

Bioesai Bioinsektisida Berbahan Aktif *Bacillus thuringiensis* Asal Tanah Lebak terhadap Larva *Spodoptera litura*

Bioessay of Bacillus thuringiensis Berliner Bioinsecticide Against Spodoptera litura Fabricius

Triani Adam^{1*)}, Rina Juliana¹⁾, Nurhayati¹⁾, Rosdah Thalib^{1,2)}

¹⁾Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fak. Pertanian, Universitas Sriwijaya, Indralaya

²⁾Pusat Unggulan Riset Pengembangan Lahan Suboptimal (PUR-PLSO)

Universitas Sriwijaya, Palembang

*)Penulis untuk korespondensi: Tel./Faks. +62711580059/+62711580276

email: triani.adam@ymail.com

ABSTRACT

Spodoptera litura is poliphagous insect pests that are able to attack a wide range of host plant species. This study aimed to observe the effect of the active ingredient of bioinsecticide from *Bacillus thuringiensis* on mortality and LT₅₀ larvae of *S. litura*. This study used a completely randomized design had six treatments and four replications. The carrier material used to formulate bioinsecticide from sterile EKKU, sterile EKKU centrifuged, non-sterile EKKU, non-sterile EKKU centrifuged, Nutrient Broth and water. Bioinsecticide formulation with a carrier EKKU sterile, sterile EKKU centrifuged, EKKU non-sterile, non-sterile EKKU centrifuged and NB were not significantly different from each other on the mortality of *S. litura*, but the fifth was significantly different with the control treatment. LT₅₀ highest in non-sterile treatment EKKU centrifuged at 70.653 whereas the lowest LT₅₀ occurred on treatment with sterile carrier material was centrifuged EKKU the time needed to kill 50% of insect tests was 33.557 hours. Bioesai bioinsecticide with a sterile carrier material centrifuged EKKU was more influential on mortality and LT₅₀ of *S. litura*.

Key words: *Bacillus thuringiensis*, bioinsecticide, LT₅₀, mortality,

ABSTRAK

Spodoptera litura merupakan hama polifag yang dapat menyerang berbagai spesies tanaman. Penelitian ini bertujuan untuk mengamati pengaruh aplikasi bioinsektisida bahan aktif *Bacillus thuringiensis* terhadap mortalitas dan LT₅₀ larva *S. litura*. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap memiliki enam perlakuan dan empat ulangan. Adapun bahan pembawa yang digunakan untuk bioinsektisida berupa EKKU steril, EKKU steril disentrifugasi, EKKU non steril, EKKU non steril disentrifugasi, *Nutrient Broth* dan air. Formulasi bioinsektisida dengan bahan pembawa EKKU steril, EKKU steril disentrifugasi, EKKU non steril, EKKU non steril disentrifugasi dan NB tidak berbeda nyata satu sama lain terhadap mortalitas *S. litura*, tetapi kelimanya berbeda nyata dengan perlakuan kontrol. LT₅₀ tertinggi terjadi pada perlakuan EKKU non steril yang disentrifugasi yaitu 70,653 jam sedangkan LT₅₀ terendah terjadi pada perlakuan dengan bahan pembawa EKKU steril disentrifugasi yaitu waktu yang diperlukan untuk membunuh 50% serangga uji adalah 33,557 jam. Bioesai bioinsektisida dengan bahan pembawa EKKU steril disentrifugasi lebih berpengaruh terhadap mortalitas dan LT₅₀ *S. litura*.

Kata kunci : *Bacillus thuringiensis*, bioinsektisida, LT₅₀, mortalitas

PENDAHULUAN

Spodoptera litura Fabricius merupakan salah satu serangga hama yang potensial merusak tanaman pertanian. Larva *S. litura* atau ulat grayak ini bersifat polifag dan menyerang berbagai jenis tanaman pangan, sayuran, dan buah-buahan (Badan Pusat Statistik, 1993). Ulat grayak menyerang tanaman pada semua stadia. Ulat *S. litura* instar 1, 2, 3 menyerang daun sehingga bagian daun yang tertinggal hanya epidermis atas dan tulang-tulang daun, sedangkan instar 4 dan 5 merusak tulang-tulang daun sehingga tampak lubang-lubang bekas gigitan sedangkan pada instar 6, ulat sudah memasuki masa pupa dimana pergerakan ulat menjadi lamban dan daya makan ulat juga sudah berkurang (Arifin, 1991). Menurut Marwoto (2007), kehilangan hasil akibat serangan ulat grayak dapat mencapai 80% dan serangan berat menyebabkan gagal panen.

Pengendalian yang dilakukan untuk mengurangi populasi ulat grayak di lahan pertanian agar tidak mengganggu hasil produksinya sudah banyak dilakukan. Pengendalian yang masih umum dilakukan oleh petani adalah menggunakan insektisida. Insektisida yang digunakan oleh petani umumnya insektisida sintetik yang apabila tidak digunakan dengan tepat guna dapat menimbulkan dampak yang buruk untuk pengguna, lingkungan dan konsumen karena insektisida meninggalkan residu dalam produk pertanian yang akan dikonsumsi oleh konsumen (Badan Pusat Statistik, 2006).

Pemanfaatan bakteri entomopatogen untuk mengendalikan ulat grayak cukup efektif dan tidak menimbulkan masalah resistensi pada hama sasaran. Penggunaan *Bacillus thuringiensis* secara terus menerus belum pernah dilaporkan adanya resistensi (Untung, 2006). *B. thuringiensis* merupakan agens hayati berupa bakteri yang efektif mengendalikan ulat grayak karena bakteri ini menginfeksi melalui makanan yang dikonsumsi oleh serangga (Bejo, 1997). Untuk melihat bagaimana pengaruh keefektifan bakteri entomopatogen *B. thuringiensis* maka penulis melakukan penelitian tentang bioinsektisida yang berbahan aktif bakteri entomopatogen dengan bahan pembawa cair EKKU (Ekstrak Kompos Kulit Udang), kompos dan NB (*Nutrient broth*) dan melihat pengaruh dari bahan pembawa yang digunakan terhadap mortalitas larva III ulat grayak. Tujuan dari penelitian ini untuk menguji keefektifan bioinsektisida dengan berbagai bahan pembawa yang berbahan aktif bakteri entomopatogen *B. thuringiensis* dalam mengendalikan larva *S. litura* instar III.

BAHAN DAN METODE

Persiapan Isolat Bakteri. Isolat bakteri berasal dari koleksi yang ada di laboratorium Entomologi yang asalnya dari tanah lebak Sumatera Selatan. Isolat tersebut dibugarkan kembali dengan media NB (*Nutrient Broth*) di dalam erlenmeyer yang telah disterilkan terlebih dahulu di dalam *autoclave* selama 15 menit dengan suhu 121°C tekanan 1 atm kemudian diambil 1 jarum ose *B. thuringiensis* dan dimasukkan kedalam media NB (*Nutrient Broth*) sebanyak 50 ml lalu dishaker selama 12 jam. Setelah 12 jam diambil 5 ml biakan *B. thuringiensis* dari media NB (*Nutrient Broth*) tersebut dan dimasukkan kembali kedalam media NB (*Nutrient Broth*) yang baru sebanyak 50 ml (sudah disterilkan terlebih dahulu) kemudian di shaker selama 12 jam dan media siap untuk digunakan untuk produksi bioinsektisida.

Persiapan Serangga Uji. Larva *S. litura* yang belum bertelur diperoleh di diberbagai wilayah tanaman pertanian yang merupakan inang dari ulat grayak. Larva yang didapat kemudian dipelihara hingga mencapai generasi kedua. Dalam pemeliharaan serangga, pupa yang menjadi imago diberi madu dan larva diberi pakan tanaman

kangkung. Larva *S. litura* yang telah mencapai instar III pada generasi kedua adalah larva yang digunakan dalam penelitian ini.

Pembuatan Bioinsektisida. Pembuatan bioinsektisida cair menggunakan biakan murni *B. thuringiensis* yang diperbanyak di dalam media NB sebanyak 100 ml kemudian dicampur 800 mL dari masing-masing bahan pembawa berupa EKKU steril, EKKU steril yang disentrifugasi, EKKU non steril, EKKU non steril yang disentrifugasi serta NB dan ditambahkan 100 ml gliserin, untuk 1 L bioinsektisida yang dibuat kecuali perlakuan kontrol. Untuk EKKU steril, EKKU yang digunakan disterilisasi terlebih dahulu menggunakan *autoclave*. Selanjutnya, semua bahan tersebut diaduk hingga gliserin larut. Larutan bioinsektisida yang telah dibuat tersebut, lalu disimpan dalam botol ukuran 1 L selama 1 bulan. EKKU dibuat mengikuti metode Suwandi (2004).

Bioinsektisida yang Disentrifugasi. Sebelum aplikasi, untuk bioinsektisida yang disentrifugasi, yaitu bioinsektisida dengan bahan pembawa EKKU steril dan EKKU non steril, larutan bioinsektisida akan diendapkan menggunakan *centrifuge* (kecepatan 3000 rpm) selama 5 menit. Setelah itu diambil larutan bioinsektisida yang berbentuk endapan kemudian diencerkan dengan air yang kemudian diambil sebanyak 10 ml untuk aplikasi. Kerapatan spora yang digunakan dalam penelitian ini yaitu 3×10^8 .

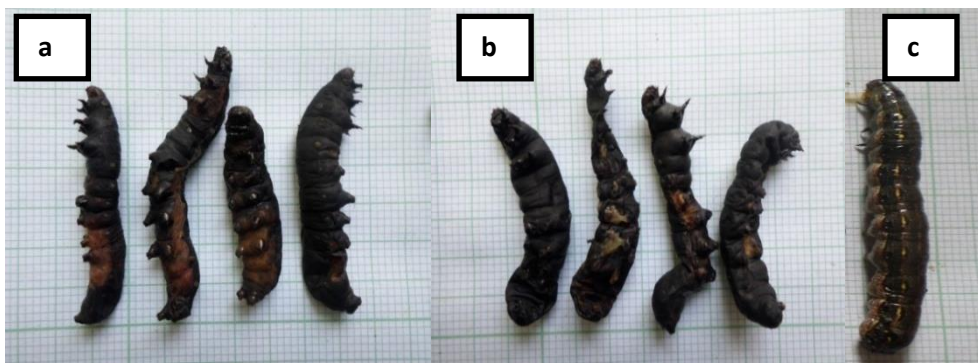
Aplikasi Bioinsektisida. Bioinsektisida pada masing-masing perlakuan diambil sebanyak 10 ml, lalu diaplikasikan dengan cara disemprot pada tanaman kangkung kemudian dikering anginkan dan dimasukkan ke dalam toples yang telah diinfestasikan larva *S. litura* sebanyak 10 ekor larva per ulangan. Tanaman kangkung yang digunakan adalah batang kangkung serta daunnya yang telah dipotong akarnya, untuk 1 ulangan menggunakan 2 batang kangkung. Selanjutnya dilakukan pengamatan tiap 6 jam sekali.

Analisis Data. Data perbedaan mortalitas larva antar perlakuan dianalisis menggunakan menggunakan Rancangan Acak Lengkap, sedangkan waktu kematian larva digunakan untuk menghitung LT_{50} dengan menggunakan analisis probit. Semua penghitungan dibantu dengan bantuan program SPSS pada SPSS 16.

HASIL

Gejala infeksi *Bacillus thuringiensis* Berliner terhadap larva *Spodoptera litura* Fabricius. Hasil penelitian menunjukkan larva yang terserang oleh *B. thuringiensis* diawali dengan berkurangnya nafsu makan, pergerakan serangga yang semakin lamban, kurang tanggap terhadap sentuhan dan adanya perubahan terhadap ukuran tubuh serangga (Gambar 1 dan 2). Larva yang hampir menjadi pupa dan terinfeksi oleh *B. thuringiensis* ukuran tubuh semakin menyusut sebagian dari tubuhnya membentuk pupa tetapi sebagian lagi mengering dan lama kelamaan menghitam kemudian mati sebelum memasuki masa pupa.

Mortalitas larva *Spodoptera litura* Fabricius. Mortalitas dari kelima bahan pembawa berupa EKKU steril, EKKU steril di sentrifugasi, EKKU non steril, EKKU non steril di sentrifugasi dan NB tidak berbeda nyata antara satu dan lainnya tetapi kelimanya berbeda nyata dengan perlakuan kontrol (Tabel 1).



Gambar 1. Gejala larva yang mati pada hari kedua (a), gejala larva yang mati pada hari ketiga (b), larva yang sehat (c).



Gambar 2. Gejala larva yang mati sebelum membentuk pupa (a), pupa sehat pada perlakuan kontrol (b).

Lethal Time 50 %. Waktu kematian serangga uji dalam penelitian ini dihitung menggunakan LT_{50} yang bertujuan untuk melihat berapa lama waktu yang diperlukan untuk membunuh 50% jumlah serangga uji. Dari hasil penelitian LT_{50} tertinggi untuk terjadi pada perlakuan EKKU non steril yang disentrifugasi yaitu 70,653 jam sedangkan LT_{50} terendah terjadi pada perlakuan dengan bahan pembawa EKKU steril yang disentrifugasi yaitu waktu yang diperlukan untuk membunuh 50% serangga uji adalah 33,557 jam (Tabel 2).

Tabel 1 : Mortalitas larva *Spodoptera litura* Fabricius (%) setelah 84 jam setelah aplikasi

Bahan Pembawa Bioinsektisida	Kisaran	Rata-rata	$BNJ_{0,05}$ (5,59)
EKKU steril	70,0-80,0	72,5 (82,2)	b
EKKU steril disentrifugasi	90,0-100,0	95,0 (81,1)	b
EKKU non steril	60,0-80,0	70,0 (82,4)	b
EKKU non steril disentrifugasi	50,0-80,0	70,0 (82,4)	b
<i>Nutrient Broth</i>	40,0-90,0	70,0 (82,4)	b
Kontrol	0	0 (9,1)	a

Keterangan: Data yang diikuti () merupakan data hasil transformasi $\arcsin\sqrt{x}$ dan angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata

Tabel 2. *Lethal Time 50 %* pada larva *Spodoptera litura* Fabricius

Bahan Pembawa Bioinsektisida	LT ₅₀ (Jam)	Kisaran (Jam)	
		Terendah	Tertinggi
EKKU steril	60,791	55,025	66,464
EKKU steril disentrifugasi	33,557	26,890	40,018
EKKU non steril	62,899	57,176	68,528
EKKU non steril disentrifugasi	70,563	64,870	76,197
<i>Nutrient Broth</i>	61,066	55,315	66,726

PEMBAHASAN

Larva yang terinfeksi tubuhnya mengkerut, lembek, warna tubuh larva lama kelamaan semakin menghitam dan apabila diamati tubuh larva tersebut akan mengecil dan menipis, hal ini disebabkan oleh sistem pencernaan dari serangga uji tersebut hancur atau lisis dan selanjutnya larva *S. litura* mati (Bravo *et al.* 2007). Menurut Lacey dan Undeen (1986), proses terjadi kematian pada serangga uji diakibatkan serangga tersebut memakan kristal protein yang dimiliki oleh bakteri entomopatogen, *B. thuringiensis* dimana kristal protein itu akan larut dalam sistem pencernaan serangga dan enzim protease yang dimiliki oleh serangga akan membantu kristal protein dalam memecahkan kristalnya.

Sesuai dengan pendapat Kashwar dan Yulianti (2001), bahwa warna tubuh larva yang telah mati pada hari pertama tidak ada perubahan tetapi pada hari kedua akan menunjukkan gejala perubahan warna coklat kemerahan. Pada hari ketiga tubuh larva tersebut akan berubah warna menjadi hitam serta mengeluarkan cairan putih susu dan menimbulkan bau busuk.

Kristal protein atau *B. thuringiensis* jika tidak berdampak langsung terhadap serangga uji, maka spora *B. thuringiensis* yang akan bekerja karena spora dapat tumbuh di dalam tubuh serangga uji. Didalam tubuh serangga uji spora bakteri tersebut akan berkecambah, sehingga mengakibatkan membran usus serangga uji menjadi rusak (Swandener, 1994).

Mortalitas pada perlakuan EKKU steril yang disentrifugasi lebih tinggi dari pada perlakuan lainnya disebabkan karena *B. thuringiensis* pada perlakuan ini tidak ada campuran dari bahan pembawa sehingga *B. thuringiensis* lebih terbebaskan dari campuran-campuran bahan lain dan hal inilah yang menyebabkan media ini lebih efektif dari media dengan bahan pembawa lainnya. Menurut Hofte & Whitley (1989), toksin yang terdapat pada *B. thuringiensis* menyebabkan terbentuknya pori-pori di sel membran dan mengganggu keseimbangan osmotik, karena keseimbangan osmotik terganggu, sel membengkak dan pecah sehingga serangga mati.

LT₅₀ tertinggi yaitu perlakuan dengan bahan EKKU steril yang disentrifugasi yaitu waktu yang dibutuhkan untuk membunuh 50 % serangga uji adalah 33,557 jam sedangkan LT₅₀ terendah dicapai perlakuan EKKU non steril yang disentrifugasi dengan waktu yang dibutuhkan untuk membunuh 50 % serangga uji yaitu 70,563 jam. Tinggi dan rendahnya waktu yang dibutuhkan untuk membunuh larva *S. litura* tergantung tingkat toksisitas dari media cair tersebut. Semakin rendah waktu yang butuh media cair dalam membunuh serangga semakin toksik media tersebut. Sebaliknya semakin tinggi waktu yang

dibutuhkan untuk membunuh serangga maka media cair memiliki tingkat toksisitas yang rendah terhadap larva *S. litura*. Menurut Bulla *et al.* (1977), menyatakan bahwa efektif atau tidaknya dalam membunuh serangga uji adalah sifat toksisitas. Toksisitas tersebut sangat menentukan efektifitas dari bioinsektisida yang digunakan. Tingkat toksisitas dari *B. thuringiensis* ditentukan oleh dua faktor yaitu spesifikasi dari mikroorganisme yang digunakan dan kerentanan serangga uji terhadap bakteri tersebut (Milne *et.al.* 1990).

KESIMPULAN

Formulasi bioinsektisida dengan bahan pembawa EKKU steril, EKKU steril disentrifugasi, EKKU non steril, EKKU non steril disentrifugasi dan NB tidak berbeda nyata satu sama lain terhadap mortalitas *S. litura*, tetapi kelimanya berbeda nyata dengan perlakuan kontrol. Efikasi bioinsektisida dengan bahan pembawa EKKU steril yang disentrifugasi lebih berpengaruh terhadap mortalitas *S. litura*. LT_{50} tertinggi terjadi pada perlakuan EKKU non steril yang disentrifugasi yaitu 70,653 jam sedangkan LT_{50} terendah terjadi pada perlakuan dengan bahan pembawa EKKU steril yang disentrifugasi yaitu waktu yang diperlukan untuk membunuh 50% serangga uji adalah 33,557 jam

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini merupakan bagian dari Riset yang didanai oleh Program Insentif Riset Sistem Inovasi Nasional Kementerian Riset dan Teknologi Tahun Anggaran 2013 dengan kontrak nomor: 94/SEK/IRS/PPK//I/2013, Tanggal 14 Januari 2013 a.n. Rosdah Thalib.

DAFTAR PUSTAKA

- Arifin M. 1991. Bioekologi, serangan dan pengendalian hama pemakan daun kedelai. Lokakarya Pengendalian Hama Terpadu Tanaman Kedelai. Malang, 8-11 Agustus 1991.
- Bravo A, Gill S S, Soberon M .2007. Mode of action of *Bacillus thuringiensis* Cry and cry toxins and their potential for insect control. *Toxicon*. 49:423-435
- Badan Pusat Statistik Propinsi NTB. 2006. *Nusa Tenggara Barat Dalam Rangka*. Mataram.
- Badan Pusat Statistik 1993. Survei Pertanian. Luas dan Intensitas Serangan Jasad Pengganggu Padi dan Palawija di Jawa. Badan Pusat Statistik, Jakarta.
- Bejo. 1997. Efektivitas *Bacillus thuringiensis* (Bt) untuk mengendalikan perusak daun kacang tanah. Laporan Teknisi Balai Penelitian Kacang-kacangan dan Umbi-umbian, Malang. 4hlm.
- Bulla I, Jr Faust RM, Wabiko H, Raymondk C. 1977. Insecticidal Bacilli in D. Dubahau (eds): *The Molecular Biology of the Bacilli*, cad Press. Inc. London. 1977. 185-210.
- Hofte H, H R Whiteley. 1989. *Distribution of Bacillus thuringiensis*. *Micobiol. Rev.* 53 (2) : 242-255.
- Kashwar, Rahayuningsih M, Yulianti. 2001. Pengaruh Aerasi Terhadap Produksi Bioinsektisida oleh *Bacillus thuringiensis* Subsp. *Israelensis* Pada Bioindikator Tangki Berpengaduk dan Kolom Gelombang. Jurusan Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor, volume 11 (3), 92-100.
- Lacey LA, Undeen AH. 1986. Microbial Control of Blackflies and Mosquitoes. *Ann. Rev. Entomol.* 31:265-296

- Marwoto. 2007. Dukungan Pengendalian Hama Terpadu Dalam Program Bangkit Kedelai. *Iptek Tanaman Pangan* 2 (1): 79-92.
- Milne RAZ, River Ged, Dean DH. 1990. Specificity of Insectisidal Crystal Proteins: Implacations for Industrial Standazation.
- Suwandi. 2004. Effectiveness of shrimps shell compost extract for suppressions of leaf diseases on cowpea, chilli pepper and cabbage. *Pest Tropical Journal* 1:18-25.
- Swadener C. 1994. *Bacillus thuringiensis* J. *Pesticed Reform* 14(3): 14-20. Northwest Coalition for Alternatif ti Pesticides. Canada.
- Untung. 2006. *Pengantar Pengelolaan Hama Terpadu*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.