

Eksplorasi Bakteri yang Berpotensi sebagai Pengendali Hama Ulat Grayak (*Spodoptera litura*) (Exploration of Potential Bacteria as Biological Control of *Spodoptera litura*)

Wilhelmus Terang Arga Sanjaya¹⁾, Desak Ketut Tristiana Sukmadewi²⁾, Fahrizal Hazra¹⁾, Aisamrotul Hasanah¹⁾, dan Dwi Andreas Santosa¹⁾

¹⁾Departemen Ilmu Tanah dan Sumber Daya Lahan, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Jln. Meranti Kampus IPB Dramaga, Bogor, Jawa Barat, Indonesia 16680

²⁾Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Warmadewa, Jln. Terompong No 24, Denpasar, Indonesia 80239
E-mail: tristianasukmadewi@yahoo.com

Diterima: 4 Agustus 2020; direvisi: 12 November 2020; disetujui: 1 Desember 2020

ABSTRAK. Usaha pengendalian hama ulat grayak (*Spodoptera litura*) di tingkat petani masih mengandalkan pestisida sintetik. Tujuan penelitian adalah mengeksplorasi bakteri potensial pengendali hama ulat grayak (*S. litura*) dan menguji ketahanan bakteri potensial pada bahan pembawa kompos dan zeolit. Isolat tanah diisolasi dari tiga jenis sumber, yaitu sampel tanah daerah rhizosfer (padi, kelapa sawit, terung, jagung), sampel buah busuk (kakao, kelapa sawit, jambu air), dan sampel bangkai serangga (ulat api, belalang, kumbang tahi, kupu-kupu) yang diambil dari kawasan Dramaga dengan metode *purposive sampling*. Penelitian di laboratorium meliputi isolasi bakteri, uji patogenitas, pewarnaan gram, pengamatan morfologi koloni, uji toksisitas, uji biokimia, dan uji bahan pembawa. Berdasarkan penelitian ini didapatkan dua strain yang berpotensi sebagai agens biokontrol dengan kemampuan membunuh hama yang tinggi pada pengujian toksisitas tahap kedua, yaitu IRJ 10 (tingkat kematian 90%) dan ISU 4 (tingkat kematian 100%). Kedua isolat ini merupakan anggota genus *Bacillus*. Pada uji bahan pembawa kompos dan zeolit, penurunan jumlah sel bakteri pengendali hama paling tinggi adalah pada bahan pembawa zeolit dibandingkan dengan menggunakan bahan pembawa kompos. Jumlah sel bakteri pengendali hama pada masa penyimpanan 3 minggu masih di atas 108 CFU/g.

Kata kunci: Bakteri; Bahan pembawa; Ekplorasi; Agens pengendali hama; Ulat grayak (*Spodoptera litura*)

ABSTRACT. The effort to control the *Spodoptera litura* at the farm level still used synthetic pesticides. This research aimed to explore potential bacteria as biological control of *S. litura* and do viability test of potential bacteria on compost and zeolite carrier. Soil potential bacteria had been isolated from three sources, including rhizosphere soil samples (rice, oil palm, eggplant, corn), rotten fruit samples (cocoa, oil palm, water), and insect samples (fireworms, locusts, dung beetles, butterflies) taken from Dramaga area with the purposive sampling method. Stages of laboratory study include isolation of bacterial isolates, pathogenicity tests, gram staining, colony morphology observation, toxicity test, biochemical test, and viability test. Two strains that have potential as biocontrol agents with a high ability to kill pests in the second stage of toxicity testing are IRJ 10 (90% mortality rate) and ISU 4 (100% mortality rate). Both of these isolates are members of the genus *Bacillus*. The highest number of viability was found in zeolite carriers. The number of bacterial cells in the three-week storage period is still above 108 CFU/g.

Keywords: Bacteria; Carrier; Exploration; Pest control agents; *Spodoptera litura*

Ulat grayak (*S. litura* F.) merupakan salah satu hama daun yang penting karena mempunyai kisaran inang yang luas, meliputi kedelai, kacang tanah, kubis, ubi jalar, kentang, cabai, lada, mentimun, dan kubis (Date & Date 2016; Kousar, Bano & Khan 2020; Kumar *et al.* 2010; Punithavalli, Sharma & Rajkumar 2014; Song *et al.* 2017; Tuan, Lee & Chi 2013; Tuan *et al.* 2015; Xue *et al.* 2010; Yeh *et al.* 1997). *Spodoptera litura* menyerang tanaman budidaya pada fase vegetatif, yaitu memakan daun tanaman muda sehingga tinggal tulang daun saja. Pada fase generatif, *S. litura* memakan polong-polong muda seperti pada komoditi kacang tanah, kacang hijau, dan kedelai (Budi, Afandi & Puspitarini 2007; Hendrival, Latifah & Hayyu 2013). *Spodoptera litura* merupakan serangga hama yang terdapat di banyak

negara seperti Indonesia, India, Jepang, Cina, dan negara-negara lain di Asia Tenggara (Sintim, Tashiro & Motoyama 2009). Kehilangan hasil akibat serangan hama tersebut dapat mencapai 80%, bahkan gagal panen jika tidak dikendalikan (Marwoto & Suharsono 2008). Hama ini bersifat polifag atau mempunyai kisaran inang yang cukup luas atau banyak inang sehingga agak sulit dikendalikan.

Upaya pengendalian hama di tingkat petani hingga kini masih mengandalkan insektisida sintetik. Sebagian besar petani menggunakan insektisida dengan cara yang kurang tepat, baik jenis maupun dosisnya, bahkan 71% petani menggunakan insektisida yang tidak direkomendasikan (Baehaki & Mejaya 2014). Penggunaan pestisida yang kurang tepat tersebut

dapat memicu timbulnya beberapa masalah, beberapa di antaranya menyebabkan pencemaran lingkungan, membunuh serangga nontarget, terjadi resistensi dan resistensi hama (Basanth, Sannaveerappanavar & Gowda 2013).

Penggunaan insektisida dengan frekuensi tinggi akan menyebabkan meningkatnya tingkat resistensi terhadap insektisida tersebut. Penelitian Abbas *et al.* (2014) menunjukkan *S. litura* resisten terhadap *profenofos*, insektisida *inhibitor asetilkolin esterase* yang telah banyak digunakan untuk membasmi hama lepidopteron di Pakistan. Penelitian Abbas, Shad & Razaq (2012) menunjukkan bahwa *S. litura* juga resisten terhadap *imidacloprid* telah digunakan sebagai insektisida utama untuk mengendalikan hama pengisap kapas, sebelumnya dilaporkan bahwa tingkat intrinsik peningkatan populasi memiliki kaitan dengan rata-rata tingkat pertumbuhan relatif pada *S. litura* yang resisten terhadap *imidacloprid*.

Ishtiaq, Saleem & Razaq (2012) memantau resistensi *S. exigua* terhadap beberapa insektisida di empat distrik di Punjab selatan di Pakistan, dan rasio resistensi meningkat 7–136 kali lipat untuk *deltamethrin*, *cypermethrin*, dan *chlorpyrifos* (*pyrethroids*) dan 14 hingga 37 kali lipat untuk *profenofos* (*organofosfat*). Lai, Li & Su (2011) juga telah melakukan investigasi terhadap penggunaan insektisida *chlorantraniliprole* yang umumnya digunakan untuk membasmi *S. exigua* di 13 wilayah geografis yang berbeda di China, ditemukan bahwa delapan wilayah memiliki populasi dengan tingkat resistensi menengah dan delapan wilayah memiliki level resistensi yang rendah terhadap *chlorantraniliprole*. Selain itu, hanya satu yang menurunkan kerentanan terhadap populasi *S. exigua* serta hanya satu populasi yang rentan terhadap penggunaan *chlorantraniliprole*. Wang *et al.* (2016) melaporkan terkait aktivitas *cytochrome P450 ethoxycoumarin-O-deethylase* pada *midgut S. exigua* meningkat 1,90 sampai 2,92 *folds* saat larva instar 5 diinduksikan 0,02 mg/kg *cholantraniliprole* saat 6–36 jam setelah perlakuan. Enzim P450 (seperti *cytochrome P450 monooxygenases* dan P450s lainnya) merupakan salah satu grup utama dari enzim yang bertanggung jawab terhadap metabolisme xenobiotik dan enzim ini ditemukan pada semua jaringan serangga. Enzim ini memiliki peran penting termasuk dalam sintesis dan degradasi dari *ecdysteroids* and *juvenile hormones* serta metabolisme dari senyawa *exogenous noxious* seperti senyawa metabolit sekunder dan senyawa kimia sintetik (Li, Schuler & Berenbaum 2007).

Munculnya berbagai kasus resistensi mendorong upaya pengendalian hama yang lebih ramah lingkungan seperti dengan penggunaan biopestisida. Beberapa spesies bakteri seperti *Bacillus thuringiensis*, *B.*

subtilis, *B. sphaerichus*, *Pseudomonas* sp., dan *Serratia marcescens* dapat dijadikan sumber biopestisida yang dapat mengendalikan hama ulat grayak (*S. litura*) (Aggarwal *et al.* 2017; Mnif & Ghribi 2015). Biopestisida yang diproduksi dari isolat bakteri merupakan salah satu alternatif yang sangat menjanjikan terhadap gangguan ulat grayak (*S. litura*). Bakteri yang digunakan sebagai biopestisida untuk mengontrol hama memiliki mekanisme yang bervariasi di antaranya berperan sebagai kompetitor atau pemicu resistensi pada tanaman inang. Beberapa menghambat pertumbuhan dan perkembangan atau reproduksi dari hama. Biopestisida memiliki beberapa keunggulan di antaranya memiliki selektivitas yang tinggi dan aman bagi makhluk hidup nontarget, residu yang rendah dengan performa yang tinggi, efek toksisitasnya rendah dan dapat dinaikkan patogenitasnya dengan teknik rekayasa genetika (Mnif & Ghribi 2015). Di sisi lain rekayasa genetika juga memiliki kelemahan, yaitu berpotensi menimbulkan resistensi pada hama, seperti penelitian terdahulu menunjukkan terjadinya mutasi yang mengubah struktur dan fungsi reseptor ikatan toksin *B. thuringiensis* di dalam *midgut Lepidoptera* yang secara langsung memengaruhi keefektifan toksin *B. thuringiensis* dan berpotensi menyebabkan evolusi resistensi terhadap tanaman *B. thuringiensis* di lapangan (Coates 2016). Oleh karena itu solusi lain yang dapat dilakukan adalah dengan mengeksplorasi bakteri-bakteri potensial dari berbagai sumber yang berpotensi sebagai pengendali hama. Indonesia merupakan negara yang sangat kaya akan biodiversitasnya sehingga sangat memungkinkan didapatkan bakteri-bakteri yang berpotensi unggul untuk mengendalikan hama. Bakteri-bakteri pengendali hama ini dapat diisolasi dari berbagai sumber seperti pada tanah terutama daerah rhizosfer, bagian tumbuhan seperti daun, buah, serta dari serangga.

Penelitian ini bertujuan mengeksplorasi bakteri potensial sebagai agens biokontrol yang diisolasi dari berbagai sumber, seperti rizosfer tanaman, bagian tubuh serangga, dan limbah biomassa tanaman. Penelitian ini diharapkan menjadi dasar bagi pengembangan biopestisida untuk mengatasi masalah yang timbul dari penggunaan pestisida sintetis dan munculnya resistensi terhadap biopestisida yang dikembangkan sebelumnya.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan mulai Agustus 2017 sampai dengan Januari 2018 di Laboratorium Biologi Tanah, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Dramaga, Bogor, Jawa Barat.

Isolasi Bakteri Potensial Pengendali Hama Ulat Grayak (*S. litura*)

Sampel diambil dari empat jenis sumber, antara lain: sampel tanah daerah *rhizosfer* (padi, kelapa sawit, terong, jagung), sampel buah busuk (kakao, kelapa sawit, jambu air), dan sampel bangkai serangga (ulat api, belalang, kumbang tahi, dan kupu-kupu) yang diambil dari Kawasan Dramaga dengan metode *purposive sampling*. Isolasi bakteri dilakukan dengan memasukkan 10 g sampel tanah ke dalam 90 ml larutan garam fisiologis (8,5 g NaCl/l). Sampel digojog menggunakan *shaker* selama 30 menit. Sampel diencerkan dengan larutan garam fisiologis sampai dengan pengenceran 10^{-6} dan diberikan perlakuan *heat shock* suhu 80°C selama 5 menit dan perlakuan pada suhu dingin 1°C selama 5 menit. Setiap hasil pengenceran bertingkat, diinokulasikan ke dalam medium NA dan diinkubasi pada suhu 27°C selama 24–48 jam. Koloni bakteri yang telah diperoleh kemudian dimurnikan sehingga diperoleh koloni bakteri yang murni. Pemurnian isolat bakteri menggunakan metode *streak plate*. Setelah itu dilanjutkan dengan uji hipersensitif. Isolat bakteri yang telah didapatkan ditumbuhkan didalam medium NB dan diinkubasi selama 48 jam dengan kepadatan 10^8 sel/ml. Isolat bakteri kemudian disuntikkan ke dalam jaringan daun tanaman tembakau (*Nicotiana tabaccum*). Bakteri yang bersifat patogen ditandai dengan timbulnya nekrosis pada daun.

Karakterisasi Bakteri Potensial Pengendali Hama Ulat Grayak (*S. litura*)

Isolat yang dipilih untuk uji morfologis dan fisiologis adalah isolat yang memiliki potensi pengendalian hayati terhadap *S. litura*. Identifikasi morfologi meliputi pewarnaan gram, morfologi koloni, dan sel. Pengamatan koloni dilakukan secara visual terhadap bentuk koloni, diameter koloni, warna koloni, elevasi koloni, tepian koloni, permukaan koloni, dan motilitas, sedangkan pengamatan morfologi sel dilakukan dengan menggunakan mikroskop meliputi bentuk sel dan bentuk spora. Identifikasi fisiologis yang diuji yaitu fermentasi karbohidrat (uji gula: glukosa, sukrosa, laktosa, dextrosa, manitol), respirasi karbohidrat (uji oksidase, uji katalase, reduksi nitrat), uji sitrat, uji urease, uji indol, dan uji hidrogen sulfida. Analisis data meliputi proses karakterisasi dan klasifikasi strain bakteri potensi pengendali hayati pada larva *S. litura*. Klasifikasi dilakukan berdasarkan metode numerik fenetik dan dikonstruksikan dendrogram menggunakan algoritma pengklusteran *Average linkage* (*Unweighted Pair Method With Arithmetic Averages* = UPGMA). Klasifikasi menggunakan tiga *software* meliputi program excel untuk tabulasi data, program PFE, dan MVSP untuk konstruksi dendrogram. Identifikasi spesies bakteri dilakukan dengan menggunakan metode *Matching*

Profile berdasarkan *Key Characters* pada *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*.

Uji Toksisitas Bakteri Potensial Pengendali Hama Ulat Grayak (*S. litura*)

Isolat bakteri yang telah diseleksi dengan uji hipersensitif dan tidak bersifat patogen terhadap tanaman ditumbuhkan kembali ke dalam medium NB 30 ml. Isolat bakteri diinkubasi selama 48 jam hingga didapatkan kepadatan sel 10^8 sel/ml. Uji toksisitas dilakukan terhadap larva *S. litura* instar 2 dengan menggunakan tanaman talas (*Colocasia esculenta* L.) sebagai tanaman inang. Masing-masing botol untuk memelihara ulat dimasukkan 10 larva *S. litura* dan 2 g daun talas. Sebanyak 1 ml suspensi bakteri disemprotkan ke dalam botol.

Uji Viabilitas Bakteri Potensial Pengendali Hama Ulat Grayak (*S. litura*) dalam Bahan Pembawa Kompos dan Zeolit

Isolat bakteri yang positif memiliki potensi sebagai pengendali hayati larva *S. litura* diuji bahan pembawa. Bahan pembawa yang digunakan dalam penelitian ini adalah zeolit dan kompos. Isolat bakteri terpilih ditumbuhkan ke dalam medium NB dan diinkubasi 48 jam dengan kepadatan sel hingga 10^8 sel/ml. Bahan pembawa dimasukkan ke dalam botol kultur jaringan masing-masing sebanyak 10 g, kemudian botol ditutup dengan aluminium foil. Bahan pembawa disterilisasi menggunakan *autoclave* dengan suhu 121°C selama 30 menit sebanyak dua kali sterilisasi dengan jeda sterilisasi 24 jam. Sebanyak 2,5 ml biakan bakteri diinokulasikan ke dalam 10 g bahan pembawa dan diinkubasi selama 21 hari. Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL). Penelitian ini terdiri dari enam perlakuan dengan tiga ulangan sehingga keseluruhan terdapat 18 perlakuan (Tabel 1). Penghitungan populasi mikrob di dalam bahan pembawa dilakukan setiap 7 hari dengan menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC) agar. Hasil yang didapatkan kemudian diolah dan dibuatkan grafik menggunakan program Excel untuk melihat viabilitas mikrob di masing-masing bahan pembawa.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi, Seleksi, dan Karakterisasi Bakteri Potensial Pengendali Hama Ulat Grayak (*S. litura*)

Berdasarkan hasil isolasi diperoleh 89 isolat dari seluruh sampel yang diambil, kemudian dilakukan seleksi hingga diperoleh lima isolat terbaik yang kemudian dikarakterisasi morfologi dan fisiologi bakteri

Tabel 1. Perlakuan uji viabilitas isolat ISU 4 dan IRJ 10 pada bahan pembawa zeolit dan kompos (*Viability test of ISU 4 and IRJ 10 isolates on zeolite and compost carriers*)

Jenis bahan pembawa (<i>Type of carrier materials</i>)	Jenis isolat (<i>Type of isolate</i>)
Zeolit (kontrol)	-
Kompos (kontrol)	-
Zeolit	ISU 4
Kompos	ISU 4
Zeolit	IRJ 10
Kompos	IRJ 10

(-) = Tidak ditambahkan isolat (*No isolates added*)

tersebut. Karakter masing-masing bakteri kemudian dibandingkan dengan metode *matching profile* sehingga terindikasi bahwa empat isolat merupakan anggota genus *Bacillus* dan satu anggota merupakan genus *Arthrobacter* (Tabel 2).

Analisis *cophenetic correlation* antara tabel *sorted* dan *unsorted* pada analisis similaritas *Jaccard's Coefficient* (Sj) mendapatkan nilai r 96,93%. Hal ini menunjukkan bahwa distorsi similaritas yang terjadi setelah penerapan algoritma UPGMA masih dapat diterima secara statistik, mengingat nilai r yang didapatkan masih lebih besar dari 60% (Dawyndt, Mayer & Baets 2006). Dendogram dari lima isolat bakteri potensial pengendali hama *S.*

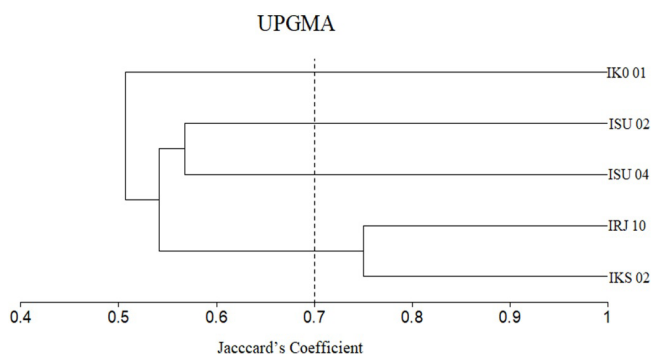
litura disusun berdasarkan sistematika menurut Priest & Goodfellow (2000) yang prinsip dasarnya menggunakan banyak karakter biologi. Dendogram tersebut disusun berdasarkan 51 karakter. Sistematika numerik fenetik yang ditampilkan dalam bentuk dendogram tersebut mempunyai tingkat resolusi diskriminatif yang baik. Meskipun demikian, sistematika klasifikasi numerik fenetik dapat digunakan untuk identifikasi sampai pada tingkat genus dan sulit digunakan untuk identifikasi hingga tingkat spesies (Darmawati *et al.* 2015; Xiong 2006).

Konstruksi dendogram menggunakan metode *Jaccard's Coefficient* (Sj) menunjukkan hubungan kedekatan karakter antara kelima isolat bakteri berdasarkan karakter morfologi dan fisiologi yang berhasil diamati. Penggunaan dendogram tersebut bertujuan untuk melihat kemiripan sifat antarspesies dan korelasinya dengan toksisitas isolat bakteri masing-masing isolat (Gambar 1 & 2). Berdasarkan konstruksi dendogram berbasis pada sifat morfologi dan biokimia yang diperoleh, diketahui bahwa kedekatan secara morfologis dan biokimia tidak selalu menunjukkan kemampuan untuk membunuh hama yang sama. Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan sifat morfologis dan biokimia tidak dapat dijadikan patokan untuk mengidentifikasi strain bakteri yang mampu menghambat atau bersifat racun bagi hama. Tingkat kemiripan sifat bakteri tidak dapat menjadi tolak ukur tinggi rendahnya kemampuan suatu isolat dalam membunuh hama. Meskipun demikian, konstruksi

Tabel 2. Identifikasi isolat secara *matching profile* dengan genus *Bacillus* dan *Arthrobacter* (*Identification of isolates by matching profile method with Bacillus and Arthrobacter genera*)

Karakter (<i>Character</i>)	IKS 2	IRJ 10	IKO 01	ISU 04	ISU 02	<i>Bacillus</i>	<i>Arthrobacter</i>
Bentuk koloni	<i>Circular</i>	<i>Circular</i>	<i>Irregular</i>	<i>Circular</i>	<i>Circular</i>	<i>Circular/irregular</i>	<i>Circular/irregular</i>
Elelasi Margins	<i>Raised Undulate (Wavy)</i>	<i>Umbonate Undulate (Wavy)</i>	<i>Flat Smooth (Entire)</i>	<i>Convex Undulate (Wavy)</i>	<i>Raised Undulate (Wavy)</i>	<i>Umbonate/raised Undulate</i>	<i>Curved/rasied Entire</i>
Warna	Putih	Putih	Putih	Krem	Cokelat	Putih	Krem
Bentuk sel	<i>Bacil</i>	<i>Bacil</i>	<i>Bacil</i>	<i>Bacil</i>	<i>Coccus</i>	<i>Bacil</i>	<i>Coccus/bacil</i>
Gram	+	+	+	+	-	+	-
Endospora	+	+	+	-	-	+	-
Suhu	25-37°C	25-55°C	25-55°C	25-55°C	25-55°C	25-60°C	25-37°C
Kondisi pH	5 sd 9	5 sd 9	4 sd 9	9	4 sd 9	3 sd 11	2,4 sd 8
Katalase	+	+	+	+	+	+	+
Oksidase	+	-	-	+	-	+/-	nd
Glukosa	+	+	-	+	+	+	+
Laktosa	+	+	-	-	-	+	-
Sukrosa	+	+	-	-	-	+	-
Manitol	+	-	-	+	-	nd	-
Dektrosa	+	-	-	-	-	nd	-
Nama Genus	<i>Bacillus</i>	<i>Bacillus</i>	<i>Bacillus</i>	<i>Bacillus</i>	<i>Arthrobacter</i>	-	-

Berdasarkan *Key Characters* pada buku *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Breed, Murray & Smith 1957). Berdasarkan tabel tersebut dapat disimpulkan bahwa strain IKS-02, IRJ-10, IKO-01, dan ISU-04 teridentifikasi sebagai anggota genus *Bacillus* dan ISU-02 merupakan anggota Genus *Arthrobacter*



Gambar 1. Dendrogram lima isolat bakteri yang dianalisis menggunakan metode *Average Linkage* (UPGMA) dan dikonstruksi menggunakan indeks similaritas *Jaccard Coefficient* ($R=96,93\%$) (*Dendrogram of five bacterial isolates analyzed using Average Linkage (UPGMA) method and constructed using Jaccard similarity index ($R=96-93\%$)*)

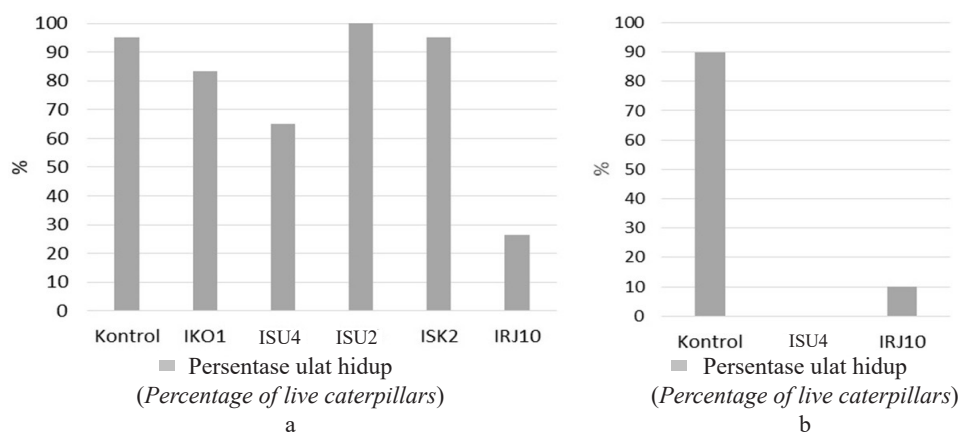
dendrogram dengan karakter yang lebih banyak atau menggunakan pendekatan lain menjadi penting untuk dilakukan. Hal ini disebabkan genus *Bacillus* merupakan salah satu kelompok bakteri yang dalam klasifikasi dan penentuan kekerabatan masih sangat sulit dilakukan, baik secara numerik-fenetik maupun secara molekuler filogenetik. Maka dari itu, kelompok *Bacillus* tersebut sering disebut *Bacillus spesies complex* (Takahashi, Kryukov & Saitou 2009).

Toksisitas Bakteri Potensial Pengendali Hama Ulat Grayak (*S. litura*)

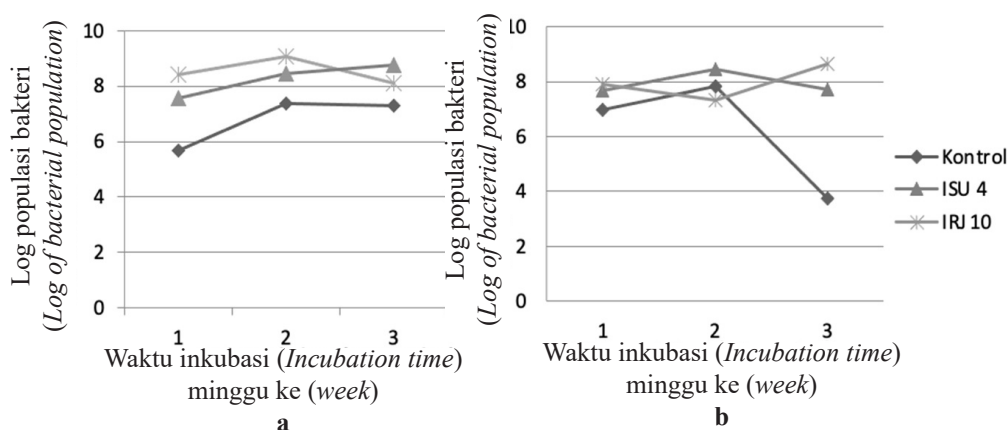
Lima isolat bakteri yang telah melalui tahap seleksi adalah isolat IKO 1, IRJ 10, ISU 4, ISK 2, ISU 2, dengan persentase isolat yang hidup kurang dari 60%. Isolat ini kemudian diuji toksisitasnya terhadap *S. litura* dengan

terlebih dahulu disamakan konsentrasinya sebesar 10^8 CFU. Isolat ini kemudian diuji kembali kemampuannya dalam mengendalikan hama untuk menguji Postulat Koch dan menguji kestabilan kemampuan ulat tersebut dalam mengendalikan hama. Postulat Koch merupakan empat kriteria yang dirumuskan oleh Robert Koch untuk menentukan hubungan sebab-akibat antara parasit dan penyakit (Wartono, Nirmalasari & Suryadi 2016). Tahap pengujian meliputi isolasi bakteri pengendali hama, kemudian koloni yang diperoleh diinokulasikan pada ulat yang sehat, setelah itu dilakukan reisolasi. Hasil dari isolasi tersebut kemudian diujikan kembali pada ulat sehat.

Berdasarkan hasil pengujian toksisitas tahap satu (Gambar 2) dari lima isolat terbaik didapatkan dua isolat mampu mengendalikan ulat grayak, yaitu isolat IRJ 10 dan ISU 4 dengan persentase isolat yang hidup pada IRJ 10, yaitu sebesar 26%. Hal ini menunjukkan bahwa IRJ 10 mampu menyebabkan kematian ulat sampai 74%. Pada ISU 4 persentase ulat yang hidup yaitu sebesar 65%. Hal ini menunjukkan ISU 4 mampu menyebabkan kematian ulat sebesar 35%. IRJ 10 dan ISU 4 menunjukkan persentase ulat yang hidup lebih rendah dibandingkan kontrol. Dari hasil pengujian toksisitas tahap satu dilakukan reisolasi pada ulat yang mati yang disebabkan oleh isolat IRJ 10 dan isolat ISU 4. Hasil isolasi ini kemudian diujikan lagi kepada ulat yang sehat. Persentase ulat yang hidup pada uji toksisitas tahap kedua, yaitu pada isolat IRJ 10, sebesar 10%, hal ini menunjukkan isolat tersebut mampu menyebabkan kematian ulat 90%. Pada isolat ISU 4, persentase ulat yang hidup sebesar 0%, hal ini menunjukkan ulat mati sebesar 100%. Berdasarkan hasil yang didapat membuktikan Postulat Koch dan terlihat bahwa dari pengujian toksisitas tahap satu dan dua IRJ 10 dan Isolat ISU 4 menunjukkan hasil yang fluktuatif sebagai pengendali hama. Isolat IRJ 10 diisolasi dari tanah rhizosfer jagung, sedangkan isolat ISU 4 diisolasi dari ulat api yang sudah mati.



Gambar 2. Persentase ulat hidup pada pengujian toksisitas bakteri pengendali hama *S. litura*. (a) pengujian toksisitas tahap I (lima isolat terbaik) dan (b) pengujian toksisitas tahap II (dua isolat terbaik) (*Percentage of live worms in the toxicity test of bacteria that control *S. litura*. (A) stage I of toxicity test (five best isolates) and (b) stage II of toxicity test (two best isolates)*)



Gambar 3. Pengujian bakteri pengendali hama pada bahan pembawa. (a) kompos dan (b) zeolite (*Viability of potential strains in the two carriers. (a) compost and (b) zeolite*)

Toksistas bakteri terhadap ulat sangat dipengaruhi oleh ketidakstabilan struktur sekuens DNA yang dimiliki oleh bakteri. Hal tersebut terjadi khususnya pada bakteri-bakteri *wild spesies* yang terdapat di alam (Gong *et al.* 2015). Perubahan materi genetik yang sulit sangat memengaruhi efektivitas penggunaan bakteri sebagai pengendali hayati sehingga penggunaan agens biokontrol juga kerap mengalami munculnya kasus resistensi dan menurunnya aktivitas pengendalian hama (Wang *et al.* 2018).

Viabilitas Bakteri Potensial Pengendali Hama Ulat Grayak (*S. litura*) dalam Bahan Pembawa Kompos dan Zeolit

Isolat bakteri dengan kemampuan terbaik diuji viabilitasnya di dalam bahan pembawa kompos dan zeolit. Hal ini dilakukan untuk mendapatkan data viabilitas bakteri terhadap bahan pembawa sebagai dasar pengembangan isolat tersebut untuk biofertilizer yang berfungsi sebagai agens biokontrol. Pembuatan *biofertilizer* umumnya berbentuk *beneficial microbe* yang diinokulasikan pada bahan pembawa. Penggabungan mikrob pada bahan pembawa memungkinkan *biofertilizer* lebih mudah untuk digunakan, memiliki periode penyimpanan yang lebih lama, dan lebih efektif. Meskipun demikian, pemilihan bahan pembawa yang tepat sangat penting terutama berkaitan dengan mengoptimalkan preservasi mikrob dan dampaknya terhadap tanah pascaaplikasi (Mukhtar *et al.* 2017). Viabilitas bakteri pengendali hama dalam bahan pembawa kompos (Gambar 3a) pada perlakuan kontrol mengalami peningkatan dari minggu pertama (log 5,69 CFU/g) ke minggu kedua (log 7,35 CFU/g) lalu menurun pada minggu ketiga (log 7,30 CFU/g). Isolat IRJ 10 mengalami peningkatan populasi pada minggu kedua (log 9,05 CFU/g) namun pada minggu ketiga mengalami penurunan populasi (log 8,08). Isolat ISU 4 mengalami peningkatan populasi dari minggu pertama (log 7,5 CFU/g) sampai minggu ketiga (log 8,77 CFU/g).

Viabilitas pengendali hama dalam bahan pembawa zeolit (Gambar 3b) menunjukkan populasi sel pada kontrol mengalami peningkatan pada minggu kedua (log 7,83 CFU/g) dan mengalami penurunan pada minggu ketiga (log 3,74 CFU/g). Populasi sel isolat IRJ 10 mengalami penurunan di minggu kedua (log 7,32 CFU/g) dan meningkat di minggu ketiga (log 8,62 CFU/g). Isolat ISU 4 mengalami kondisi yang sama dengan kontrol di mana minggu kedua mengalami peningkatan (log 8,45 CFU/g) dan pada minggu ketiga mengalami penurunan (log 7,69 CFU/g).

Berdasarkan data populasi bakteri dapat dikatakan kedua bahan pembawa tersebut baik kompos maupun zeolit berpotensi dikembangkan sebagai bahan pembawa isolat ISU 4 dan IRJ 10. Hal ini ditunjukkan dari hasil populasi isolat ISU 4 dan IRJ 10 sampai minggu ketiga mampu mempertahankan populasi yang lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol. Populasi yang mampu dipertahankan lebih tinggi dari 10^7 CFU/g. Pada berbagai pengembangan bahan pembawa, pertumbuhan mikrob yang ideal di dalam bahan pembawa selama periode inkubasi berkisar 10^6 hingga 10^9 CFU/g (El-fattah *et al.* 2013; Hong-yuan *et al.* 2014; Mukhtar *et al.* 2017). Selain itu, populasi mikrob isolat ISU 4 dan IRJ 10 relatif stabil hingga minggu ketiga. Kestabilan dan preservasi mikrob di dalam bahan pembawa sangat dipengaruhi oleh kemampuan bahan pembawa meretensi air (Arora, Tiwari & Singh 2014).

Menurut Siddiqui *et al.* (2017), suatu spesies dapat melangsungkan pertumbuhannya pada perubahan kondisi lingkungan yang mendukung di mana adaptasi fenotifik respon mikrob terhadap perubahan yang sementara. Zeolit dan kompos memiliki beberapa kelebihan sebagai bahan pembawa. Zeolite selain sebagai bahan pembawa juga berperan sebagai pembenah tanah. Pemberian zeolit sebagai bahan amelioran dapat dikombinasikan dengan bahan pembenah tanah lain seperti kompos, kapur, dan asam humat. Zeolit juga memiliki KTK dan kemampuan menyerap ion amonium tinggi serta berstruktur porous

dapat dimanfaatkan sebagai bahan pembenah tanah khususnya pada tanah-tanah yang mempunyai KTK rendah seperti Oxisol, Ultisol, dan sebagian Inceptisol (Suwardi 2009). Zeolit juga dapat mengoptimalkan penggunaan unsur hara N dan mengoptimalkan penggunaan pupuk P dan K apabila dikombinasikan dengan penambahan bahan organik (Dubey & Mailapalli 2019; Estiaty et al. 2006).

Kompos sebagai bahan pembawa juga memiliki beberapa kelebihan. Berdasarkan penelitian Larasati, Mulyana & Sudrajat (2010) menunjukkan bahwa kompos dan vermikompos yang disterilkan dengan iradiasi gamma pada taraf dosis 40 kGy memenuhi kriteria utama untuk dipertimbangkan sebagai bahan pembawa yang baik. Kedua jenis bahan pembawa tersebut dapat menopang pertumbuhan dan kelangsungan hidup bakteri selama periode penyimpanan dengan konsentrasi yang tetap tinggi, yaitu sekitar $8,7 \times 10^8$ sampai $2,7 \times 10^9$ CFU/g. Bahan pembawa berbasis kompos dan vermikompos juga mempunyai pH mendekati netral, kemampuan ikat air yang tinggi, kandungan unsur hara yang sesuai untuk kelangsungan hidup bakteri dan memiliki kemampuan untuk mempertahankan kadar kelembaban yang baik. Kompos dan vermikompos dari sisi ketersediaannya cukup berlimpah, bersifat terbarukan serta ramah lingkungan.

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan penelitian ini didapatkan dua strain yang berpotensi sebagai agens biokontrol dengan kemampuan membunuh hama yang tinggi pada pengujian toksisitas tahap kedua, yaitu IRJ 10 (tingkat kematian 90%) dan ISU 4 (tingkat kematian 100%). Kedua isolat ini merupakan anggota genus *Bacillus*. Berdasarkan uji viabilitas, baik bahan pembawa kompos maupun zeolit memiliki potensi untuk digunakan dalam formulasi biofertilizer yang mengandung kedua isolat tersebut. Bahan pembawa kompos dan zeolit mampu mempertahankan populasi isolat agens biokontrol sampai dengan minggu ketiga.

Identifikasi lebih lanjut perlu dilakukan secara molekuler pada dua strain yang berpotensi sebagai agens biokontrol. Perlu dilakukan uji viabilitas dengan rentang waktu yang lebih lama sehingga bisa diketahui sejauh mana bahan pembawa tersebut mampu mempertahankan populasi bakteri yang diinokulasikan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada pihak laboran Laboratorium Biologi Tanah, Departemen Ilmu Tanah dan Sumber Daya Lahan, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor.

DAFTAR PUSTAKA

1. Abbas, N, Ali, S, Razaq, M, Waheed, A & Aslam, M 2014, 'Resistance of *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) to profenofos: Relative fitness and cross resistance', *Crop Protection*, vol. 58, pp. 49–54, <<https://doi.org/10.1016/j.cropro.2014.01.002>>.
2. Abbas, N, Shad, SA & Razaq, M 2012, 'Fitness cost, cross resistance and realized heritability of resistance to imidacloprid in *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae)', *Pesticide Biochemistry and Physiology*, vol. 103, no. 3, pp. 181–188, <<https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2012.05.001>>.
3. Aggarwal, C, Paul, S, Tripathi, V, Paul, B & Khan, MA 2017, 'Characterization of putative virulence factors of *Serratia marcescens* strain SEN for pathogenesis in *Spodoptera litura*', *Journal of Invertebrate Pathology*, vol. 143, pp. 115–123, <<https://doi.org/10.1016/j.jip.2016.12.004>>.
4. Arora, NK, Tiwari, S & Singh, R 2014, 'Comparative study of different carriers inoculated with nodule forming and free living plant growth promoting bacteria suitable for sustainable agriculture', *Journal of Plant Pathology & Microbiology*, vol. 5, no. 2, pp. 2–4, <<https://doi.org/10.4172/2157-7471.1000229>>.
5. Bachaki & Mejaya, IMJ 2014, 'Wereng cokelat sebagai hama global bernilai ekonomi tinggi dan strategi pengendaliannya', *Iptek Tanaman Pangan*, vol. 9, no. 1, pp. 1–12.
6. Basanth, Y, Sannaveerappanavar, VT & Gowda, I 2013, 'Susceptibility of different populations of *Nilaparvata lugens* from major rice growing areas of Karnataka, India to different groups of insecticides', *Rice Science*, vol. 20, no. 5, pp. 371–378, <[https://doi.org/10.1016/S1672-6308\(13\)60147-X](https://doi.org/10.1016/S1672-6308(13)60147-X)>.
7. Breed, R, Murray, E & Smith, N 1957, 'Bergey's manual of determinative bacteriology', in *Bergey's Manual® of systematic bacteriology*, <https://doi.org/10.1007/978-0-387-68572-4_2>.
8. Budi, AS, Afandi, A & Puspitarini, RD 2013, 'Patogenitas jamur entomopatogen *Beauveria bassiana* Balsamo (Deuteromycetes: Moniliales) pada larva *Spodoptera litura* Fabricius (Lepidoptera: Noctuidae)', *HPT*, vol. 1, no. 4, pp. 57–65.
9. Coates, BS 2016, 'Bacillus thuringiensis toxin resistance mechanisms among Lepidoptera: progress on genomic approaches to uncover causal mutations in the European corn borer, *Ostrinia nubilalis*', *Current Opinion in Insect Science*, vol. 15, pp. 70–77, <<https://doi.org/10.1016/j.cois.2016.04.003>>.
10. Darmawati, S, Sembiring, L, Asmara, W & Artama, WT 2015, 'Identifikasi bakteri batang gram negatif pada darah widal positif berdasarkan karakter fenotipik', University Research Colloquium, pp. 89–96.
11. Date, R & Date, A 2016, 'Plant defence induced by PGPR against *Spodoptera litura* in tomato', *Plant Biology*, vol. 19, pp. 3, <<https://doi.org/10.1111/ijlh.12426>>.
12. Dawyndt, P, Meyer, HD & Baets, BD 2006, 'UPGMA clustering revisited: A weight-driven approach to transitive approximation', *International Journal of Approximate Reasoning*, vol. 42, pp. 174–191, <<https://doi.org/10.1016/j.ijar.2005.11.001>>.
13. Dubey, A & Mailapalli, DR 2019, 'Zeolite coated urea fertilizer using different binders: Fabrication, material properties and nitrogen release studies', *Environmental Technology & Innovation*, vol. 16, 100452, <<https://doi.org/10.1016/j.eti.2019.100452>>.
14. El-Fattah, DA, Eweda, WE, Zayed, MS & Hassanein, MK 2013, 'Effect of carrier materials, sterilization method, and storage temperature on survival and biological activities of *Azotobacter chroococcum* inoculant', *Annals of Agricultural Sciences*, vol. 58, no. 2, pp. 111–118, <<https://doi.org/10.1016/j.aas.2013.07.001>>.

15. Estiaty, LM, Suwardi, Maruya, I & Fatimah, D 2006, 'Pengaruh zeolit dan pupuk kandang terhadap residu unsur hara dalam tanah', *Jurnal Zeolit Indonesia*, vol. 5, no. 1, pp. 37–44.
16. Gong, L, Wang, H, Qi, J, Han, L, Hu, M & Jurat-fuentes, JL 2015, 'Homologs to cry toxin receptor genes in a de novo transcriptome and their altered expression in resistant *Spodoptera litura* larvae', *Journal of Invertebrate Pathology*, vol. 129, pp. 1–6, <<https://doi.org/10.1016/j.jip.2015.05.008>>.
17. Hendriwal, Latifah & Hayu, R 2013, 'Perkembangan *Spodoptera litura* F. (Lepidoptera: Noctuidae) pada kedelai', *Jurnal Floratek*, vol. 8, pp. 88–100.
18. Hong-yuan, W, Shen, L, Li-mei, Z, Ji-zong, Z, Tian-zhi, R, Bing-quan, F & Hong-bin, L 2014, 'Preparation and utilization of phosphate biofertilizers using agricultural waste', *Journal of Integrative Agriculture Advance*, 3119(14).
19. Ishtiaq, M, Saleem, MA & Razaq, M 2012, 'Monitoring of resistance in *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) from four districts of the Southern Punjab, Pakistan to four conventional and six new chemistry insecticides. *Crop Protection*, vol. 33, pp. 13–20, <<https://doi.org/10.1016/j.cropro.2011.11.014>>.
20. Kousar, B, Bano, A & Khan, N 2020, 'PGPR Modulation of secondary metabolites in tomato infested with *Spodoptera litura*', *Agronomy*, vol. 10, no. 778, pp. 1–21.
21. Kumar, M, Chinamen, M, Monorama, O & Prasad, B 2010, 'Relative efficacy of different insecticides againsts chilli pod borer, *Spodoptera Litura* Fabr. (Lepidoptera-Noctuidae) in Manipur', *Journal of Experimental Sciences*, vol. 1, no. 10, pp. 23–24.
22. Lai, T, Li, J & Su, J. 2011, 'Monitoring of beet armyworm *Spodoptera exigua* (Lepidoptera : Noctuidae) resistance to chlorantraniliprole in China', *Pesticide Biochemistry and Physiology*, vol. 101, no. 3, pp. 198–205, <<https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2011.09.006>>.
23. Larasati, TRL, Mulyana, N & Sudrajat, D 2010, 'Kompos dan vermikompos sebagai bahan pembawa potensial untuk produksi inokulan mikroba', *Prosiding Simposium Dan Pameran Teknologi Aplikasi Isotop Dan Radiasi*, pp. 225–234.
24. Li, X, Schuler, MA & Berenbaum, MR 2007, 'Molecular mechanisms of metabolic resistance to synthetic and natural xenobiotics', *Annual Review of Entomology*, vol. 52, pp. 231–255, <<https://doi.org/10.1146/annurev.ento.51.110104.151104>>.
25. Marwoto & Suharsono 2008, 'Strategi dan komponen teknologi pengendalian ulat grayak (*Spodoptera litura* Fabricus) pada tanaman kedelai', *Jurnal Litbang Pertanian*, vol. 27, no. 4, pp. 131–136.
26. Mnif, I & Ghribi, D 2015, 'Potential of bacterial derived biopesticides in pest management', *Crop Protection*, vol. 77, pp. 52–64, <<https://doi.org/10.1016/j.cropro.2015.07.017>>.
27. Mukhtar, S, Shahid, I, Mehnaz, S & Malik, KA 2017, 'Assessment of two carrier materials for phosphate solubilizing biofertilizers and their effect on growth of wheat (*Triticum aestivum* L.)', *Microbiological Research*, vol. 205, no. 7, pp. 107–117, <<https://doi.org/10.1016/j.micres.2017.08.011>>.
28. Priest, FG & Goodfellow, M 2000, *Applied microbial systematics*, springer science business media, <<https://doi.org/10.1007/978-94-011-4020-1>>.
29. Punithavalli, M, Sharma, AN & Rajkumar, MB 2014, 'Seasonality of the common cutworm *Spodoptera litura* in a soybean ecosystem', *Phytoparasitica*, vol. 42, pp. 213–222, <<https://doi.org/10.1007/s12600-013-0354-5>>.
30. Siddiqui, N, Rauf, A, Latif, A & Mahmood, Z 2017, 'Spectrophotometric determination of the total phenolic content, spectral and fluorescence study of the herbal Unani drug Gul-e-Zoofa (*Nepeta bracteata* Benth)', *Journal of Taibah University Medical Sciences*, vol. 12, no. 4, pp. 360–363, <<https://doi.org/10.1016/j.jtumed.2016.11.006>>.
31. Sintim, H, Tashiro, T & Motoyama, N 2009, 'Response of the cutworm *Spodoptera litura* to sesame leaves or crude extracts in diet', *Journal of Insect Science*, vol. 143, pp. 115–123.
32. Song, GC, Choi, HK, Kim, YS, Choi, JS & Ryu, C 2017, 'Seed defense biopriming with bacterial cyclodipeptides triggers immunity in cucumber and pepper', *Scientific Reports*, pp. 1–15, <<https://doi.org/10.1038/s41598-017-14155-9>>.
33. Suwardi 2009, 'Tehnik aplikasi zeolit di bidang pertanian sebagai bahan pembenah tanah', *Jurnal Zeolit Indonesia*, vol. 8, no. 1, pp. 33–38.
34. Takahashi, M, Kryukov, K & Saitou, N 2009. 'Estimation of bacterial species phylogeny through oligonucleotide frequency distances', *Genomics*, vol. 93, no. 6, pp. 525–533, <<https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2009.01.009>>.
35. Tuan, S, Lee, C & Chi, H 2013, 'Population and damage projection of *Spodoptera litura* (F.) on peanuts (*Arachis hypogaea* L.) under different conditions using the age-stage, two-sex life table', *Pest Management Science*, vol. 70, pp. 805–813, <<https://doi.org/10.1002/ps.3618>>.
36. Tuan, S, Yeh, C, Atlihan, R, Chi, H & Tang, L 2015, 'Horticultural entomology demography and consumption of *Spodoptera litura* (Lepidoptera : Noctuidae) reared on cabbage and taro', *Journal of Economic Entomolog*, 1985, pp. 1–8, <<https://doi.org/10.1093/jee/tov325>>.
37. Wang, XG, Gao, XW, Liang, P, Shi, XY & Song, DL 2016, 'Physiological ecology induction of cytochrome P450 Activity by the interaction of chlorantraniliprole and sinigrin in the *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae)', *Environmental Entomology*, pp. 1–8, <<https://doi.org/10.1093/ee/nvw007>>.
38. Wang, X, Huang, Q, Hao, Q, Ran, S, Wu, Y, Cui, P & Yang, J 2018, 'Insecticide resistance and enhanced cytochrome P450 monooxygenase activity in fi eld populations of *Spodoptera litura* from Sichuan, China', *Crop Protection*, vol. 106, hlm. 110–116, <<https://doi.org/10.1016/j.cropro.2017.12.020>>.
39. Wartono, Nirmalasari, C & Suryadi, Y 2016, 'Seleksi jamur patogen serangga *Beauveria* spp. serta uji patogenitasnya pada serangga inang-walang (*Leptocoris acuta*)', *Berita Biologi*, vol. 15, no. 2, pp. 175–184.
40. Xiong, J2006, *Essenntial Bioinformatics*, Cambridge University Press.
41. Xue, M, Pang, Y, Wang, H, Li, Q, Liu, T, Xue, M, Pang, Y, Wang, H, Li, Q & Liu, T 2010. 'Effects of four host plants on biology and food utilization of the cutworm, *Spodoptera litura*', *Journal of Insect Science*, vol. 10, no. 22, pp. 1–14.
42. Yeh, W, Lin, I, Tuan, J, Chen, M & Kao, S 1997, 'Sweet potato (*Ipomoea batatas*) trypsin inhibitors expressed in transgenic tobacco plants confer resistance against *Spodoptera litura*', *Plant Cell Reports*, vol. 16, pp. 696–699.