

Uji Daya Bunuh *Bacillus thuringiensis* terhadap Tingkat Mortalitas Larva *Bactrocera dorsalis*

Kusuma Handayani¹, Siti Amanda Anisatuz Zahra¹, Gina Dania Pratami¹, M. Kanedi¹

¹Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung, Jl. Sumantri Brojonegoro no. 1, Bandar Lampung, 35141

*E-mail koresponden: kusumahandayani@yahoo.co.id

Bactrocera dorsalis merupakan hama utama pada tanaman hortikultura yang dapat menurunkan kualitas buah dan hasil panen. Penggunaan insektisida kimia untuk mengendalikan hama ini berpotensi merusak lingkungan. Penggunaan agen hayati dapat menjadi alternatif untuk menghindari penggunaan insektisida kimia dan menekan serangan *B. dorsalis*, yaitu dengan memanfaatkan *Bacillus thuringiensis*. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui isolat yang paling baik dalam membunuh larva *B. dorsalis* serta mengetahui tingkat mortalitas larva. Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Jenis isolat bakteri yang digunakan sebanyak 5 isolat yaitu Bt_{1TBA4}, Bt_{2TMA26}, Bt_{3BP14}, Bt_{4TSR6}, dan Bt_{5TB5} dengan konsentrasi yang digunakan adalah 80%. Penelitian ini menggunakan kontrol negatif dengan aquades steril dan kontrol positif menggunakan insektisida Curacron 500 EC. Parameter yang diamati pada penelitian ini adalah isolat *B. thuringiensis* yang memiliki daya bunuh paling efektif terhadap larva dan persentase tingkat mortalitas larva. Data mortalitas larva dianalisis menggunakan uji *Analysis of Variance* (ANOVA) dan diuji lanjut dengan uji *Duncan*. Hasil penelitian menunjukkan isolat Bt_{1TBA4} menghasilkan persentase mortalitas sebesar 60%. Sementara itu, isolat Bt_{2TMA26} dan Bt_{3BP14} menghasilkan persentase mortalitas sebesar 46.6%. Pada isolat *B. thuringiensis* yang digunakan seluruh isolat memiliki daya bunuh terhadap larva *B. dorsalis*.

Kata kunci: *Bacillus thuringiensis*, *Bactrocera dorsalis*, Pengendalian hama, Mortalitas larva

ABSTRACT

Bactrocera dorsalis is a major pest of horticultural crops, capable of reducing fruit quality and yield. The use of chemical insecticides to control this pest has the potential to harm the environment. The use of biological agents can be an alternative to avoid the use of chemical insecticides and suppress *B. dorsalis* attacks, namely by utilizing *Bacillus thuringiensis*. The objective of this study was to determine the best isolate in killing *B. dorsalis* larvae and to determine the level of larval mortality. The research design used was a Completely Randomized Design (CRD). Five types of bacterial isolates were used, namely Bt_{1TBA4}, Bt_{2TMA26}, Bt_{3BP14}, Bt_{4TSR6}, and Bt_{5TB5}, with a concentration of 80%. This study used a negative control with sterile distilled water and a positive control using Curacron 500 EC insecticide. The parameters observed in this study were the *B. thuringiensis* isolate with the most effective killing power against larvae and the percentage of larval mortality. Larval mortality data were analyzed using *Analysis of Variance* (ANOVA) and further tested using the *Duncan* test. The results showed that the Bt_{1TBA4} isolate resulted in a mortality rate of 60%. Meanwhile, isolates Bt_{2TMA26} and Bt_{3BP14} resulted in a mortality rate of 46.6%. In the *B. thuringiensis* isolates used, all isolates had killing power against *B. dorsalis* larvae.

Keywords: *Bacillus thuringiensis*, *Bactrocera dorsalis*, Pest control, Larval mortality

1. PENDAHULUAN

Bactrocera dorsalis (Diptera: Tephritidae) adalah salah satu jenis lalat buah yang merupakan hama pada tanaman hortikultura dan dapat menurunkan kualitas tanaman dengan penyebaran yang cepat (Liu dkk., 2019). Serangan lalat buah ini dapat menyebabkan kerusakan secara kuantitatif (penurunan jumlah hasil panen) dan kualitatif (kerusakan tertentu pada buah) sehingga menurunkan kualitas dan hasil panen (Pohan, 2014). Lalat buah betina menyerang tanaman inang dengan memasukkan telurnya ke dalam daging buah. Setelah telur diletakkan, larva akan menetas dan tumbuh di dalam buah hingga saatnya untuk menjadi pupa.

Upaya menekan serangan lalat buah telah dilakukan, penggunaan insektisida kimia merupakan salah satu teknik pengendalian hama namun berpotensi merusak lingkungan karena residunya akan mencemari lingkungan dan dapat mengganggu kesehatan konsumen. Oleh karena itu, diperlukan alternatif untuk menekan atau menghindari penggunaan insektisida kimia dengan menggunakan bioinsektisida (Zheng dkk., 2016). Salah satu sumber bioinsektisida adalah *Bacillus thuringiensis*. Menurut Hermanto dkk. (2013), *Bacillus thuringiensis* dikenal sebagai agen hayati untuk bahan baku pestisida ramah lingkungan.

Bacillus thuringiensis adalah bakteri gram-positif yang menghasilkan kristal protein. Adanya kristal protein yang mengkode δ -endotoksin memiliki toksisitas terhadap serangga target dan dapat digunakan sebagai agen pengendalian hayati terhadap ordo Lepidoptera dan Diptera (Ervina, 2020). Kristal protein ini jika dimakan oleh serangga sensitif akan berubah menjadi racun yang aktif dan mampu merusak saluran pencernaan sehingga dapat menyebabkan kematian (Suwarno dkk., 2015).

Berdasarkan penelitian Handayani dkk. (2023), isolat *B. thuringiensis* yang diisolasi dari tanah Kebun Raya Liwa memiliki toksisitas terhadap larva *Spodoptera frugiperda*. Informasi tentang daya bunuh isolat *B. thuringiensis* dari

tanah di Kebun Raya Liwa sebagai larvisida *B. dorsalis* belum diketahui secara jelas, oleh karena itu dilakukan penelitian untuk mengetahui daya bunuh isolat *B. thuringiensis* dari tanah Kebun Raya Liwa terhadap tingkat mortalitas larva *B. dorsalis*.

2. METODE PELAKSANAAN

Penelitian ini dilakukan pada November 2023 hingga Februari 2024 di Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium Zoologi, Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 3 ulangan. Penelitian ini menggunakan 5 isolat *B. thuringiensis* yang terdiri dari Bt1TBA4, Bt2TMA26, Bt3BP14, Bt4TSR6, dan Bt5TB5. Serangga uji yang digunakan adalah larva *B. dorsalis* instar ketiga yang diinvestasikan sebanyak 5 larva di setiap ulangan. Larva yang digunakan dalam uji diperoleh dari pemeliharaan inang dengan mengumpulkan buah yang menunjukkan gejala infestasi lalat buah dan dipelihara dalam toples pemeliharaan.

Persiapan dan Aplikasi Suspensi *B. thuringiensis*

Setiap isolat *B. thuringiensis* diremajakan pada media agar T3 (per liter mengandung 3 g tripton, 2 g triptose, 1,5 g, 0,005 g MnCl₂, 6 g NaH₂PO₄, dan 7,1 g Na₂HPO₄) (Travers dkk., 1987). Kemudian 1 ose diambil dan diinokulasi dalam 10 ml media T3 cair dalam Erlenmeyer, diinkubasi selama 18 jam di atas *rotary shaker* pada suhu ruang (Zulaika dkk., 2012). Selanjutnya kultur *B. thuringiensis* tersebut dimasukkan ke dalam 90 ml media T3 *broth* dan diinkubasi selama ± 72 jam pada suhu ruang di atas *rotary shaker* (Hermanto, 2013). Kepadatan sel bakteri yang digunakan untuk pengujian sebanyak 10⁷ sel/ml (Krishanti *et al.*, 2017) yang dihitung menggunakan *haemocytometer*, di

bawah mikroskop dengan perbesaran 1000 kali. Kepadatan sel bakteri dihitung menggunakan persamaan sebagai berikut (Gabriel and Riyatno, 1989).

$$C = \frac{t}{(n \times 0,25)} \times 10^6$$

Keterangan:

- C : Kepadatan sel
 T : Jumlah total sel dalam kotak sampel yang diamati
 n : Jumlah kotak sampel yang digunakan
 0,25 : Faktor koreksi kotak sampel skala kecil

Setelah dilakukan penghitungan kepadatan sel pada suspensi *B. thuringiensis*, dibuat perlakuan konsentrasi yang digunakan yaitu 80 ml suspensi *B. thuringiensis* ditambahkan 20 ml aquades steril dan 0,2 ml perekat. Perlakuan kontrol negatif (K-) hanya digunakan aquades steril tanpa penambahan suspensi *B. thuringiensis*. Perlakuan kontrol positif (K+) digunakan insektisida Curacron 500 EC sebanyak 0,2 ml ditambahkan 100 ml aquades steril.

Pengamatan *Bactrocera dorsalis* Setelah Aplikasi

Pengamatan larva *B. dorsalis* dilakukan setiap hari selama 3 hari setelah pengaplikasian suspensi bakteri *B. thuringiensis*. Pengamatan yang dilakukan adalah menentukan persentase mortalitas larva *B. dorsalis* yang telah terinfeksi oleh bakteri *B. thuringiensis*. Pada penelitian ini persentase kematian lalat buah (*B. dorsalis*) dihitung menggunakan rumus Pujiastuti dkk. (2017) sebagai berikut:

$$P = \left(\frac{LM}{LK} \right) \times 100\%$$

Keterangan :

- P : Persentase kematian

- LM : Jumlah lalat buah yang mati
 LK : Jumlah lalat buah keseluruhan

Analisis Data

Data mortalitas larva *B. dorsalis* dianalisis menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) dan disajikan dalam bentuk tabel. Apabila terdapat perbedaan yang signifikan akan diuji lanjut menggunakan Uji Duncan dengan taraf signifikan 5%.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil uji daya bunuh beberapa isolat *B. thuringiensis* terhadap larva *B. dorsalis* dapat dilihat pada Tabel 1. Isolat Bt1TBA4 memiliki persentase mortalitas tertinggi dibandingkan dengan keempat isolat lainnya.

Tabel 1. Persentase Mortalitas Larva *B. Dorsalis*

Perlakuan	Rata-Rata Persentase Mortalitas (%)
Bt1TBA4	60
Bt2TMA26	46,6
Bt3BP14	46,6
Bt4TSR6	33,3
Bt5TB5	20
K+	100
K-	0

Hasil penelitian pada Tabel 1, isolat Bt1TBA4, Bt2TMA26, dan Bt3BP14 memiliki daya bunuh tertinggi terhadap larva *B. dorsalis* dibandingkan dengan isolat Bt4TSR6 dan Bt5TB5. Perbedaan tingkat toksisitas setiap isolat dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti ukuran, bentuk, berat molekul kristal protein yang dihasilkan oleh isolat *B. thuringiensis*, pH saluran pencernaan larva, aktivitas enzim protease, dan kemampuan larva serangga resisten terhadap toksin *B. thuringiensis*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa persentase mortalitas tertinggi terdapat pada perlakuan Bt1TBA4 sebesar 60%. Rendahnya persentase mortalitas yang disebabkan oleh isolat *B.*

thuringiensis yang digunakan dapat dipengaruhi oleh kondisi saluran pencernaan larva.

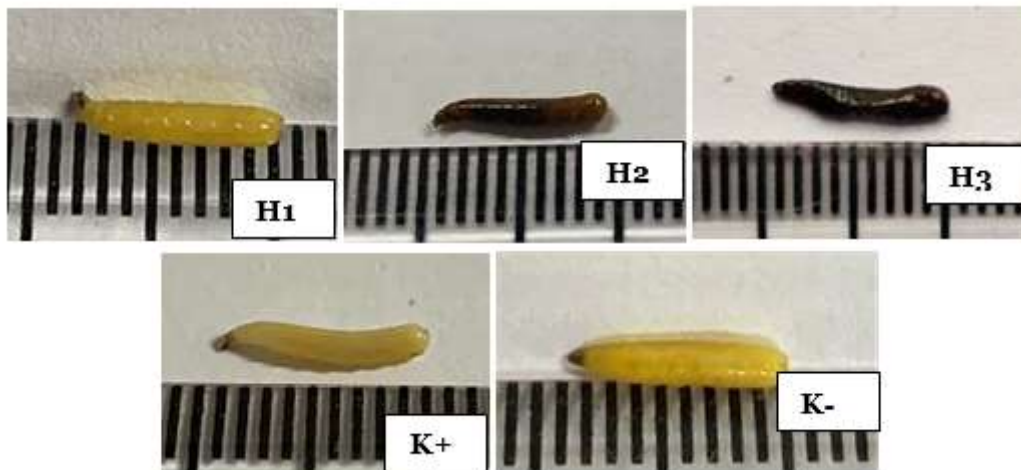
Berdasarkan penelitian Yao, dkk.,(2022), menunjukkan bahwa bagian anterior midgut larva *B. dorsalis* berwarna biru ($\text{pH} \geq 4,6$), bagian tengah berwarna kuning ($\text{pH} \leq 3$), dan bagian posterior midgut berwarna biru tua ($\text{pH} \geq 7$). Sementara itu, pelarutan kristal protein umumnya aktif pada kondisi basa (pH 9 hingga 12) di lingkungan midgut, pada pH asam hanya sedikit kristal protein yang dapat larut (Cristina dkk., 2021).

Menurut Djenane dkk., (2019) Kristal protein berbentuk bulat beracun terhadap ordo Diptera dan kristal dengan bentuk kubus juga memiliki aktivitas toksisitas terhadap Lepidoptera dan Diptera (Shankar dkk., 2019). Setiap jenis protein Cry memiliki berat molekul yang

berbeda dan tingkat toksisitas yang berbeda terhadap serangga target.

Berdasarkan berat molekul, protein Cry terdiri dari dua kelompok, yaitu protein Cry dengan berat molekul besar sekitar 130 kDa, seperti Cry1Aa dan protein Cry dengan berat molekul lebih kecil sekitar 65-70 kDa, seperti Cry11Aa (Pardo dkk., 2013). Kristal protein yang tertelan akan larut di dalam midgut serangga target dan kemudian diaktifkan oleh protease. Protein Cry akan membunuh sel dengan membentuk pori-pori setelah mengikat reseptor, menyebabkan kematian sel melalui lisis osmotik (Javier dan Vilchez, 2023).

Pengamatan perubahan morfologi larva setelah aplikasi isolat *B. thuringiensis* dilakukan selama tiga hari. Perbandingan morfologi larva yang diberi perlakuan isolat dengan kontrol dapat dilihat pada (Gambar 1).



Gambar 1. Perubahan Morfologi Larva *B. Dorsalis* H1,2,3 : Hari ke-1,2,3 ; K : Kontrol

Perlakuan menggunakan isolat *B. thuringiensis* membunuh larva pada hari kedua pengamatan. Tubuh larva mulai berubah warna menjadi agak kehitaman. Kemudian pada hari ketiga tubuh larva menjadi berair dan sangat lunak serta berwarna hitam. Larva juga mengeluarkan cairan yang berbau busuk. Sementara itu, larva kontrol positif juga mati sejak hari pertama pengamatan namun tubuh larva tidak berubah warna menjadi hitam dan tubuh larva kaku. Hal ini karena

insektisida yang digunakan memiliki mekanisme racun perut dan racun kontak serta mampu menghambat kerja enzim kolinesterase (Adharini dkk., 2016). Enzim kolinesterase adalah enzim yang mengatur kinerja saraf dalam mentransmisikan rangsangan atau impuls saraf ke reseptor sel otot dan kelenjar sehingga tubuh larva menjadi kaku dan kemudian mati (Carvalho dkk., 2013).

Larva yang mati akibat *B. thuringiensis* mengalami perubahan

warna yang terjadi pada tubuh larva. Hal ini disebabkan oleh melanisasi sebagai bentuk pertahanan terhadap patogen (Paudel, 2021). Selain perubahan warna, gejala yang timbul akibat infeksi *B. thuringiensis* juga ditandai dengan bentuk fisik tubuh larva yang melunak dan terbentuknya pori-pori atau lubang yang mengeluarkan cairan akibat pecahnya organ pencernaan larva dan menipisnya kutikula serangga akibat proses enzimatis oleh bakteri di dalam tubuh serangga uji (Pujiastuti dkk., 2023).

4. KESIMPULAN

Lima isolat *B. thuringiensis* yang digunakan memiliki daya bunuh terhadap larva *B. dorsalis* menyebabkan kematian pada hari kedua setelah aplikasi. Isolat Bt1TBA4 memiliki persentase mortalitas tertinggi dibandingkan isolat lain dengan persentase 60% dan isolat Bt5TB5 memiliki persentase mortalitas terendah sebesar 20%.

DAFTAR PUSTAKA

- Adharini, R. I., Suharno, dan Hari, H. 2016. Pengaruh Kontaminasi Insektisida Profenofos Terhadap Fisiologi Ikan Nila Merah (*Oreochromis sp.*) *Jurnal Manusia dan Lingkungan*, 22 (2): 365-373.
- Carvalho, S.J., Menezes M.S., and Guimaraes, ATB. 2013. Analysis of Cholinesterase Enzyme Activity in *Rineloricaria kronei* from Coastal Rivers in Southern Brazil. *Jurnal Ecotoxicologi and Environmental Contamination*, 8 (1): 87-92.
- Cristine, M., Abril, A., Elena, N.M., and Carabarin, A. 2021. Importance of Cry Proteins in Biotechnology: Initially a Bioinsecticide, Now a Vaccine Adjuvan. *Life*, 11 (999): 1-15.
- Djenane, Z., Nateche, F., Amziane, M., Gomis, J., Aichar, F., Khorf, H., and Ferré, J. 2017. Assessment of the Antimicrobial Activity and the Entomocidal Potential of *Bacillus thuringiensis* Isolates from Algeria. *Toxins*, (9): 139.
- Ervina, E., Sumardi, S., Ekowati, C. N., dan Rosa, E. 2020. Lipolytic-screening of *Bacillus* genera as Biocontrol Candidate in Coffee Plantation. *Jurnal Ilmiah Biologi Eksperimen dan Keanekaragaman Hayati*, 7 (1) : 31-34.
- Gabriel, B. P., dan Riyatno. (1989). *Metarhizium anisopliae* (Metch) Sor: Taksonomi, Patologi, Produksi dan Aplikasinya. Jakarta: Direktorat Perlindungan Tanaman Perkebunan, Departemen Pertanian.
- Handayani, K., Janah, S.M., Ekowati, C.N., dan Kanedi, M. 2023. Larvicide Effects of *Bacillus* sp Isolated From Soil Against Fall Armyworm *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, 22(03), 028–034.
- Hermanto, S., Jusuf, E., dan Shiddiqi, M. H. 2013. Eksplorasi Protein Toksin *Bacillus thuringiensis* dari Tanah di Kabupaten Tangerang. *Valensi*, 3 (1): 48–56
- Hermanto, S., Jusuf, E., dan Shiddiqi, M. H. 2013. Eksplorasi Protein Toksin *Bacillus thuringiensis* dari Tanah di Kabupaten Tangerang. *Valensi*, 3 (1): 48–56
- Krishanti, N. P. R. A., Wikantyo, B., Zulfitri, A., dan Zulfiana, D. (2017). Entomopathogenic Bacteria as Biocontrol Agent Against *Spodoptera litura* (F.) Larvae. *Jurnal Ilmu- Ilmu Hayati*, 16(1), 1–110.
- Liu, H., Zhang, D., Juan, X., Wang, L., Cheng, D., Feng, Q., Xiang, Y., Zeng, L., and Lu, Y. 2019. Invasion, Expansion, and Control of *Bactrocera dorsalis* (Hendel) in China. *Journal of Integrative Agriculture*, 18 (4): 771–787.
- Pardo, L., Soberón, M., and Bravo, A. 2013. *Bacillus thuringiensis* Insecticidal Three-Domain Cry Toxins: Mode of Action, Insect Resistance and Consequences for Crop Protection. *FEMS Microbiology Review*, 37 (1): 3–22.

- Paudel, A., Furuta, Y., and Higashi, H. 2021. Silkworm Model for *Bacillus anthracis* Infection and Virulence Determination. *Virulence*, 12(1), 2285–2295.
- Pohan, S. D. 2014. Pemanfaatan Ekstrak Tanaman sebagai Pestisida Alami (Biopestisida) dalam Pengendalian Hama Serangga. *Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat*, 20 (20), 94–99.
- Pujiastuti, Y., Mohandis, I., Suparman, S., Umayah, A., Gunawa, B., dan Herlin W. 2023. Kajian *Bacillus thuringiensis* Diperbanyak pada Media Padat Hasil Samping Agroindustri Terhadap Mortalitas Larva *Oryctes rhinoceros* di Rumah Bayang. *Jurnal Agrotek Tropika*, 11 (4): 651-660.
- Pujiastuti, Y., Triyansyah, H. Hamidson, Effendy, dan Suparman. 2017. Produksi Spora *B. thuringiensis* pada Media Limbah dengan Penambahan Tepung Cangkang Keong Mas dan Toksisitasnya Terhadap *S. litura* Fabr, (Lepidoptera: Noctuidae). *Jurnal Lahan Suboptimal*. 6 (2): 150-157.
- Shankar, K., Prabakaran, G., and Manonmani, A.M., 2019. WDP Formulations Using a Novel Mosquitocidal Bacteria, *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis/tochigiensis* (VCRC B-474) Development and Storage Stability. *Acta Tropica Journal*, 193: 158-162.
- Suwarno, S., Maridi, M., dan Sari, D. P. (2015). Uji Toksisitas Isolat Kristal Protein (Bt) sebagai Agen Pengendali Hama Terpadu Wereng Hijau (*Nepotettix virescens*) Vektor Penyakit Tungro sebagai Upaya Peningkatan Ketahanan Pangan Nasional. *Bioedukasi*, 8 (1), 16–19.
- Travers, R. S., Martin, P.A., and Reichelderfer, C.F. 1987. Selective Process for Efficient Isolation of Soil *Bacillus* spp. *Applied Environmental Microbiology*. 53 (6): 1263-1266.
- Yao, Z., Cai, Z., Qiongke, M., Shuai, B., Wang, C., Zhang, P., Guo, Q., Jian, G., Lemaitre, B., and Zhan, H. 2022. Compartmentalized PGRP Expression Along the Dipteran *Bactrocera dorsalis* Gut Froms a Zone of Protection for Symbiotic Bacteria. *Cell Reports*, 41 (111523): 1-12.
- Zheng, S., Chen, B., Qiu, X., Chen, M., Ma, Z, and Yu, X. 2016. Distribution and Risk Assessment of 82 Pesticides in Jiulong River and Estuary. *Chemosphere*, 144: 1177 – 1192.
- Zulaika, E., Sholikah, U., dan Prasetya, A. 2012. *Potensi Bakteri Bacillus sebagai Agensia Bioremediasi Limbah Industri yang Mengandung Merkuri*. Surabaya: Institut Teknologi Sepuluh Nopember.