

PEMANFAATAN LIMBAH AGROINDUSTRI DALAM PERBANYAKAN *BACILLUS THURINGIENSIS* DAN TOKSISITASNYA TERHADAP LARVA *Oryctes rhinoceros*

UTILIZATION OF AGROINDUSTRIAL WASTE IN THE PROPAGATION OF *BACILLUS THURINGIENSIS* AND ITS TOXICITY TO *Oryctes rhinoceros* LARVAE

Messa Syahputri^{1,2}, Yulia Pujiastuti^{2*}, dan Suparman SHK²

¹Program Studi Ilmu Tanaman, Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya, Palembang, Indonesia

²Program Studi Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Sriwijaya, Palembang, Indonesia

*Corresponding Author. E-mail address: ypujiastuti@unsri.ac.id

PERKEMBANGAN ARTIKEL:

Diterima: 5 April 2024

Direvisi: 24 Mei 2024

Disetujui: 7 Oktober 2024

KEYWORDS:

Agroindustrial solid waste, *Bacillus thuringiensis*, bioinsecticide, entomopathogen, *Oryctes rhinoceros*.

KATA KUNCI:

Bacillus thuringiensis, bioinsektisida, entomopatogen, limbah padat agroindustri, *Oryctes rhinoceros*

ABSTRACT

The aim of this research was to study the effect of agroindustry waste in the propagation of *B. thuringiensis* and its toxicity to *O. rhinoceros* larvae. The research was conducted using a completely randomized design (CRD) consisting of 5 treatments with 4 replications including: P1: (rice bran + oil palm meal (2:1), P2: (rice bran + tofu dregs) (2:1), P3 (rice bran + peanut meal) (2:1), P4 (rice bran + corn stover) (2:1), P5 (water control) in a laboratory (temperature range 23.34°C-26.01°C and relative humidity range 51.25% - 78.14%). The test insects were 3rd instar *O. rhinoceros* larvae of 6 individuals per replicate. The highest mortality rate (91.67%) was recorded in treatment P1 (rice bran + palm kernel meal), while the lowest mortality rate (66.67%) was in treatment P3 (rice bran + corn husk). The bacterial infection also reduced feeding activity and caused larval body length and weight decrease during the observation. Symptoms of *B. thuringiensis* infection in larvae were also indicated in body color changes from white to brownish to blackish. After exposure to the *B. thuringiensis*, larvae also became less active and behave erratically with slower movements. During this process larvae become progressively softer and more flaccid before the eventual death. Overall results indicate that bioinsecticide made from *B. thuringiensis* with mixed media of agricultural solid waste was effective in killing *O. rhinoceros* larvae.

ABSTRAK

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mempelajari efek limbah agroindustri dalam perbanyakan *B. thuringiensis* dan toksisitasnya terhadap larva *O. rhinoceros*. Penelitian dilakukan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 5 perlakuan dengan 4 kali ulangan meliputi : P1: (bekatul + bungkil kelapa sawit (2:1), P2: (bekatul + ampas tahu) (2:1), P3 (bekatul + bungkil kacang tanah) (2:1), P4 (bekatul + ampok jagung) (2:1), P5 (kontrol air) pada ruangan laboratorium (kisaran suhu 23,34°C-26,01°C dan kisaran kelembaban udara relatif 51,25% - 78,14%). Serangga uji berupa larva *O. rhinoceros* instar ke-3 sebanyak 6 ekor setiap ulangan. Tingkat mortalitas tertinggi (91,67%) tercatat pada perlakuan P1 (bekatul + bungkil kelapa sawit), sedangkan tingkat mortalitas terendah (66,67%) terjadi pada perlakuan P3 (bekatul + ampok jagung). Infeksi *B. thuringiensis* menyebabkan nafsu makan larva menurun dan mengakibatkan panjang dan berat tubuh larva mengalami penurunan selama pengamatan. Infeksi *B. thuringiensis* pada larva menyebabkan terjadinya perubahan warna pada tubuh dari putih menjadi kecoklatan hingga kehitaman dan akhirnya larva mati dalam keadaan tubuh melunak dan membusuk disertai cairan yang keluar dari tubuh larva. Secara keseluruhan hasil percobaan menunjukkan bahwa bioinsektisida berbahan aktif *B. thuringiensis* dengan media campuran limbah padat pertanian efektif untuk membunuh larva *O. rhinoceros*.

1. PENDAHULUAN

Kumbang badak (*Oryctes rhinoceros*) merupakan salah satu spesies hama penting yang menyerang perkebunan kelapa sawit (Ripin & Latip, 2021). Stadia yang menyerang ialah pada fase larva dan imago (Pujiastuti et al., 2021). Serangga tersebut akan menyerang pada tanaman yang belum menghasilkan dan tanaman dewasa (Pujiastuti et al., 2020). Pada fase pra dewasa *O. rhinoceros* akan hidup di dalam tanah, sedangkan pada saat sudah menginjak fase dewasa hidup di tanaman atau permukaan tanah dan akan menyerang tanaman (Fauzana et al., 2019). Terjadinya kerusakan tanaman ditandai dengan adanya lekukan yang berbentuk V pada pelepah sawit dan kerusakan yang paling parah ketika imago memakan jaringan lunak daun (Dornberg, 2015). Hal ini menyebabkan terjadinya penurunan produksi kelapa sawit yaitu sebanyak 25% kematian pada tanaman muda (Santi & Manto, 2022).

Salah satu entomopatogen yang dinilai efektif untuk pengendalian *O. rhinoceros* adalah bakteri dinilai *B. thuringiensis* karena aplikasi agensia hayati ini ekonomis dan ramah lingkungan (Manjunatha et al., 2023). Bakteri *Bacillus thuringiensis* merupakan entomopatogen gram positif yang dapat diisolasi dari tanah dan dimanfaatkan untuk mengendalikan hama yang menyerang (Pujiastuti et al., 2020). Bakteri ini juga merupakan spesies bakteri pembuat kristal protein alami (Tetreau et al., 2021) yang dapat bersifat racun terhadap beberapa spesies Serangga, tungau, dan nematoda (Pinos et al., 2021). Beberapa penelitian telah dilakukan dengan menggunakan bahan aktif *B. thuringiensis* sebagai bioinsektisida dengan memanfaatkan limbah cair maupun padat untuk memenuhi nutrisi bakteri (Pujiastuti, Suparman, et al., 2023). Limbah *biodegradable* yang berasal dari sektor pertanian maupun industri dapat dijadikan sebagai bioinsektisida padat dengan memanfaatkan limbah sebagai medium pertumbuhan *B. thuringiensis* (Ballardo et al., 2017). Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari efek limbah agroindustri dalam perbanyakan *B. thuringiensis* dan menentukan daya toksisitas pada bioinsektisida *B. thuringiensis* formulasi padat terhadap larva *O. rhinoceros*.

2. BAHAN DAN METODE

Pencarian serangga uji *O. rhinoceros* dilakukan di berbagai lokasi di wilayah Provinsi Sumatera Selatan, sedangkan aplikasi bio-insektisida dilaksanakan di Laboratorium Entomologi, Fakultas Pertanian, Universitas Sriwijaya. Penelitian dirancang dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari lima perlakuan dengan empat kali ulangan pada ruang laboratorium dengan kisaran suhu 23,34°C-26,01°C dan kelembaban udara relatif 51,25%-78,14%. Perlakuan yang diuji adalah jenis media perbanyakan bakteri *B. thuringiensis* dengan komposisi sebagai berikut : P1(bekatul + bungkil kelapa sawit (2:1), P2 (bekatul + ampas tahu) (2:1), P3 (bekatul + bungkil kacang tanah) (2:1), P4 (bekatul + ampok jagung) (2:1), dan P5 (control media menggunakan air).

2.1 Persiapan Serangga Uji

Larva *O. rhinoceros* dikumpulkan dari perkebunan kelapa sawit di berbagai tempat di Sumatera Selatan. Batang kelapa sawit yang sudah lapuk dibongkar dan larva *O. rhinoceros* diambil dan dimasukkan ke dalam kotak plastic berukuran 30 × 20 × 15 cm dan disimpan di Laboratorium Entomologi untuk dipelihara. Untuk menjamin keseragaman Serangga uji, larva diseleksi dan larva yang tidak sehat dipisahkan dengan larva yang sehat. Pakan yang digunakan untuk pemeliharaan adalah bunga jantan kelapa sawit. Ketika mencapai instar 3, larva diberi pakan batang kelapa yang lapuk sampai saat siap untuk digunakan untuk dalam aplikasi perlakuan.

2.2 Penyediaan Isolat

Isolat yang digunakan ialah koloni *B. thuringiensis* dengan kode isolat OJ (Koleksi Laboratorium Entomologi). Terlebih dahulu isolat OJ disegarkan dengan media agar NGKG (*NaCl Glycine Kim and Goepfert*). Media ini dibuat dengan menambahkan 7 g NGKG, 250 ml aquades, dan setengah kuning telur ayam kampung. Selanjutnya larutan secara aseptik dituangkan sebanyak 10 ml media ke petri dish. Setelah dingin, isolat OJ digoreskan pada permukaan media agar dan dipilih satu koloni yang terbaik untuk pembuatan seed culture.

2.3 Persiapan Media Limbah Padat

Penelitian ini menggunakan media berbahan limbah padat agroindustri yang terdiri dari bekatul, bungkil kelapa sawit, bungkil kacang tanah, ampas tahu, dan ampok/ grontol jagung. Bahan-bahan limbah tersebut dikeringkan, dihaluskan dan disaring menggunakan penyaring berukuran 20 mesh, kemudian disterilisasi di dalam autoclave selama 20 menit pada suhu 121 °C dan tekanan 1 atm.

2.4 Pembuatan Bio-insektisida Berbasis *Bacillus thuringiensis*

Untuk membuat seed culture sebagai media perbanyakan *B. thuringiensis* sebanyak 50 ml NB dituang ke dalam tabung erlenmeyer volume 250 ml. Selanjutnya, satu jarum ose isolat *B. thuringiensis* dicampurkan secara aseptik dalam media NB tersebut. Tabung erlenmeyer tersebut dikocok menggunakan shaker selama 12 jam dengan kecepatan 200 rpm. Setelah 12 jam, sebanyak 10 ml suspensi diambil dan dimasukkan ke dalam tabung erlenmeyer yang sudah berisi 50 ml NB. Kemudian media dikocok kembali selama 12 jam dengan kecepatan yang sama. Seed culture siap untuk digunakan dalam proses perbanyakan *B. thuringiensis* pada media limbah padat.

Percobaan dilakukan dengan empat perlakuan yaitu media perbanyakan dengan beberapa komposisi bahan: P1(bekatul + bungkil kelapa sawit (2:1), P2 (bekatul + ampas tahu) (2:1), P3 (bekatul + bungkil kacang tanah) (2:1), P4 (bekatul + ampok jagung) (2:1). Untuk masing-masing satuan percobaan digunakan 100 g media yang sudah disterilkan dengan autoclave (t=121 °C, 1 atm, 20 menit). Campuran media selanjutnya dimasukkan ke dalam wadah plastik berukuran 20 cm x 15 cm x 10 cm dengan ketebalan media tiga sentimeter. Setelah dingin, pada media ditambahkan seed culture secara aseptik sebanyak 10% dari media. Media selanjutnya diinkubasi selama 72 jam pada suhu 30°C (Capalbo et al., 2001).

2.5 Perhitungan Kerapatan Koloni Bakteri

Setelah berlangsungnya proses fermentasi selama 24 jam, dilakukan penghitungan kerapatan koloni bakteri. Perhitungan koloni bakteri dilakukan pada saat biakan bakteri berumur 24, 48 dan 72 jam dengan menggunakan metode penghitungan Total Plate Count (TPC). Rumus yang digunakan untuk metode ini ialah sebagai berikut (APHA, 1920):

$$\text{Koloni/g} = \Sigma \text{koloni per cawan} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}} \times 100\% \quad (1)$$

2.6 Bioassay Bio-insektisida terhadap Serangga Uji *Oryctes rhinoceros*

Campuran tanah yang telah dikeringkan sebanyak 300 g digunakan untuk bioassay dengan 10 g bunga jantan kering dalam wadah plastik berukuran 17,5 × 12 × 5,5 cm. Selanjutnya ditambahkan 10 g bio-insektisida *B. thuringiensis*, yang sebelumnya telah dilarutkan dengan 40 ml aquades. Ke dalam wadah plastik tersebut, dimasukkan enam ekor larva *O. rhinoceros* instar 3. Selama aplikasi,

pergantian pakan dilakukan secara rutin setiap enam hari sekali selama lebih dari satu bulan. Pengamatan Serangga uji dilakukan setiap hari selama ± 1 bulan dengan rentang waktu 1×24 jam setelah aplikasi.

2.7 Peubah yang Diamati

Peubah yang diamati dalam penelitian ini adalah kerapatan koloni setiap perlakuan, mortalitas larva, panjang dan berat tubuh larva, dan gejala infeksi dan kematian pada larva.

2.7.1 Kerapatan Koloni (*Colony Forming Unit/CFU*)

Peubah ini mengukur jumlah koloni bakteri *B. thuringiensis* yang tumbuh pada media pertumbuhan. Semakin banyak jumlah koloni yang terbentuk, maka mengindikasikan kepadatan populasi bakteri yang lebih tinggi dan dihitung dalam satuan CFU/g.

2.7.2 Mortalitas Larva *Oryctes rhinoceros*

Jumlah kematian dicatat setiap hari setelah aplikasi bio-insektisida dengan menggunakan rumus perhitungan yang sesuai dan data disajikan dalam bentuk persentase. Batas waktu yang diperlukan untuk menumbuhkan *B. thuringiensis* pada 50% dan 95% serangga uji masing-masing dihitung dengan LT_{50} dan LT_{95} . Adapun mortalitas dihitung sebagai berikut :

$$P = \frac{a}{b} \times 100\% \quad (2)$$

Keterangan: P = persentase mortalitas larva, a = jumlah larva mati, b = Total larva diamati.

2.7.3 Panjang dan Berat Tubuh Larva *Oryctes rhinoceros*

Tubuh larva *O. rhinoceros* diukur dengan meteran jahit dari pangkal caput hingga ujung abdomen dalam posisi melingkar. Pengukuran ini dilakukan secara teratur setiap enam hari sekali dan diganti pakan serta tanah yang baru. Berat tubuh larva diukur dengan timbangan analitik setiap enam hari sekali secara rutin untuk mengetahui seberapa besar penyusutan larva per ekor pada setiap perlakuan. Keseluruhan berat rata-rata untuk mengetahui pengurangan berat larva yang hilang.

2.7.4 Gejala Infeksi dan Kematian pada *Oryctes rhinoceros*

Gejala infeksi diamati setiap enam hari untuk mencatat perilaku larva *O. rhinoceros*, misalnya jika terdapat kelambatan dalam Gerakan larva, kurangnya nafsu makan, perubahan pada kutikula yang menjadi lunak dan berwarna kehitaman atau adanya kematian larva disertai dengan lender berbau busuk.

2.8 Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan Analysis of Variance (ANOVA) dengan uji jarak berganda Duncan (DMRT) pada tingkat signifikansi 5%. Nilai LT_{50} dihitung dengan menggunakan analisis probit (Microsoft Excel dan SPSS V25; IBM SPSS Statistics, Chicago, IL, USA).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Perhitungan Jumlah Koloni *Bacillus thuringiensis*

Terdapat perbedaan nyata dalam kerapatan koloni untuk masing-masing perlakuan ketika kerapatan koloni diamati 72 jam setelah inkubasi. Perlakuan bekatul + bungkil kelapa sawit memiliki

kerapatan koloni bakteri tertinggi sementara perlakuan bekatul + ampok jagung memiliki kerapatan terendah (Tabel 1). Tingginya koloni bakteri pada media campuran bekatul + bungkil kelapa sawit diduga berkaitan dengan kandungan serat dan mineral pada media campuran ini. Menurut Purnawati *et al.* (2015) campuran bekatul dan bungkil sawit dapat membantu meningkatkan jumlah spora dan sel vegetatif dengan menyediakan lebih banyak serat dan mineral. Hal ini didukung oleh Hartati *et al.* (2015) yang menyatakan bahwa kandungan protein bekatul sekitar 12–17%. Bekatul juga dilaporkan mengandung karbon (C) 19,76% dan unsur nitrogen (N) 2,64% (Sanggrami, 2014) dan kandungan proteinnya mencapai 14,19–21,66% (Nikhilani, 2022). Selama fermentasi berlangsung, kandungan C-organik yang tinggi ini diperlukan oleh bakteri untuk memenuhi kebutuhan nutrisi *B. thuringiensis*. Menurut Akhmad *et al.* (2017) *B. thuringiensis* melakukan proliferasi sel dalam kondisi lingkungan dan ketersediaan nutrisi yang mendukung. Serat adalah komponen yang sangat penting dalam komposisi media fermentasi padat. Selama proses fermentasi, bakteri yang terisolasi dapat memperoleh oksigen dan air melalui pori yang dibuat oleh serat yang terkandung dalam bahan.

Limbah padat agroindustri dapat diperoleh dengan mudah dan masih mengandung nutrisi yang baik untuk pertumbuhan bakteri. Pada studi Sanggrami (2014) kandungan karbon dan nitrogen dalam limbah padat turut berkontribusi pada perkembangan mikroorganisme. Studi yang dilakukan oleh Zhuang *et al.* (2011) dilaporkan media kultivasi padat *B. thuringiensis*, dengan hasil sel hidup tertinggi ($5,98 \times 10^{10}$ cfu/g), campuran substrat *sludge* (limbah pabrik) dan dedak gandum yang difermentasi selama 72 jam. Nilai jumlah sel hidup tertinggi adalah $6,18 \times 10^{10}$ cfu/g, lebih tinggi daripada media komersial. Substrat bekatul dengan kadar karbohidrat yang tinggi dapat berfungsi sebagai karbon bagi *B. thuringiensis*, sedangkan substrat bungkil kelapa sawit dapat berfungsi sebagai sumber nitrogen untuk pertumbuhan spora dan produksi δ -endotoksin. Kandungan C-organik yang tinggi dalam media fermentasi ini penting untuk memenuhi kebutuhan nutrisi *B. thuringiensis* selama berlangsungnya proses fermentasi, di mana karbon dan nitrogen merupakan komponen esensial bagi metabolisme mikroorganisme tersebut. Pemilihan substrat yang sesuai dengan komposisi nutrisi yang dibutuhkan menjadi kunci dalam mengoptimalkan kondisi fermentasi untuk menghasilkan jumlah spora dan kristal protein insektisida yang maksimal (Biosci *et al.*, 2019). Hal ini menjelaskan mengapa pada penelitian ini perlakuan P1 (bekatul + bungkil kelapa sawit) menghasilkan jumlah koloni bakteri *B. thuringiensis* tertinggi dibandingkan perlakuan lainnya.

3.2 Penyusutan Panjang & Berat Larva *Oryctes rhinoceros*

Dari hasil uji sidik ragam (ANOVA) tidak terdapat perbedaan yang nyata pada data Panjang tubuh larva. Walaupun demikian, terdapat kecenderungan bahwa panjang tubuh larva pada kontrol paling tinggi. Pada P1 (perlakuan bekatul + bungkil kelapa sawit) diperoleh hasil panjang tubuh yang paling rendah dibandingkan dengan perlakuan lainnya (Tabel 2.). Hasil analisis sidik ragam data berat larva juga menunjukkan adanya perbedaan yang nyata pada minggu ke-5 dan ke-6 (Tabel 3).

Tabel 1. Hasil Perhitungan Kerapatan Koloni Bakteri *Bacillus thuringiensis* (cfu/g) pada Media Limbah Padat.

Perlakuan	Koloni Bakteri <i>B. thuringiensis</i> ($\times 10^6$ (cfu/g))		
	24 jam	48 jam	72 jam
P1 (bekatul + bungkil kelapa sawit)	2,57 $\pm$ 0,27d	3,14 $\pm$ 0,43c	3,80 $\pm$ 0,31c
P2 (bekatul + ampas tahu)	1,76 $\pm$ 0,04c	2,43 $\pm$ 0,37b	2,69 $\pm$ 0,24b
P3 (bekatul + bungkil kacang tanah)	1,37 $\pm$ 0,04b	1,85 $\pm$ 0,05b	2,32 $\pm$ 0,15b
P4 (bekatul + ampok jagung)	1,08 $\pm$ 0,09a	1,73 $\pm$ 0,12a	1,80 $\pm$ 0,16a
Fhitung	29,18*	4,25*	13,93*
Ftabel	3,49	3,49	3,49
BNJ 5%	0,063	0,116	0,078

Keterangan : * : berbeda nyata

Tabel 2. Panjang Tubuh Larva *Oryctes rhinoceros* Akibat Perlakuan Bioinsektisida Berbahan Aktif *B. thuringiensis* Formulasi Padat.

Perlakuan	Pengamatan panjang tubuh (cm) minggu ke-....						
	0	1	2	3	4	5	6
P1 (bekatul + bungkil kelapa sawit)	11,58 ± 1,07	9,79 ± 0,21	9,44 ± 0,10	9,53 ± 0,22	9,09 ± 0,22	7,83 ± 3,61	3,46 ± 2,24
P2 (bekatul + ampas tahu)	11,13 ± 1,14	9,63 ± 0,11	10,15 ± 0,76	9,60 ± 0,36	9,89 ± 1,15	2,82 ± 1,70	1,71 ± 1,71
P3 (bekatul + bungkil kacang tanah)	11,43 ± 1,14	10,02 ± 0,24	10,58 ± 0,65	9,34 ± 0,23	10,56 ± 1,22	5,28 ± 3,11	2,11 ± 2,11
P4 (bekatul + ampok jagung)	11,32 ± 1,22	9,08 ± 0,57	9,08 ± 0,46	8,79 ± 0,70	7,38 ± 2,46	7,26 ± 2,49	6,03 ± 2,11
Kontrol (air)	10,83 ± 0,63	9,55 ± 0,17	9,63 ± 0,17	9,58 ± 0,24	9,61 ± 0,26	9,61 ± 0,26	9,61 ± 0,26
F Hitung	0,08 tn	1,29 tn	1,42 tn	0,73 tn	0,88 tn	1,05 tn	2,73 tn
F Tabel	3,06	3,06	3,06	3,06	3,06	3,06	3,06

Tabel 3. Berat Tubuh Larva *Oryctes rhinoceros* Akibat Perlakuan Bioinsektisida Berbahan Aktif *B. thuringiensis* Formulasi Padat.

Perlakuan	Pengamatan berat tubuh (g) minggu ke-....						
	0	1	2	3	4	5	6
P1 (bekatul + bungkil kelapa sawit)	14,81 ± 1,56	12,41 ± 0,47	11,50 ± 0,24	6,76 ± 1,47	5,74 ± 1,48	2,44 ± 1,11a	1,14 ± 0,95ab
P2 (bekatul + ampas tahu)	13,93 ± 1,13	11,59 ± 0,67	9,07 ± 0,77	7,06 ± 0,87	6,07 ± 0,70	2,25 ± 0,93b	0,71 ± 0,82a
P3 (bekatul + bungkil kacang tanah)	14,87 ± 1,86	12,01 ± 0,30	10,23 ± 0,89	6,82 ± 0,69	6,45 ± 1,04	3,59 ± 0,98b	1,17 ± 1,20ab
P4 (bekatul + ampok jagung)	14,38 ± 1,71	11,26 ± 1,07	9,46 ± 1,60	7,18 ± 2,10	6,94 ± 1,92	4,50 ± 1,81c	3,00 ± 2,04b
Kontrol (air)	13,43 ± 0,79	12,15 ± 0,46	10,33 ± 1,71	10,20 ± 1,71	10,20 ± 1,71	10,20 ± 1,71d	10,20 ± 7,96c
F Hitung	0,17 tn	0,49 tn	0,63 tn	0,99 tn	1,56 tn	3,74*	9,33*
F Tabel	3,06	3,06	3,06	3,06	3,06	3,06	3,06

Data penelitian menunjukkan bahwa panjang dan berat larva *O. rhinoceros* menurun setiap minggu setelah diberi bio-insektisida. Larva yang belum mati dan bergejala mengalami penurunan panjang dan berat tubuh karena terinfeksi *B. thuringiensis*. Menurut Pujiastuti *et al.* (2020), penggunaan bio-insektisida pada serangga target merusak sistem pencernaan yang pada gilirannya mengurangi nafsu makan. Menurunnya nafsu makan larva *B. thuringiensis* selanjutnya menyebabkan terjadinya penurunan berat larva (Adam *et al.*, 2014 Tampubolon *et al.*, 2013). Infeksi *B. thuringiensis* pada larva *O. rhinoceros* dapat menyebabkan penurunan nafsu makan, penurunan kemampuan motorik, dan perubahan warna tubuh larva dari putih menjadi kecoklatan hingga kehitaman. Dengan demikian, larva akan mati dengan tubuh berubah menjadi lunak dan cairan akan keluar melalui bagian tubuh larva, dengan bau menyengat (Pujiastuti *et al.*, 2022). Bakteri *B. thuringiensis* memiliki kristal protein dan berfungsi sebagai racun perut dalam saluran pencernaan serangga. Enzim yang berada pada midgut akan menghidrolisis protein dan menghasilkan fraksi yang toksik, merusak dinding tubuh bagian dalam serangga dan menyebabkan masalah pencernaan dan kematian (Sihombing *et al.*, 2014).

3.3 Mortalitas Larva *Oryctes rhinoceros*

Mortalitas larva *O. rhinoceros* yang berbeda nyata hanya terjadi pada minggu ke-6. Pada pengamatan ini perlakuan (P1) bekatul + bungkil kelapa sawit menghasilkan mortalitas larva tertinggi dibandingkan dengan perlakuan yang lainnya (Tabel 4). Tingkat kematian tertinggi pada perlakuan P1 (bekatul + bungkil kelapa sawit) tercatat mencapai 91,67% dan persentase kematian

terendah tercatat pada perlakuan P3 (bekatul + ampok jagung) dengan 66,67%. Temuan ini memperkuat hasil penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa kombinasi bekatul dan bungkil kelapa sawit merupakan sumber nutrisi yang optimal bagi pertumbuhan dan produksi kristal protein oleh isolat bakteri *B. thuringiensis* (Pujiastuti et al., 2023).

Produksi bio-insektisida menggunakan campuran substrat karbon dan nitrogen tertentu menghasilkan variasi dalam jumlah sel dan koloni. Jumlah koloni yang dihasilkan lebih rendah menghasilkan kristal protein yang lebih sedikit, yang berdampak pada tingkat toksisitasnya (Sari et al., 2019). Dosis atau konsentrasi bio-insektisida juga memengaruhi tingkat mortalitas. Dengan kata lain, mortalitas larva *O. rhinoceros* berkorelasi positif dengan konsentrasi yang digunakan. Hal ini sesuai dengan laporan Safirah et al., (2016) dan Tarigan et al., (2022) yang menyatakan peningkatan konsentrasi berkorelasi positif dengan efek racun atau toksik yang lebih besar, yang mengarah pada peningkatan kematian. Akan tetapi, penggunaan bio-insektisida memiliki kelemahan tersendiri yaitu membutuhkan waktu yang lebih lama untuk mengendalikan hama.

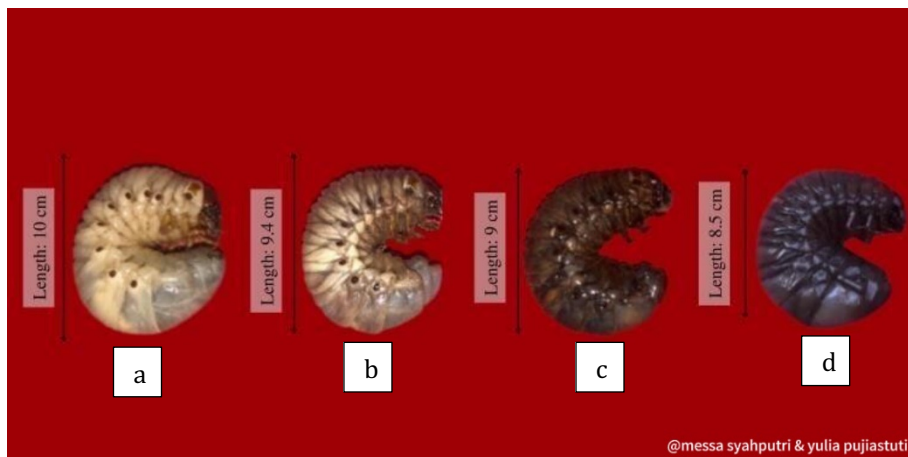
Nilai LT_{50} terendah terjadi pada perlakuan bekatul + bungkil kelapa sawit (2:1) yaitu sebesar masing-masing 24,75 hari dan LT_{90} terendah juga pada P1 yaitu sebesar 59,71 hari. Sebaliknya, perlakuan P4 menghasilkan nilai LT_{50} dan LT_{90} tertinggi, yaitu 29,39 dan 64,92 hari (Tabel 5). Perbedaan waktu letal ini diduga dipengaruhi oleh Tingkat toksisitas *B. thuringiensis* yang digunakan. Semakin banyak kristal protein yang terkandung dalam aplikasi, maka semakin tinggi toksisitasnya, sehingga dapat mempercepat kematian Serangga uji. Sebaliknya, semakin sedikit kristal protein maka semakin rendah toksisitasnya dan membutuhkan waktu yang lebih lama untuk mematikan Serangga uji. Hal ini sejalan dengan analisis dari penelitian sejenis yang menyatakan bahwa peluang mortalitas larva berbanding lurus dengan jumlah kristal protein *B. thuringiensis* yang terdapat pada saat aplikasi (Sari et al., 2019).

Tabel 4. Tingkat Mortalitas Larva *Oryctes rhinoceros* Akibat Perlakuan Bioinsektisida Berbahan Aktif *B. thuringiensis* Formulasi Padat.

Perlakuan	Mortalitas (%) minggu ke-....					
	1	2	3	4	5	6
P1 (bekatul + bungkil kelapa sawit)	16,67 ± 6,80	16,67 ± 6,80	37,50 ± 12,50	58,33 ± 10,76	58,33 ± 10,76	75,00 ± 10,76c
P2 (bekatul + ampas tahu)	12,50 ± 7,98	20,83 ± 7,98	37,50 ± 7,98	45,83 ± 10,49	45,83 ± 10,49	70,83 ± 14,23c
P3 (bekatul + bungkil kacang tanah)	12,50 ± 7,98	25 ± 4,81	45,83 ± 4,17	45,83 ± 4,17	50,00 ± 6,80	70,83 ± 7,98c
P4 (bekatul + ampok jagung)	12,50 ± 7,98	20,83 ± 7,98	29,17 ± 12,50	45,83 ± 10,49	50,00 ± 11,79	58,33 ± 7,35b
Kontrol (air)	8,33 ± 4,81	20,83 ± 10,49	20,83 ± 10,49	20,83 ± 10,49	20,83 ± 10,49	20,83 ± 10,49a
F Hitung	0,15 tn	0,19 tn	1,06 tn	2,37 tn	2,36 tn	3,92*
F Tabel	3,06	3,06	3,06	3,06	3,06	3,06

Tabel 5. Nilai LT_{50} & LT_{90} terhadap Kematian Larva *Oryctes rhinoceros* Akibat Aplikasi Bio-Insektisida *Bacillus thuringiensis* pada berbagai media padat

Perlakuan	LT_{50} (hari)	Selang kepercayaan		LT_{90} (hari)	Selang kepercayaan	
		Batas bawah	Batas atas		Batas bawah	Batas atas
P1 (bekatul + bungkil kelapa sawit)	24,75	23,00	26,53	59,71	56,72	63,06
P2 (bekatul + ampas tahu)	26,95	25,19	28,76	61,92	58,84	65,38
P3 (bekatul + bungkil kacang tanah)	26,21	24,45	28,01	61,17	58,13	64,59
P4 (bekatul + ampok jagung)	29,96	28,16	31,83	64,92	61,72	68,53
Kontrol (air)	43,39	41,11	45,84	78,35	74,40	82,82



Gambar 1. Gejala serangan larva *Oryctes rhinoceros*, (a) larva *O. rhinoceros* sehat; (b) larva terinfeksi *B. thuringiensis* pada minggu ke-1; (c) larva terinfeksi *B. thuringiensis* pada minggu ke-2; dan (d) minggu ke-3 setelah aplikasi.

3.4 Gejala Infeksi dan Kematian Larva *Oryctes rhinoceros*

Dari hasil observasi yang dilakukan pada minggu pertama ditemukan larva yang mati dengan ciri-ciri warna tubuh berubah menjadi gelap, berbau tidak sedap (busuk), dan tekstur tubuh menjadi lembek dan berair (Gambar 1). Larva yang terserang mengalami nafsu makan yang berkurang disertai dengan Gerakan yang semakin lambat. Hasil serupa ini juga ditunjukkan pada penelitian Tampubolon *et al.*, (2013) yang menyatakan bahwa Serangga yang terinfeksi *B. thuringiensis* mengalami penurunan nafsu makan, tidak aktif, dan dari tubuhnya keluar cairan yang akhirnya mengakibatkan Serangga menjadi lemah dan mati. Kematian larva juga diikuti dengan perubahan bentuk morfologi ditandai dengan perubahan warna tubuh dari putih menjadi coklat tua. Febrika *et al.*, (2014) menyatakan bahwa serangga yang terinfeksi oleh *B. thuringiensis* lama-kelamaan akan mengalami perubahan warna tubuh menjadi coklat hingga kehitaman dan tekstur tubuh menjadi lunak dan berbau busuk. Studi yang dilakukan Sihombing *et al.*, (2014) juga menyatakan bahwa *B. thuringiensis* mengandung kristal protein yang bersifat toksik (racun) perut pada saluran pencernaan serangga sehingga dapat merusak dinding bagian dalam tubuh dan menyebabkan serangga mati.

4. KESIMPULAN

Campuran bekatul dan bungkil kelapa sawit (2:1) menghasilkan kepadatan koloni bakteri yang paling tinggi dibandingkan dengan media lain yang diuji, dengan tingkat kematian larva tertinggi sebesar 91,67%, nilai LT_{50} dan LT_{90} berturut-turut 24,75 hari dan 59,71 hari. Serangga yang belum mati, menunjukkan penyusutan panjang dan penurunan berat tubuh larva.

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dibiayai oleh Anggaran DIPA Badan Layanan Umum Universitas Sriwijaya Tahun Anggaran 2024 Nomor SP DIPA 023.17.2.677515/2024, tanggal 24 November 2024. Sesuai dengan SK Rektor Nomor 0016/UN9/SK.LP2M.PT/2024 tanggal 24 Juni 2024”.

6. DAFTAR PUSTAKA

- Adam, T., R. Juliana, & R. Thalib. 2014. Bioesai bioinsektisida berbahan aktif *Bacillus thuringiensis* asal tanah lebak terhadap larva *Spodoptera litura*. *Prosiding Seminar Nasional Lahan Suboptimal, September*. 1–7.
- Akhmad, G., I. Ilhamiyah, & J. Achmad. 2017. *Bacillus thuringiensis* biologi, isolasi, perbanyakan dan cara aplikasinya. <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:91514357>.
- American Public Health Association (APHA). 1920. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. American Public Health Association.
- Azizah, A., & E. Soesetyaningsih. 2020. Akurasi perhitungan bakteri pada daging sapi menggunakan metode hitung cawan. *Berkala Sainstek*. 8(3):75.
- Ballardo, C., R. Barrena, A. Artola, & A. Sánchez. 2017. A novel strategy for producing compost with enhanced biopesticide properties through solid-state fermentation of biowaste and inoculation with *Bacillus thuringiensis*. *Waste Management*. 70:53–58.
- Biosci, I.J., A. Gazali, A. Jaelani, I. Ilhamiyah, & S. Erlina. 2019. *Bacillus thuringiensis* berliner cells population growth in some naturally media and the patogenicity against *Plutella xylostella* Caterpillars. *International Journal of Biosciences (IJB)*. 14(02): 209–215.
- Dornberg, M. 2015. Coconut rhinoceros beetle. In *Featured Creatures* (Issue Hinckley 1973).
- Fauzana, H., A. Sutikno, & D. Salbiah. 2019. Population fluctuations *Oryctes rhinoceros* L. beetle in plant oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) given mulching oil palm empty bunch. *CROPSAVER - Journal of Plant Protection*. 1(1):42.
- Febrika, R. Febrika, M.U.S. Oemry, & S.T.U Oemry. 2014. Penggunaan *Beauveria bassiana* dan *Bacillus thuringiensis* untuk mengendalikan *Plutella xylostella* L.(Lepidoptera; Plutellidae) di laboratorium. *Jurnal Agroekoteknologi Universitas Sumatera Utara*. 2(2):98057.
- Fontana C.D.M., F.H. Valicente, I.D.O. Moraes, & L.H. Pelizer. 2001. Solid-state fermentation of *Bacillus thuringiensis* tolworthi to control fall armyworm in maize. *Electronic Journal of Biotechnology*. 4(2):112–115.
- Hartati, S., Y. Marsono, & U. Santoso. 2015. Komposisi kimia serta aktivitas antioksidan ekstrak hidrofilik bekatul beberapa varietas padi. *Jurnal Agritech*. 35(1):35–42.
- Manjunatha, C., V. Velavan, R. Rangeshwaran, M. Mohan, A. Kandan, G. Sivakumar, A.N. Shylesha, M.K.P. Kumar, D. Pramesh, M. Sujithra, H.K. Ranganath, & S.N. Sushil. 2023. Assessment of bioformulations of indigenous strains of *Bacillus thuringiensis*, *Metarhizium robertsii* and *Metarhizium majus* for management of the rhinoceros beetle, *Oryctes rhinoceros* L., in field. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*. 33(1).
- Nikhlani, A. (2022). Bungkil Kelapa Sawit Sebagai Bahan Baku Alternatif Pakan Buatan Untuk Pertumbuhan Ikan Lele Sangkuriang (*Clarias gariepinus*). *JFMR-Journal of Fisheries and Marine Research*. 6(2).
- Pinos, D., A. Andrés-Garrido, J. Ferré, & P. Hernández-Martínez. 2021. Response mechanisms of invertebrates to *Bacillus thuringiensis* and its pesticidal proteins . *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 85(1).
- Pujiastuti, Y., A. Arsi, & S. Sandi. 2020. Characteristics of *Bacillus thuringiensis* isolates indigenous soil of south sumatra (Indonesia) and their pathogenicity against oil palm pests *Oryctes rhinoceros* (coleoptera: Scarabaeidae). *Biodiversitas*. 21(4):1287–1294.
- Pujiastuti, Y., I.M. Haraki, A. Umayah, B. Gunawan. 2023. Kajian *Bacillus thuringiensis* diperbanyak pada media padat hasil sampling agroindustri terhadap mortalitas larva *Oryctes rhinoceros* di rumah bayang. *Jurnal Agrotek Tropika*. 11(4):1–10.

- Pujiastuti, Y., S. Sandi, A. Arsi, & D.P. Sulistyani. 2021. Insecticidal activity of supernatant and crude extract of *Bacillus thuringiensis*-based bio-insecticide towards oil palm pests *Oryctes rhinoceros* (Coleoptera: Scarabaeidae). *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 709(1).
- Pujiastuti, Y., S. Sandi, A. Arsi, D.P. Sulistyani, & Y. Pujiastuti. 2020. Toxicity of *Bacillus thuringiensis* Berl. KJ3P1 and DLM isolates towards pest of oil palm *Oryctes rhinoceros* [Coleoptera: Scarabaeidae]. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 497(1).
- Pujiastuti, Y., S.H.K. Suparman, & A. Umayah. 2023. Potency of *Bacillus thuringiensis* in liquid formulation as a biological agent in controlling larvae of *Oryctes rhinoceros* (Coleoptera: Scarabaeidae). *E3S Web of Conferences*. 373.
- Purnawati, R., T.C. Sunarti, K. Syamsu, & M. Rahayuningsih. 2015. Produksi bioinsektisida oleh *Bacillus thuringiensis* menggunakan kultivasi media padat. *Jurnal Teknologi Industri Pertanian*. 25(3):205–214.
- Ripin, M., & S. Latip. 2021. *Oryctes rhinoceros* infestation and its interaction with oil palm damage in selected oil palm plantation. *International Transaction Journal of ...*, 12(9):1–10.
- Safirah, R., N. Widodo, & M.A.K. Budiyanto. 2016. uji efektivitas insektisida nabati buah *Crecentia cujate* dan bunga *Syzygium aromaticum* terhadap mortalitas spodoptera litura. *Jurnal Pendidikan Biologi Indonesia*. 3(2):265–276.
- Sanggrami Sasmitaloka, K. (2014). Produksi Bioinsektisida *Bacillus thuringiensis* Menggunakan Hasil Samping Agroindustri pada Kultivasi Padat. In *IPB University*. 3(2).
- Santi, I. S., & A. Manto. 2022. Implementation of integrated pest control to reduce rhino beetle (*Oryctes rhinoceros*) attacks in oil palm plantations. *Tropical Plantation Journal*. 1(2).
- Sari, N. K., E. Setyaningrum, & E. Rosa. 2019. Uji efektivitas *Bacillus thuringiensis* var. *Israelensis* yang telah kedaluwarsa terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*. *BioWallacea : Jurnal Penelitian Biologi (Journal of Biological Research)*. 6(1):944–953.
- Sihombing, R., S. Oemry, & L. Lubis. 2014. Uji efektifitas beberapa entomopatogen pada larva *Oryctes rhinoceros* L. (Coleoptera: Scarabaeidae) di laboratorium. *Jurnal Agroekoteknologi Universitas Sumatera Utara*. 2(4):100698.
- Tampubolon, D., Y. Pangestiningih, F. Zahara, & F. Manik. 2013. Uji patogenisitas *Bacillus thuringiensis* dan *Metarhizium anisopliae* terhadap mortalitas *Spodoptera litura* Fabr (Lepidoptera: Noctuidae) di laboratorium. *Jurnal Agroekoteknologi Universitas Sumatera Utara*. 1(3):95413.
- Tarigan, B., S. Syahrial, & M.U. Tarigan. 2022. Uji efektifitas *Beauveria basianna* dan *Bacillus thuringiensis* terhadap ulat api (*Setothosea asigna* Eeck, Lepidoptera, Limacodidae) di laboratorium. *Jurnal Online Agroekoteknologi*. 19(2):1439–1446.
- Tetreau, G., E.A. Andreeva, A.S. Banneville, E. De Zitter, & J.P. Colletier. 2021. How does *Bacillus thuringiensis* crystallize Such a large diversity of toxins?. *Toxins*. 13(9).
- Zhuang, L., S. Zhou, Y. Wang, Z. Liu, & R. Xu. 2011. Cost-effective production of *Bacillus thuringiensis* biopesticides by solid-state fermentation using wastewater sludge: Effects of heavy metals. *Bioresource Technology*. 102(7):4820–4826.