



BIOMETRIC

Journal of Biology Science and Biodiversity

Journal homepage:

<http://jurnalsaintek.uinsby.ac.id/mhs/index.php/biometric/index>



Potensi *Bacillus thuringiensis* sebagai agen biologis pengendali lingkungan

Ajeng Rohmawati^{1*}, Hanik Faizah²

^{1,2}Biology, Faculty of Science and Technology, Universitas Islam Negeri Sunan Ampel Surabaya, Indonesia.

Corresponding author: ajengrohrawati999@gmail.com

ARTICLE INFO

Category
Review article

Keywords:

Bacillus thuringiensis,
Nutrition, Residual,
Chitinase

ABSTRACT

The use of syntetic pesticides is significantly contentious due to a number of interacting factors, notably the fact that all major insect pests develop resistance to diferrent classes of chemical in the secticides used against them around the world. Used as an integral part of intregated pest Management (IPM) used in both conventional and organic agriculture. To increase the endotoxin production yield that has potential to increase insecticidal activity, the optimal glucose concentration used were 6 and 8 g/L. Te difference between the residual effect and efficacy studies stems from the presence or absence of environmental parameters vegetation, insolation, and dilution. The highest mortality of 33.3, 7.1 and 7.1 % waas observed in *T.orichalcea*, *H.armigera* and *M.separata*, respectively. The highest mortality was recorded by VLbt135 against *T.oricalsea* and *M.overall*, the four hydrochloride cartapace interaction were antagonistic. Synergistic interaction only profenophos with VLbt38 and VLbt109 and imidacloprid with VLbt27

© 2020 Universitas Islam Negeri Sunan Ampel Surabaya.

PENDAHULUAN

Setelah pembatasan pemakaian DDT secara berebihan sekitar 40 tahun lalu, sehingga menjadikan larvasida menjadi komponen penting pada penyakit tular vektor. Namun, jenis larvasida saat ini yang banyak digunakan mengarah pada musush alami alami dari vektor tersebut tanpa menimbulkan efek pencemaran terhadap lingkungan melalui pemanfaatan *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) dan *Bacillus sphaericus* (Bs), yang terbukti tidak bekerja secara nontarget sehingga secara selektif membunuh larva Culicidae dan tidak membahayakan flora dan fauna sekitarnya. Berada di tempat selama beberapa dekade di Amerika Utara, Eropa dan sebagian Asia, pengelolaan sumber larva (LSM) berdasarkan larvasida biologis jarang meninggalkan kerangka penerapan eksperimental di negara-negara Afrika sub Sahara.

Pengelolaan hama di negara-negara industri didasarkan pada penggunaan intensif pestisida kimia sintetis. Tidak dapat disangkal, pestisida ini telah berkontribusi pada peningkatan hasil panen hampir 70% di Eropa dan 100% di Amerika Serikat (Pretty, 2008). Namun, penggunaan pestisida sintetis secara signifikan menjadi perdebatan karena sejumlah

faktor yang saling berinteraksi, terutama fakta bahwa semua hama serangga utama mengembangkan ketahanan terhadap berbagai kelas bahan kimia dalam sektisida yang digunakan untuk melawannya di seluruh dunia. Lebih dari 500 spesies hama arthropoda memiliki ketahanan terhadap satu atau lebih insektisida sedangkan gulma tahan herbisida menghitung sekitar 200 spesies (I.Heap, 2009). Biopestisida digunakan sebagai bagian integral dari Pengendalian Hama Terpadu (PHT) dan diklasifikasikan menjadi tiga kelompok menurut asalnya [mikroba, tumbuhan (biokimia) atau hewan (semiookimia)], dan dapat digunakan baik dalam pertanian konvensional maupun organik.

KEBUTUHAN NUTRISI

Sejumlah penelitian berfokus pada faktor-faktor yang memengaruhi pertumbuhan, sporulasi dan juga pembentukan toksin yang berkaitan dengan kebutuhan nutrisi yang dibutuhkan seperti halnya kalium, ion logam, dan nitrogen. Namun hasil penelitian baru-baru ini telah membuktikan bahwasanya telah ditemukan strain *Bacillus thuringiensis* yang mampu memfermentasi xilan dan juga selulosa (L.Agustin et al, 2012). Pada hasil pengujian yang telah dilakukan melalui metode perhitungan jumlah endospora dengan metode TVSC bahwasanya peningkatan konsentrasi glukosa pada media yang digunakan dapat meningkatkan hasil produksi endotoksin yang berpotensi pada peningkatan aktifitas insektisida, konsentrasi optimal glukosa yang digunakan yaitu 6 dan 8 g/L. Tetapi dengan konsentrasi glukosa yang lebih tinggi pada media juga dapat mempengaruhi pembentukan spora yang dapat menghambat pembentukan spora.

Tabel 1. Media Sintetik untuk pertumbuhan *Bti* budidaya

Synthetic media	1	2	3	4	5	6	7	8
Reference Compound (g/L)	J.Lima-perez	R.B. Smith a	G. Amin	D.P. Sikdar	M. Ozkan	G. Praba karan	D.Ghr ibi	M.H. Sarraf zاده
Glukosa	12		20	10	1	10	15	5
Glyserol							5	
Kasein hidrosilat								4.5
Kaldu daging						3		
Ekstrak yeast	2.59	5	4.62	2	2		5.4	6
Bactopeptone			4.62				1	1.4
Tryptone		10		1	0.5		1	1.4
(NH ₄) ₂ SO ₄			1		0.08	0.102		0.332
KH ₂ PO ₄			3.4			5		

(Waffa Jallouli et al, 2020)

Diantara sumber karbon yang diuji pada tabel diatas semuanya bersifat stimulator sedangkan pati, glukosa, dan molase bersifat supresif. Media garammineral harus mengandung K₂HPO₄, 4MgSO₄.7H₂O dan CaCl₂.2H₂O pada 1, 0.3 dan 1 g L⁻¹. Berdasarkan pada tabel 3, semua media sintetis yang digunakan merupakan media kompleks karena mengandung ekstrak ragi dan kaldu daging sapi (G. Prabakaran et al, 2006).

Pada referensi lainnya menyatakan bahwasanya interaksi sumber karbon dan nitrogen diselidiki pada nilai CFU yang dihasilkan untuk sumber karbon bit gula. Nilai CFU maksimum diperoleh dengan kadar nitrogen terendah yaitu kurang dari 2%, dan pada konsentrasi karbon 8% tidak menunjukkan selisih perbedaan yang tinggi, karena adanya interaksi yang kuat antara media tetes tebu dan kandungan nitrogen sehingga dapat merubah konsentrasinya. Dalam studi lain, Sarafzadeh menemukan bahwasanya sirup jagung, ion sulfat mangan dan natrium asetat sangat efektif untuk pertumbuhan *Bti* strain (Bt-H14) (Sarrafzadeh, 2014).

Konsentrasi δ -endotoksin yang serupa diperoleh oleh Mounsef et al. menggunakan dedak gandum sebanyak 6% ($2,4 \text{ g L}^{-1}$). Namun, dengan menggunakan kombinasi bubur dan tepung ikan menunjukkan bahwa produksi δ -endotoksin tertinggi dapat dicapai dengan *Btk* strain mencapai 3–3,3 g/L, tetapi produksi terendah dicapai dengan *Bti* strain ($1,24\text{--}1,99 \text{ g L}^{-1}$). Hanya 1 g L^{-1} dan $0,75 \text{ g/L}$ dari δ -endotoksin yang diperoleh dengan membudidayakan *Btk* dalam bubur hidrolisat dan media berbasis molase 2%, masing-masing, pernyataan serupa juga disampaikan bahwasanya dengan menggunakan kombinasi yang berbeda dari agro-industri residu dan produk, spora jumlah bervariasi antara 5,5 dan $21,6 \times 10^8$ spora mL. Jumlah spora komparatif dari 15×10^8 spora mL⁻¹ diperoleh saat menggunakan ekstrak ragi pembuat bir sebagai sumber utama nitrogen (S. Saksinchai, 2001).

RESIDU

Pada ujicoba yang dilakukan pada hari pertama semua konsentrasi uji menunjukkan kematian larva selama 24 jam pertama setelah aplikasi. Setelah uji coba ditemukan larva dengan keterlambatan pertumbuhan atau abnormalitas, sehingga efek residu yang dihasilkan sangat bervariasi kurang ≤ 2 hari hingga 3 hari. Pada konsentrasi 0,2 mg/L. Efek residu yang dihasilkan dipengaruhi oleh kondisi lingkungan (Mittal PK, 2003) dan juga kadar air uji yang digunakan. Intensitas sinar matahari dan suhu air yang tinggi memberikan potensi pada tingkat mortalitas *Bti*, sehingga tingkat mortalitas pada pengujian dilapangan lebih besar dari pada di laboratorium. Endapan yang terjadi pada waktu pengujian tidak terlalu mempengaruhi residu larva, namun kelembaban relatif dan juga jumlah lokasi perkembangbiakan lingkungan yang ada memiliki pengaruh pada kelangsungan hidup vektor dewasa nzmun tidak menghasilkan perbedaan pada oviposisi yang disebabkan karena rekolonisasi wadah (Ymana, 2013).

Literature yang lainnya menyatakan temuan yang sangat berbeda tentang efek residual bahwasanya pada periode 9 hari sebelum larva kepadatan larva muncul kembali 1,4%. Pengurangan larva yang efektif diamati 7 hingga 10 hari (Kroeger, 1955). Sejalan dengan temuan lain efek residu yang berlangsung antara dua dan tiga hari berasal dari pengaturan eksperimental, secara umum perbedaan antara pengaturan studi yang berbeda berdasarkan pada uji coba lapangan, semi lapangan, dan kondisi laboratorium. Perbedaan antara studi tentang efek residu dan kemanjuran berasal dari ada atau tidaknya parameter lingkungan seperti vegetasi, insulasi, dan pengenceran. Fluktuasi dalam kepadatan larva berasal dari beberapa persentase aplikasi larva tetapi bagian terbesar berkontribusi pada perkembangan dari satu tahap larva ke tahap lainnya dan oviposisi serta perkembangan larva baru. Sementara larvae muncul kembali dalam waktu yang relatif singkat, hampir tidak ada pupa yang dapat berkembang di antara dua aplikasi *Bti*. Dalam interval intervensi mingguan larva instar akhir tidak mampu berkembang menjadi pupa dan imajiner (Govoetchan. 2014).

BIOASSAY KITINASE DENGAN INSEKTISIDA

Kematian serangga hasil perlakuan kombinasi antara *Bt* dengan insektisida komersial pada tanaman kubis dengan metode uji cakram daun (metode IRAC No. 1), disertai dengan kombinasi dosis insektisida dan isolat *Bt*.

Tabel 2 : Toksisitas supernatan kultur bebas sel dari isolat *B. thuringiensis* kitinolitik kuat yang berasal dari Uttarakhand Himalayas, India

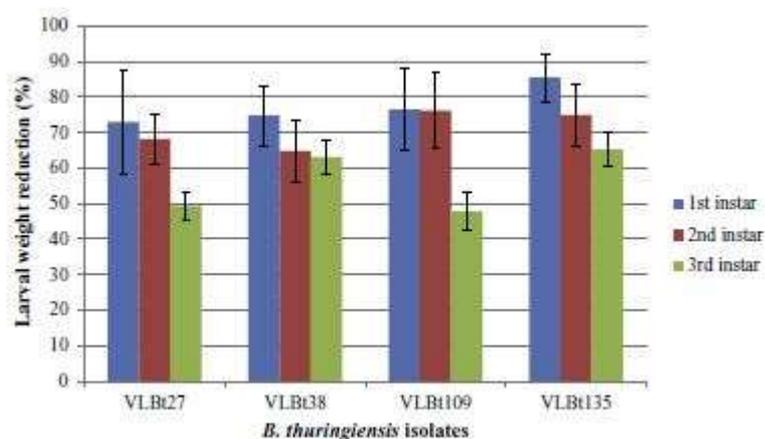
Isolat	Aktifitas spesifik (U/mg) protein	Persentase mortalitas				
		T.orichaelsia		H.armigera		M. Separanta
		5 ppm	0,5 ppm	5 ppm	0,5 ppm	5 ppm
HD-1	-	35.7	3.6	25	3.6	22.6
VLB.Bt 15	44.9	17.9	3.6	3.6	0	0

Isolat	Aktifitas spesifik (U/mg) protein	Persentase mortalitas				
		T.orichaelsia		H.armigera		M. Separanta
		5 ppm	0,5 ppm	5 ppm	0,5 ppm	5 ppm
VLB.Bt 27	60.9	20	3.6	3.6	0	7.1
VLB.Bt 35	63.1	15	0	3.6	0	4.1
VLB.Bt 38	46.5	30	3.6	7.1	0	0
VLB.Bt 109	91.8	23.3	3.6	7.1	0	0
VLB.Bt 135	56.9	33.3	7.1	3.6	0	7.1
VLB.Bt 238	99.8	11.4	0	3.6	0	0
VLB.Bt 247	78.4	17.9	0	3.6	0	0
VLB.Bt 251	80.0	15	0	3.6	0	0
VLB.Bt 268	74.5	15	0	3.6	0	0
VLB.Bt 275	38.2	14.3	0	3.6	0	0

(Subhanna et al, 2019)

Bioassay serangga menggunakan kitinase dari 11 isolat Bt terpilih menunjukkan toksisitas langsung yang buruk terhadap larva bahkan pada konsentrasi tertinggi yang diuji (5 ppm) dibandingkan dengan H Strain D-1 (Tabel 3). Di antara hama serangga yang diuji, *T. orichalcea* ditemukan lebih rentan terhadap kitinase, dibandingkan dengan *H. armigera* dan *M. separata*. Sehubungan dengan isolat Bt yang diuji, mortalitas tertinggi 33,3, 7,1 dan 7,1% diamati masing-masing pada *T. orichalcea*, *H. armigera* dan *M. separata*. Kematian tertinggi ini dicatat oleh VLBt135 terhadap *T. orichalcea* dan *M. Separata*. Secara keseluruhan, keempat interaksi kartap hidroklorida bersifat antagonis. Interaksi sinergis hanya profenophos dengan VLBt38 dan VLBt109 dan imidacloprid dengan VLBt27. Menariknya, interaksi yang tersisa pada profenophos bersifat aditif dengan nilai faktor ko-toksikitas positif dan pada imidacloprid bersifat antagonis (ARNS Subhanna et al, 2019).

Pada kasus *H. armigera*, kematian tertinggi dicatat oleh VLBt38 dan VLBt109 yang merupakan terbaik kedua terhadap *T. orichalcea*. Isolat terbaik ketiga, VLBt27 memberikan mortalitas 20,0, 3,6 dan 7,1% pada *T. orichalcea*, *H. armigera* dan *M. separata*. Tidak ada isolat yang mencatat mortalitas > 10% pada konsentrasi terendah yang diuji yaitu 0,5 ppm. Selain kematian, isolat ini ditemukan mengalami penurunan berat larva yang substansial (ARNS Subhanna et al, 2019).



Gambar 1 : Penurunan berat badan pada instar larva *H. armigera* yang berbeda yang diobati dengan protein supernatan 5 ppm yang mengandung kitinase dari masing-masing isolat. (Subhanna et al, 2019)

Penurunan pertumbuhan larva instar 1, 2 dan 3 *H. Armigera* menunjukkan penurunan berat rata-rata 77,4, 71,0 dan 56,4%, masing-masing dalam 4 hari pengobatan (Gbr. 2). Hasil

penelitian juga menunjukkan kerentanan minimal yang signifikan dari larva instar 3 terhadap semua isolat Bt yang diuji. Di antara isolat yang diuji, VLBt135 dilaporkan menonjol terhadap ketiga instar dengan penurunan berat larva masing-masing 85,4, 74,86 dan 65,27%. Penurunan larva akan terjadi terus menerus seiring dengan bertambahnya waktu uji yang disebabkan karena adanya adanya reaksi enzimatik yang terjadi pada organ pencernaan larva, sehingga menyebabkan ketidak seimbangan osmolaritas air didalam tubuh larva yang berakhir pada kematian larva (Alchanatis et al, 2000).

KESIMPULAN

Peningkatan konsentrasi glukosa pada media yang digunakan dapat meningkatkan hasil produksi endotoksin yang berpotensi pada peningkatan aktifitas insektisida, konsentrasi optimal glukosa yang digunakan yaitu 6 dan 8 g/L. Sejalan dengan temuan lain efek residu yang berlangsung berasal dari pengaturan eksperimental, secara umum perbedaan antara pengaturan studi yang berbeda berdasarkan pada uji cba lapangan, semi lapangan, dan kondisi laboratorium. Perbedaan antara studi tentang efek residu dan kemanjuran berasal dari ada atau tidaknya parameter lingkungan seperti vegetasi, insulasi, dan pengenceran. Mortalitas tertinggi 33,3, 7,1 dan 7,1% diamati masing-masing pada *T. orichalcea*, *H. armigera* dan *M. separata*. Kematian tertinggi ini dicatat oleh VLBt135 terhadap *T. orichalcea* dan *M. separata*. Secara keseluruhan, keempat interaksi kartap hidroklorida bersifat antagonis. Interaksi sinergis hanya profenofos dengan VLBt38 dan VLBt109 dan imidacloprid dengan VLBt27.

DAFTAR PUSTAKA

- Alchanatis, V., Navon, A., Glazer, I., Levski, S., 2000. An image analysis system for measuring insect feeding effects caused by biopesticides. *J. Agric. Eng. Res.* 77, 289–296 .
- Kroeger A, Horstick O, Riedl C, Kaiser A, Becker N: The Potential for Malaria Control with the Biological Larvicide *Bacillus-Thuringiensis Israelensis* (Bti) in Peru and Ecuador. *Acta Trop* 1995, 60:47–57.
- L. Agustini, L. Efiyanti, SA Faulina, E. Santoso, Isolation and characterization of cellulase- and xylanase producing microbes isolated from tropical forests in Java and Sumatra, *Int. J. Lingkungan. Bioenerg.* 3 (2012) 154–167.
- Govoetchan R, Gnanguenon V, Ogouwalé E, Oké-Agbo F, Azondékon R, Sovi A, Attolou R, Badirou K, Youssouf RA, Ossè R, Akogbéto M: Tempat perlindungan musim kemarau untuk larva anopheline dan pemetaan distribusi musiman di mosquito larval habitats in Kandi, northeastern Benin. *Parasit Vectors* 2014, 7:137.
- G. Prabakaran, K. Balaraman, Development of a cost-effective medium for the large scale production of *Bacillus thuringiensis* var *israelensis*, *Biol. Control* 36 (3) (2006) 288–292. .
- Mittal PK: Biolarvicides dalam pengendalian vektor: tantangan dan prospek. *Jvector BorneDis* 2003, 40 (0972–9062 (Cetak)): 20–32.
- Mansour, NA, Eldefrawi, ME, Topozada, A., Zeid, M., 1966. Toxicological studies on the Egyptian cotton leaf worm, *Prodenia litura*. VI. Potentiation and antagonism of organophosphorus and carbamate insecticides. *J. Econ. Entomol.* 59 (2), 307–311.

- Sarrafazadeh, MH, 2014. Nutritional requirements of *Bacillus thuringiensis* during different Phases of growth, sporulation and germination evaluated by Plackett Burman method. *Iran J. Chem. Chem. Eng.* 31 (4), 131–136.
- S. Saksinchai, M. Suphantharika, C. Verduyn, Application of a simple yeast extract from spent brewer's yeast for growth and sporulation of *Bacillus thuringiensis* subsp *kurstaki*: a physiological study, *World. J. Microb. Biot.* 17 (3) (2001) 307–316.
- Subhanna, C. Chandrashekara, J. Stanley, KK Mirshra, PK Misra, A Pattanayak., 2019. Bio efficacy of chitinolytic *Bacillus thuringiensis* isolates native to northwestern Indian Himalayas and their synergistic toxicity with selected insecticides.
- Wafa Jallouli, Fatma Driss, Luc Fillaudeu, Soud Rouis, 2020. Review on Biopsticide Production by *Bacillus thuringiensis* subs. *Kurtaski* since 1990: Focus on bioprocess parameters. *Proces Biocemistry* 98 (2020) 224-232.
- Yamana TK, Eltahir EAB: Memasukkan efek kelembaban dalam model mekanistikpopulasi nyamuk *Anopheles gambiae* dinamikadi wilayah Sahel Afrika. *Vektor Parasit* 2013, 6: 235.