi merupakan koloni Bacillus.

Dari 1913 isolat Bacillus yang diamati, hanya lima atau sekitar 0,26% yang memiliki tubuh paraspora atau kristal protein. Rendahnya perolehan ini disebabkan karena frekuensi kandungan B. thuringiensis di dalam tanah cukup beragam. Keadaan ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor, di antaranya: kelembaban, polusi udara (Pinnock, Brand dan Milstead, 1971), nutrisi dan adanya bakteri predator (contoh: Cupressus necator) yang dapat menyerang spora B. thuringiensis. Selain itu rendahnya perolehan ini disebabkan karena 12 dari 22 contoh tanah yang diperiksa berada dalam kondisi sudah dibakar dan contoh tanah tersebut sudah disimpan lebih kurang satu tahun. Menurut Pruett et al. (1980), viabilitas spora cepat menurun

di dalam tanah yang disimpan cukup lama. Menurut tinjauan oleh Aronson et al. (1986), spora B. thuringiensis subsp. aizawai akan hilang 135 hari sesudah contoh tanah tersebut diinokulasi dengan bakteri yang bersangkutan di bawah kondisi yang tidak menunjang perkecambahan spora.

Morfologi koloni isolat-isolat bakteri penghasil kristal protein (p.k.p.) yang diperoleh dalam isolasi menurut pengamatan pada medium padat selaras dengan yang diuraikan oleh Bucher (1981), yaitu berupa bulatan tidak teratur, berwarna putih serta permukaan koloninya kasar dan tidak rata. Begitu pula sporanya berbentuk oval dan letaknya subterminal selaras dengan yang diuraikan oleh de Barjac dan Bonnefoi pada tahun 1968. Bentuk kristal protein B. thuringiensis bermacam-macam di antaranya bipiramida, kuboid atau tak beraturan (Aronson et al., 1986). Selain itu, ada juga yang berbentuk romboid (Ohba dan Aizawa, 1979) dan bulat (Ohba dan Aizawa, 1986). Dari hasil pengamatan, kelima isolat bakteri p.k.p. yang diperoleh memiliki bentuk kristal protein bulat selaras dengan yang diuraikan oleh Ohba dan Aizawa pada tahun 1986.

Pada isolasi B. thuringiensis ini bakteri yang diambil adalah yang sel vegetatifnya berbentuk batang ramping, serta mampu memproduksi atau membentuk spora dan kristal protein. Adanya endospora dan kristal protein di dalam sel vegetatif yang ramping merupakan salah satu ciri B. thuringiensis (Heimpel, 1967). Selain B.





thuringiensis ada dua jenis spesies bakteri lain yang juga memiliki kristal protein yaitu B. popilliae dan B. fribourgensis. Akan tetapi, kedua jenis spesies bakteri tersebut mudah dibedakan dari B. thuringiensis karena pembentukan kristal protein menyebabkan sel vegetatifnya menjadi bengkak sehingga tampak seperti telapak sepatu (Sneath, 1986).

Adanya kristal protein merupakan salah satu ciri perbedaan antara B. thuringiensis dan B. cereus (Heimpel, 1967). Akan tetapi, berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Aronson *et al.* (1986), B. cereus 569 dapat menerima plasmid yang menyandikan pembentukan protoksin dari B. thuringiensis subsp. *kurstaki* HD1 dengan frekuensi kurang dari satu persen dan dari B. thuringiensis subsp. *kurstaki* HD 73 dengan frekuensi 30-40%. Menurut Aronson *et al.* (1986), Gonzales *et al.* pertama kali melaporkan pemindahan plasmid di antara sel-sel B. thuringiensis melalui perkawinan antar sel. Setelah menerima plasmid yang mengandung gen-gen protoksin, sel resipien (*transpion*) dapat menghasilkan protoksin dengan sifat antigenik yang sama dengan yang dimiliki galur donor. Hal ini menyebabkan beberapa ahli patologi masih mempertanyakan status B. thuringiensis sebagai spesies yang terpisah dari B. cereus.

Menurut Dulmage (1981), B. thuringiensis menghasilkan beberapa macam toksin, di antaranya delta-endotoksin

alfa-eksotoksin, beta-eksotoksin dan faktor kutu (louse factor). Ketiga toksin selain delta-endotoksin larut dalam air. Pada penelitian ini pengaruh ketiga toksin yang larut dalam air tersebut dianggap tidak ada karena dalam penyiapan suspensi untuk uji toksisitas telah dilakukan pencucian, sehingga ketiga toksin yang bersifat larut dalam air dapat dianggap sudah terbangun.

Menurut Dubois dan Lewis (1981), ada toksin yang serupa dengan lesitinase C atau alfa-eksotoksin tetapi bukan lesitinase C yang toksik terhadap tikus dan Plutella maculipennis. Toksin ini dinamakan faktor tikus (mouse factor). Menurut tinjauan oleh Hasibuan (1982), Plutella maculipennis adalah sinonim dari P. xylostella. Berdasarkan pendapat tersebut, maka dapat dikatakan bahwa alfa-eksotoksin tidak toksik terhadap P. xylostella.

Dari 22 isolat bakteri p.k.p. yang dapat menyebabkan kematian larva secara total mempunyai bentuk kristal protein bulat dan bipiramida. Sebanyak 23 isolat yang tidak dapat membunuh larva secara total mempunyai bentuk kristal protein bulat, bipiramida dan amorf. Sejumlah 10 isolat yang tidak dapat membunuh larva sama sekali mempunyai bentuk kristal protein bipiramida, mirip bipiramida, oval dan amorf. Mengenai korelasi antara toksisitas dengan bentuk kristal protein ada beberapa pendapat yang berbeda. Hofte dan Whiteley (1989), menyatakan bahwa kristal

protein yang spesifik terhadap Lepidoptera tidak diragukan lagi merupakan kristal protein yang paling banyak dipelajari. Dari 20 cryl sekuen, sebanyak enam gen yang berbeda bisa dikenal di antara ke-20 sekuen tersebut. Seluruhnya ada 20 gen yang menyandikan 130-140 kDa protein terakumulasi dalam kristal protein berbentuk bipiramida selama proses sporulasi dari B. thuringiensis. Namun di pihak lain ternyata Ohba dan Aizawa (1986) menemukan kristal protein berbentuk bulat yang toksik terhadap Lepidoptera (B. mori) dan kristal protein berbentuk bipiramida yang tidak toksik terhadap larva serangga yang sama. Pada penelitian ini ada kristal protein berbentuk bipiramida yang toksik terhadap P. xylostella dan ada pula yang tidak toksik terhadap serangga yang sama. Perbedaan-perbedaan ini mungkin disebabkan karena pengujian galur-galur B. thuringiensis terhadap jenis serangga dari masing-masing ordo masih belum memadai.

Pada penelitian ini hanya diujikan satu macam larva saja, yaitu P. xylostella (Lepidoptera) instar ketiga. Menurut Krieg (1965) dan Aronson *et al.* (1986), pada umumnya pH saluran pencernaan Lepidoptera berkisar antara 7,5-9,5. Serangga tipe ini akan mati dengan adanya kristal protein dan efeknya akan bertambah dengan adanya spora. Hofte dan Whiteley (1989) menyatakan bahwa spesifisitas toksin B. thuringiensis ditentukan oleh keadaan

usus larva yang mempengaruhi kelarutan dan/atau pemecahan protoksin serta ditentukan juga oleh adanya situs pengikatan yang spesifik dalam usus tiap-tiap serangga. Akan tetapi, karena pada penelitian ini hanya digunakan satu macam serangga saja maka faktor-faktor di atas tidak dapat disamakan.

Pada penelitian ini sebanyak 10 isolat tidak dapat membunuh larva sama sekali. Hofte dan Whiteley (1989), menyatakan bahwa kurang rentannya serangga-serangga tertentu terhadap kristal protein B. thuringiensis disebabkan karena tidak efisiennya kelarutan kristal protein di dalam usus serangga tersebut. Secara in vivo, kelarutan kristal protein secara nyata akan menaikkan aktivitas toksik.

Pada penelitian ini, gejala-gejala yang dapat diamati pada P. xylostella yang terinfeksi B. thuringiensis adalah sebagai berikut. Nafsu makan larva serangga berkurang, gerakan larva menjadi lambat dan kotoran yang dikeluarkan berupa cairan (mencoret). Larva yang mati tubuhnya tampak mengkerut, kering dan warnanya menjadi kehitam-hitaman. Gejala-gejala larva yang terinfeksi ini selaras dengan yang dilaporkan oleh Oka (1957). Menurut Oka (1957), larva P. maculipennis yang terinfeksi oleh kristal protein menjadi tidak aktif bergerak, responnya rendah atau tidak ada sama sekali, warnanya pucat kehijauan dan bila

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



dipijit turgornya jauh kurang daripada turgor larva yang sehat. Selanjutnya diuraikan juga bahwa larva yang mati warnanya berubah menjadi coklat tua sampai kehitam-hitaman serta tubuhnya menjadi mengkerut, kering dan melengkung. Timbulnya warna coklat yang kehitam-hitaman ini disebabkan oleh aktivitas jasad renik sekunder yang mengikuti penyerangan B. thuringiensis.

## KESIMPULAN

Bakteri penghasil kristal protein (p.k.p.) dapat diisolasi dari limbah peternakan ulat sutra. Dari 22 contoh tanah yang diperiksa, diperoleh 1913 isolat Bacillus, lima di antaranya (0,26%) merupakan bakteri p.k.p.. Bakteri p.k.p. ini diperoleh dari empat (18,2%) contoh tanah yang diperiksa.

Morfologi koloni isolat-isolat bakteri p.k.p. hasil isolasi menurut pengamatan pada medium padat berupa bulatan tidak teratur, berwarna putih serta permukaan koloninya kasar dan tidak rata. Selain itu, spora dari kelima bakteri p.k.p. yang diperoleh berbentuk oval dan letaknya subterminal serta bentuk kristal protein bulat.

Bakteri p.k.p. yang digunakan untuk uji toksisitas berasal dari hasil isolasi sendiri dengan bentuk kristal protein bulat, ditambah dengan 50 isolat hasil isolasi peneliti terdahulu dengan bentuk kristal protein bipiramida (38 isolat), bulat (6 isolat), amorf (3 isolat), oval (2 isolat) dan mirip bipiramida (1 isolat).

Pengujian toksisitas 55 isolat bakteri p.k.p. terhadap larva Plutella xylostella instar ketiga, memperlihatkan bahwa sebanyak 22 isolat dapat membunuh larva secara total, yang masing-masing dicarai oleh dua isolat pada hari kedua, 10 isolat pada hari ketiga dan 10 isolat





47

pada hari keempat, sedangkan pembanding dapat membunuh larva secara total pada hari kedua. Sebanyak 23 isolat dapat membunuh 5-90% larva dan 10 isolat tidak dapat membunuh larva sama sekali.

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
    - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
    - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
  2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

## SARAN

Perlu dilakukan pengamatan kembali bentuk kristal protein menggunakan mikroskop elektron sehingga hasil yang diperoleh lebih meyakinkan.

Diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengidentifikasi bakteri penghasil kristal protein ini berdasarkan uji serologis, serta mengetahui toksisitasnya terhadap serangga jenis lain baik dari ordo yang sama maupun ordo berbeda terutama terhadap serangga yang merupakan hama yang sering menyerang tanaman bernilai ekonomi di Indonesia.

Contoh tanah yang akan diperiksa kandungan bakteri penghasil kristal protein (p.k.p.) di dalamnya sebaiknya tidak disimpan terlalu lama, serta selalu dijaga kelembabannya, agar viabilitas spora bakteri p.k.p. yang ada di dalamnya dapat dipertahankan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aronson, A.I., W. Beckaman and P. Dunn. 1986. Bacillus thuringiensis and related insect pathogens. Microbiological Rev. 50(1):1-24.
- Bucher, G.E. 1981. Identification of bacteria found in insects. In H.D. Burges (ed.). Microbial control of pest and plant diseases 1970-1980. Academic Press, London.
- Burgerjon, A. and D. Martouret. 1971. Determination and significance of the host spectrum of Bacillus thuringiensis. In H.D. Burges and N.W. Hussey (ed.). Microbial control of insects and mites. Academic Press, London.
- Casida, L.E. 1988. Response in soil of Cuoriavidus necator and other copper-resistant bacteriae predator of bacteria to addition of water, soluble nutrient, various bacterial species, or Bacillus thuringiensis spores and crystals. Applied and Environmental Microbiol. 54(9):2161-2166.
- Cox, G.W. and M.D. Atkins. 1979. Agricultural ecology and analysis of world food production systems. W.H. Freeman and Company, San Francisco.
- Daryanto. 1985. Manfaat pestisida dalam pertanian tanaman pangan. Dalam kumpulan makalah seminar analisis pestisida Cisarua-Bogor 28-29 Januari, 1985. Direktorat Perlindungan Tanaman.
- de Barjac, H. and A. Bonnefoi. 1968. A classification of strains Bacillus thuringiensis Berliner with a key to their differentiation. J. of Invertbr. Pathol. 11:335-347.
- de Bach, P. 1979. Biological control by natural enemies. Cambridge University Press.
- Dawes, I.W. and I.W. Sutherland. 1976. Microbial physiology. In J.F. Wilkinson (ed.). Basic microbiology. John Wiley and Sons, New York.
- Ditjen Pertanian Tanaman Pangan. 1988. Pestisida untuk pertanian dan tanaman kehutanan. Direktorat Perlindungan Tanaman Pangan, Jakarta. 154 hal.

- Doutt, R.L. 1967. Biological control. In W.W. Kilgore and R.L. Doutt (ed.). Pest control biological, physical and selected chemical methods. Academic Press, New York.
- Dubois, N.R. and F.B. Lewis. 1981. What is Bacillus thuringiensis. J. of Arboriculture. 7(9):233-240.
- Dulmage, H.T. 1981. Insecticidal activity of isolates of Bacillus thuringiensis and their potential for pest control. In H.D. Burges (ed.). Microbial control of pest and plant diseases 1970-1980. Academic Press, London.
- Fast, P.G. 1981. The crystal toxin of Bacillus thuringiensis. In H.D. Burges (ed.). Microbial control of pest and plant diseases 1970-1980. Academic Press, London.
- Fischer, B. 1974. Famili Bacillaceae. In R.E. Buchanan (ed.). Bergey's manual of bacteriology. The Williams and Wilkins Company, Baltimore.
- Hadjoetomo, R.S. 1985. Mikrobiologi dasar dalam praktek. PT Gramedia, Jakarta.
- Hasibuan, R. 1982. Biologi Plutella xylostella Linnaeus (Lepidoptera, Plutellidae) pada kubis dan lobak. Departemen Ilmu Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Heimpel, A.M. 1967. A critical Review of Bacillus thuringiensis var. thuringiensis Berl. and other crystalliferous bacteria. Ann. Rev. Entomol. 12:287-322.
- Hofte, H. and H.R. Whiteley. 1989. Insecticidal crystal protein of Bacillus thuringiensis. Microbiological Rev. 53(2):242-255.
- Holt, J.G. 1972. Determinative bacteriology. The William and Wilkin Company. Baltimore.
- Hosang, M.L.A. dan D.T. Sembel. 1983. Pemilihan tanaman inang oleh Plutella maculipennis Curtis (Plutella xylostella L.). Kongres Entomologi II, Jakarta 24-26 Januari, 1983.

- Kartosuwondo, U. 1986. Biologi Plutella xylostella Linnaeus (Lepidoptera, Plutellidae) pada tumbuhan liar sawi tanah (Nasturtium heterophyllum BL.), lobak (Raphanus sativus Linnaeus) dan kubis (Brassica oleracea Linnaeus var. Capitata L.). Bul. HPT. 5:1-11.
- Kilin, Jatnika. 1979. Masalah resistensi hama terhadap insektisida. Dalam Kongres entomologi I. Perhimpunan Entomologi Indonesia.
- Krieg, A. 1963. Crystalliferous bacteria. In N.E. Gibbons (ed.). Recent Progress in Microbiology, University of Toronto, Toronto.
- Kastitonif. 1990. Isolasi Bacillus thuringiensis dari tanah pertanian dan toksisitasnya terhadap larva Crocidolomia binotalis dan Spodoptera litura. Laporan Karya Ilmiah. Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Kuswardani, D. 1990. Isolasi Bacillus thuringiensis Berliner dari berbagai contoh tanah dan toksisitasnya terhadap larva Crocidolomia binotalis Zeller (Lepidoptera). Laporan Masalah Khusus. Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Lynch, J.M. and J.E. Hobbie. 1988. Micro-organism in action: concepts and application in microbial ecology. Blackwell Scientific Publication.
- Margalit, J. and D. Dean. 1985. The story of Bacillus thuringiensis var. israelensis. J. Am. Mosq. Control Assoc. 1(1):1-7.
- Ohba, M., K. Aizawa and T. Furusawa. 1979. Distribution of Bacillus thuringiensis serotypes in Ehime Prefecture Japan. Appl. Entomol. Zool. 14(3):340-345.
- \_\_\_\_\_. 1986. Insect toxicity of Bacillus thuringiensis isolated from soils of Japan. J. of Invertebr. Pathol. 47:12-20.
- \_\_\_\_\_. 1986. Distribution of Bacillus thuringiensis in soils of Japan. J. of Invertebr. Pathol. 47:277-282.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :  
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah  
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



- Oka, I.N. 1957. Perijobaan laboratorium dalam pemberantasan ulat kubis P. maculipennis Curt. dengan B. thuringiensis Berl. Teknik Pertanian Tahun VI, 4:113-134.
- Oka, I.N. dan M. Sukardi. 1982. Dampak lingkungan penggunaan pestisida. J. Litbang Pertanian. 1(2):49-56.
- Pinnock, D.E., R.J. Brand and J.E. Milstead. 1971. The field persistence of Bacillus thuringiensis spores. J. of Invertebr. Pathol. 18:405-411.
- Pruell, C.J.H., H.D. Burges and C.H. Wyborn. 1980. Effect of exposure to soil on potency and spore viability of Bacillus thuringiensis. J. of Invertebr. Pathol. 35:168-174.
- Ramulu, U.S.S. 1979. Chemistry of insecticides and fungicides. Oxford and IBH Publ. Co., New Delhi.
- Rusmana, I. 1990. Isolasi Bacillus thuringiensis Berliner dari tanah peternakan ulat sutra dan toksisitasnya terhadap larva Crocidolomia binotalis dan Spodoptera litura Zeller. Laporan Masalah Khusus. Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Sastrosiswojo, S. 1987. Perpaduan pengendalian secara hayati dan kimiawi hama ulat kubis (Plutella xylostella L.; Lepidoptera: Yponomeutidae) pada tanaman kubis. Universitas Pajajaran, Bandung.
- Sneath, P.H.A. 1986. Bergey's manual of systematic bacteriology. Vol.2. William and Wilkins, Baltimore.
- Steel, R.G.D. and J.H. Torrie. 1980. Principles and procedures of statistic. McGraw-Hill International Book Company, London.
- Tanada, Y. 1967. Microbial pesticides. In W.W. Kilgore and R.L. Doutt (ed.). Pest control. Academic Press, New York.
- Tavipa, A. 1990. Pengemasan, distribusi dan pemasaran bioinsektisida berbahan aktif Bacillus thuringiensis di PT Sandi Aneka Warna. Laporan Praktek Lapang. Jurusan Biologi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, Bogor.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :  
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah  
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



- Tavipa, A. 1990. Isolasi Bacillus thuringiensis dari tanah pinggiran hutan dan toksisitasnya terhadap larva beberapa serangga sasaran. Laporan Karya Ilmiah. Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Tyrell, D.J. 1981. Comparative biochemistry of entomocidal parasporal crystal of selected Bacillus strains. J. Bacteriol. 145(2):1052-1062.
- Van den Bosch, R., F.S. Messenger and A.P. Eutierrez. 1982. An introduction to biological control. Plenum Press, New York.
- Van emden, H.F. 1980. Pest control and its ecology. The Camelot Press Ltd.
- Vos, H.C.C.A.A. 1953. Introduction in Indonesia of Angitia cerophaga Grav., a parasite of Plutella maculipennis Curt. Contrib. Gen. Agric. Research Station, Bogor. 134:1-32.



## L A M P I R A N

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

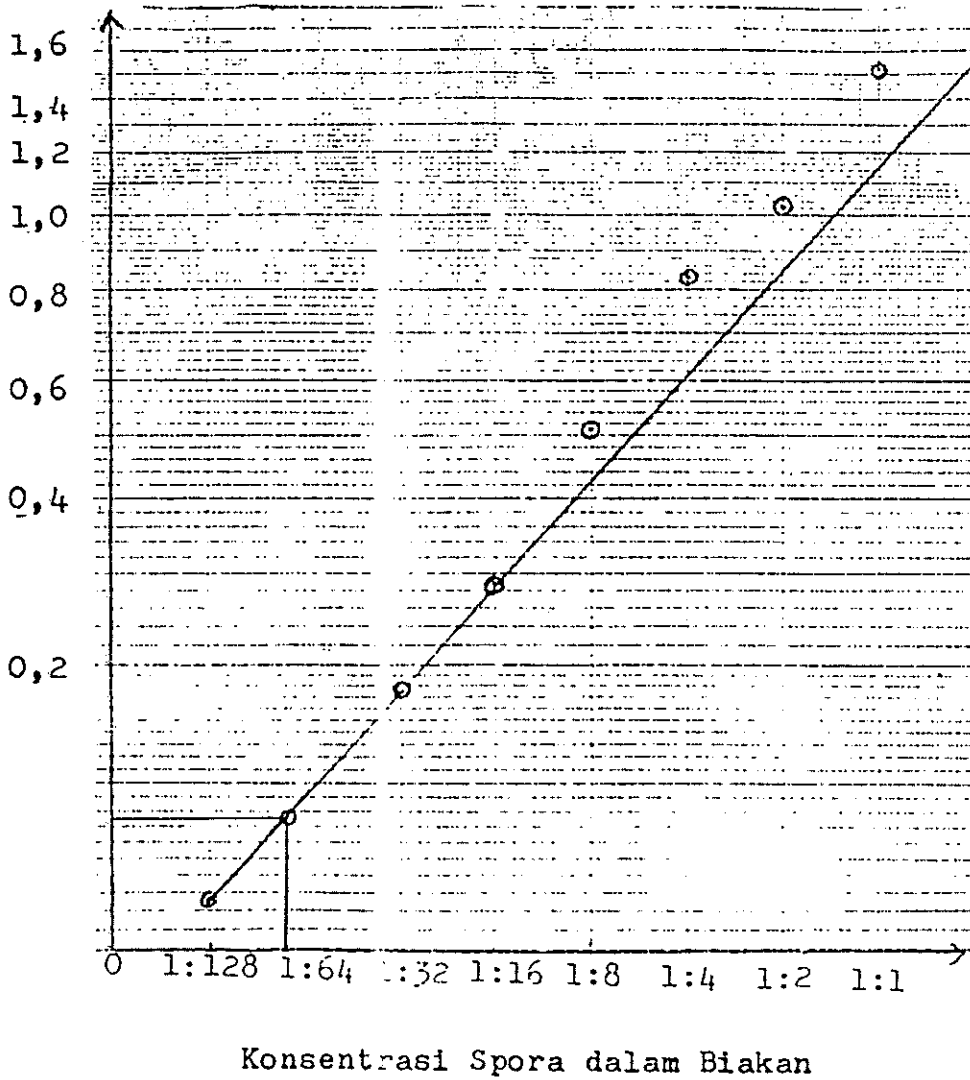
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Tabel Lampiran 1. Rapat Optis dan Konsentrasi Spora Suspensi Biakan pada Berbagai Tingkat Pengenceran<sup>a</sup>

Pengenceran	%T	OD <sub>620</sub>	Jumlah spora/ml <sup>b</sup>
1:1	3,00	1,5229	4,6 x 10 <sup>10</sup>
1:2	6,00	1,2218	2,3 x 10 <sup>10</sup>
1:4	14,50	0,8386	1,2 x 10 <sup>10</sup>
1:8	30,50	0,5157	6,0 x 10 <sup>9</sup>
1:16	51,05	0,2920	3,0 x 10 <sup>9</sup>
1:32	66,20	0,1791	1,5 x 10 <sup>9</sup>
1:64	84,20	0,0747	7,5 x 10 <sup>8</sup>
1:128	93,50	0,0292	3,8 x 10 <sup>8</sup>

<sup>a</sup>Isolat yang dipakai memiliki kristal protein bulat sedang

<sup>b</sup>Data ini diperoleh dari pencawanan suspensi pada medium NA



Gambar Lampiran 1. Kurva Standar yang Menyatakan Hubungan Antara Kekeruhan dengan Konsentrasi Spora Dalam Biakan Isolat N.01

Tabel Lampiran 2. Hasil Pengujian Terperinci Toksisitas Bakteri p.k.p. Terhadap Larva *P. xylostella* Instar Ketiga

Sandi isolat	Ulangan	Mortalitas larva sampai hari			
		ke-1	ke-2	ke-3	ke-4
Thuricide 2g/l	1	19	20		
	2	19	20		
	3	19	20		
Pemanding	1	13	20		
	2	12	20		
	3	10	20		
R.01	1	2	17	20	
	2	3	18	20	
	3	2	18	20	
R.02	1	9	18	20	
	2	13	18	20	
	3	9	17	20	
N.03	1	8	12	14	18
	2	8	13	14	18
	3	10	14	15	18
R.18	1	10	17	20	
	2	14	18	20	
	3	11	18	20	
R.19	1	1	17	19	20
	2	1	16	18	20
	3	1	15	17	20
R.20	1	0	0	0	0
	2	1	1	1	1
	3	0	0	0	1
R.21	1	0	1	1	1
	2	2	2	2	2
	3	2	2	3	3
R.22	1	4	15	17	20
	2	3	9	15	20
	3	5	13	17	20

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

- Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
  - Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
  - Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
- Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Tabel Lampiran 2 - Lanjutan

Sandi isolat	Ulangan	Mortalitas larva sampai hari			
		ke-1	ke-2	ke-3	ke-4
R.23	1	6	6	6	6
	2	5	5	5	5
	3	3	3	3	3
R.27	1	0	0	0	0
	2	0	0	0	0
	3	0	0	0	0
R.25	1	0	0	0	4
	2	0	0	0	3
	3	0	0	3	4
R.26	1	0	0	0	0
	2	0	0	0	0
	3	0	0	0	0
R.13	1	4	5	14	20
	2	6	11	14	17
	3	2	5	11	17
R.14	1	0	1	1	1
	2	0	0	0	0
	3	0	0	0	0
R.15	1	1	2	2	2
	2	1	1	1	1
	3	1	2	2	3
R.16	1	15	18	20	
	2	7	19	20	
	3	9	17	19	20
R.17	1	2	9	15	20
	2	1	8	18	20
	3	2	8	18	20
N.04	1	0	0	8	20
	2	2	6	10	20
	3	1	5	6	20

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



Tabel Lampiran 2 - Lanjutan

Sandi isolat	Ulangan	Mortalitas larva sampai hari			
		ke-1	ke-2	ke-3	ke-4
N.05	1	2	2	2	5
	2	0	2	6	9
	3	0	1	8	11
R.24	1	0	0	0	0
	2	0	0	0	0
	3	0	0	0	0
R.28	1	1	4	13	20
	2	1	8	11	20
	3	0	4	9	20
R.09	1	0	0	0	1
	2	0	0	0	0
	3	0	0	0	1
R.10	1	0	0	0	4
	2	2	2	2	4
	3	1	1	1	1
Ku.04	1	2	8	18	20
	2	1	9	18	20
	3	2	9	20	
R.11	1	0	0	1	1
	2	0	0	0	0
	3	0	0	0	0
R.12	1	0	0	1	1
	2	1	1	1	1
	3	0	0	1	3
R.03	1	1	1	1	1
	2	0	0	0	1
	3	0	0	1	1
Ku.01	1	0	0	0	1
	2	0	0	0	0
	3	0	0	0	1

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Tabel Lampiran 2 - Lanjutan

Sandi isolat	Ulangan	Mortalitas larva sampai hari			
		ke-1	ke-2	ke-3	ke-4
R.04	1	0	0	0	0
	2	0	0	0	0
	3	0	0	0	0
Ku.03	1	0	0	1	3
	2	0	0	3	4
	3	0	0	0	4
Ku.02	1	1	1	1	3
	2	1	1	4	8
	3	1	1	1	4
Ku.05	1	0	0	1	4
	2	0	0	0	0
	3	0	0	0	0
N.01	1	0	2	12	12
	2	0	8	8	8
	3	0	5	5	5
N.02	1	14	20		
	2	14	20		
	3	12	20		
R.08	1	8	10	16	20
	2	6	11	19	20
	3	6	12	18	20
R.05	1	8	19	19	20
	2	9	18	20	
	4	11	15	20	
R.06	1	0	0	0	0
	2	0	0	0	0
	3	1	1	1	1
R.07	1	0	0	0	1
	2	0	0	1	1
	3	0	1	1	1

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Tabel Lampiran 2 - Lanjutan

Sandi isolat	Ulangan	Mortalitas larva sampai hari			
		ke-1	ke-2	ke-3	ke-4
T.01	1	8	13	20	
	2	10	13	18	20
	3	8	17	20	
T.02	1	0	0	0	0
	2	0	0	0	0
	3	1	1	1	1
T.03	1	0	0	0	2
	2	0	0	0	1
	3	0	0	0	1
T.04	1	0	0	0	2
	2	0	0	1	2
	3	0	0	0	0
T.05	1	1	1	1	1
	2	1	1	1	1
	3	0	1	1	2
T.06	1	4	10	18	20
	2	7	15	20	
	3	7	17	18	20
ka.01	1	14	19	20	
	2	12	19	20	
	3	15	18	20	
Ka.02	1	10	16	20	
	2	8	19	20	
	3	8	16	20	
Ka.03	1	0	0	0	1
	2	0	0	1	2
	3	0	0	1	1
Ka.04	1	0	0	0	1
	2	0	0	1	3
	3	0	0	0	1

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Tabel Lampiran 2 - Lanjutan

Sandi isolat	Ulangan	Mortalitas larva sampai hari			
		ke-1	ke-2	ke-3	ke-4
Ka.05	1	0	0	0	0
	2	0	0	0	1
	3	0	0	0	0
M.01	1	11	17	20	
	2	12	19	20	
	3	11	15	20	
M.02	1	8	19	20	
	2	12	19	20	
	3	9	19	20	
M.03	1	12	20		
	2	8	20		
	3	13	20		
M.04	1	6	19	20	
	2	5	18	20	
	3	5	18	20	
M.05	1	0	0	0	3
	2	0	0	1	3
	3	1	1	1	1
M.06	1	11	18	20	
	2	11	19	20	
	3	12	19	20	
Kontrol	1	0	0	0	0
	2	0	0	0	0
	3	0	0	0	0

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Tabel Lampiran 3. Sidik Ragam Rancangan Acak Lengkap Uji Toksisitas Bakteri p.k.p. terhadap Larva *P. xylos-tella* Instar Ketiga Pada Hari Pertama

Sumber Keragaman	Derajat bebas	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	$F_{hit}$	$F_{tab}$	
					5%	1%
Perlakuan	56	3420,8889	61,0873	48,59**		
Galat	114	143,3333	1,3573			
Total	170	3564,2222				

\*\* Berbeda sangat nyata pada taraf peluang 1%

Koefisien keragaman 32,55%

Tabel Lampiran 4. Hasil Uji BNT Pada Hari Pertama

Sandi isolat	Mortalitas rata-rata	
Ka.01	14	a
N.02	13	ab
R.18	12	bc
Pembanding	12	bc
M.06	11	cd
M.01	11	cd
M.03	11	cd
R.02	10	cd
R.16	10	cd
M.02	10	cd
R.05	9	de
Ka.02	9	de
T.01	9	de
N.03	9	de
R.08	7	ef
T.06	6	fg
M.04	5	fg
R.23	5	fg
R.22	4	gh
R.13	4	gh
R.07	2	hi
R.17	2	hi

Tabel Lampiran 4 - Lanjutan

Sandi isolat	Mortalitas rata-rata	
Ku.04	2	hi
R.21	1	i
R.19	1	i
R.15	1	i
N.01	1	i
R.10	1	i
Ku.03	1	i
N.05	1	i
R.28	1	i
T.05	1	i
R.20	0	i
R.12	0	i
R.03	0	i
T.02	0	i
R.06	0	i
M.05	0	i
R.24	0	i
R.25	0	i
R.26	0	i
R.14	0	i
R.27	0	i
R.09	0	i
R.11	0	i
Ku.01	0	i
R.04	0	i
Ku.02	0	i
Ku.05	0	i
T.03	0	i
T.04	0	i
Ka.04	0	i
Ka.03	0	i
Ka.05	0	i
R.07	0	i
N.04	0	i
Kontrol	0	i





Tabel Lampiran 5. Sidik Ragam Rancangan Acak Lengkap Uji Toksisitas Bakteri p.k.p. terhadap Larva P. xylos-tella Instar Ketiga Pada Hari Kedua

Sumber keragaman	Derajat bebas	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	$F_{hit}$	$F_{tab}$ 1%
Perlakuan	56	10333,9649	184,5351	117,74**	
Galat	114	178,6667	1,5673		
Total	170	10512,6316			

\*\* Berbeda sangat nyata pada taraf peluang 1%

Koefisien keragaman 18,25%

Tabel Lampiran 6. Hasil Uji BNT pada Hari Kedua

Sandi isolat	Mortalitas rata-rata	
Pembanding	20	a
M.03	20	a
N.02	20	a
M.02	19	ab
M.06	19	ab
Ka.01	19	ab
M.04	18	abc
R.16	18	abc
R.07	18	abc
R.02	18	abc
R.18	18	abc
R.05	17	bc
M.01	17	bc
Ka.02	17	bc
R.19	16	c
T.01	14	de
T.06	14	de
N.03	13	ef
R.22	12	ef
R.08	11	fg
Ku.04	9	gh

Tabel Lampiran 6 - Lanjutan

Sandi isolat	Mortalitas rata-rata	
R.17	8	h
R.13	7	hi
R.28	5	ij
N.04	5	ij
R.23	5	ij
N.01	4	jk
R.21	2	kl
R.15	2	kl
N.05	2	kl
R.10	1	l
Ku.03	1	l
T.05	1	l
R.06	0	l
R.07	0	l
M.05	0	l
R.20	0	l
R.12	0	l
R.03	0	l
T.02	0	l
R.14	0	l
R.24	0	l
R.25	0	l
R.26	0	l
R.27	0	l
R.09	0	l
R.11	0	l
Ku.01	0	l
R.04	0	l
Ku.02	0	l
Ku.05	0	l
T.03	0	l
T.04	0	l
Ka.03	0	l
Ka.04	0	l
Ka.05	0	l
Kontrol	0	l