

KAJIAN *Bacillus thuringiensis* DIPERBANYAK PADA MEDIA PADAT HASIL SAMPING AGROINDUSTRI TERHADAP MORTALITAS LARVA *Oryctes rhinoceros* DI RUMAH BAYANG

STUDY OF Bacillus thuringiensis PROPAGATED IN AGROINDUSTRY SIDE SOLID PRODUCTS ON MORTALITY OF Oryctes rhinoceros LARVAE IN SHADOW HOUSE

Yulia Pujiastuti^{1*}, Irfan Mohandis Haraki¹, Suparman SHK¹, Abu Umayah¹, Bambang Gunawan¹, dan Weri Herlin²

¹Program Studi Proteksi Tanaman, Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan ²Program Studi Agro-ekoteknologi, Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya, Sumatera Selatan, Indonesia

*Email: ypujiastuti@unsri.ac.id

* Corresponding Author, Diterima: 9 Feb. 2023, Direvisi: 26 Mar. 2023, Disetujui: 3 Okt. 2023

ABSTRACT

Oryctes rhinoceros (Coleoptera:Scarabaeidae) is an important pest in oil palm. Integrated and continuous control must be carried out. The use of entomopathogenic bacteria *Bacillus thuringiensis* is an alternative of chemical control. The aim of this study was to study the effectiveness of *B. thuringiensis* propagated by solid waste on mortality of *O. rhinoceros*. The experiment was designed in a randomized block design and was carried out in a shadow house, with 6 treatments including: P1: cassava + oil palm meal (2:1), P2: cassava + tofu dregs (2:1), P3: cassava + peanut meal (2:1), P4 : cassava + corn husks (2:1), P5 (water), P6 (insecticide) and carried out 4 replications. The test insects were 3rd instar of *Oryctes* larvae, 10 individuals per replication. Conditions in the shadow house were 25.1-40.2°C and humidity 52.9-99%. The highest larval mortality was on day 20 (82.50%) in treatment P1, and the lowest was on P3 (47.5%). The surviving larvae showed signs of decreasing body weight and length. Symptoms of infection included changes in body color, inactivity and symptoms of death in the form of a soft and watery body. The use of *B. thuringiensis* as a pest control agent is a prospective control method.

Keywords : *Bacillus thuringiensis*, bio-insecticide, entomopathogen, *Oryctes rhinoceros*

ABSTRAK

Hama *Oryctes rhinoceros* (Coleoptera:Scarabaeidae) merupakan hama penting pada kelapa sawit. Pengendalian secara terpadu dan berkelanjutan harus senantiasa dilakukan. Penggunaan bakteri entomopatogen *Bacillus thuringiensis* menjadi alternatif bagi pengendalian kimiawi. Tujuan penelitian untuk mempelajari efektivitas *B. thuringiensis* yang diperbanyak dengan bahan limbah padat terhadap mortalitas *O. rhinoceros*. Percobaan dirancang dengan Rancangan Acak Kelompok dan dilakukan di rumah bayang, dengan 6 perlakuan meliputi : P1: onggok + bungkil kelapa sawit (2:1), P2: onggok + ampas tahu (2:1), P3 : onggok + bungkil kacang tanah (2:1), P4 : onggok + ampok jagung (2:1), P5 (kontrol air), P6 (kontrol insektisida) dan dilakukan sebanyak 4 ulangan. Serangga uji berupa larva *Oryctes* instar 3, sebanyak 10 ekor per ulangan. Keadaan di rumah bayang dengan suhu udara berkisar 25,1-40,2 °C dan kelembaban udara 52,9-99%. Mortalitas larva tertinggi pada hari ke 20 (82,50 %) pada perlakuan P1 (onggok+bungkil kelapa sawit, 2:1), dan terendah pada P3 (onggok + bungkil kacang tanah, 2:1) (47.5%). Larva yang tetap hidup menunjukkan gejala penurunan berat dan panjang tubuh. Gejala infeksi berupa perubahan warna tubuh, tidak aktif dan gejala kematian berupa tubuh lunak dan berair. Penggunaan *B. thuringiensis* sebagai agens pengendali hama merupakan cara pengendalian yang prospektif.

Kata kunci: *Bacillus thuringiensis*, bioinsektisida, entomopatogen, *Oryctes rhinoceros*

1. PENDAHULUAN

Serangga *Oryctes rhinoceros* merupakan hama penting pada tanaman sawit (Priwiratama *et al.*, 2020). Gejala kerusakan yang terlihat terutama pada daun muda yang sedang mekar dengan ditandai adanya bentuk seperti huruf V. Daerah sebar yang luas dan siklus hidup yang panjang, menyebabkan serangga ini mampu menduduki posisinya sebagai hama penting pada tanaman kelapa sawit (Susanto *et al.*, 2011; Hosang dan Salim, 2013). Pada tanaman berumur 2,5 tahun, serangan *O. rhinoceros* akan menyebabkan kerugian sebesar 69%. Tanaman akan mati bila tidak dilakukan pengendalian (Nuriyanti *et al.*, 2016). Sampai saat ini, pengendalian secara terpadu terus diusahakan untuk dilakukan dengan memadukan berbagai cara pengendalian, diantaranya adalah pengendalian hayati. Salah satu teknik dalam pengendalian hayati adalah dengan penggunaan bakteri entomopatogen *Bacillus thuringiensis*. Bakteri tersebut menghasilkan spora dan protein yang toksik pada waktu spotulasi (Bravo *et al.*, 2013).

Perbanyakan entomopatogen *B. thuringiensis* memerlukan media yang mengandung unsur karbon dan nitrogen. Bahan media yang mengandung kedua unsur tersebut antara lain pada limbah padat hasil pertanian (Purnawati *et al.*, 2015). Menurut Sasmitaloka *et al.* (2017) bahan media padat yang dapat digunakan sebagai media perbanyakan *B. thuringiensis* adalah substrat sumber C (onggok, kulit kopi, fraksi pati iles-iles, dan ela sagu) dan sumber N (ampas tahu, bungkil kacang tanah, bungkil inti sawit, dan ampok jagung) dalam memproduksi bioinsektisida dari limbah agroindustry. Media tersebut mengandung unsur Karbon dan nitrogen serta dapat menghasilkan koloni *B. thuringiensis* sebanyak dihasilkan jumlah sel hidup $11.2 \log \text{CFU/g}$, jumlah spora $8.9 \log \text{CFU/g}$. Beberapa peneliti telah menggunakan bahan limbah pertanian dan limbah industri sebagai media untuk pertumbuhan *B. thuringiensis*, antara lain ampas kedelai, air kelapa dan bekatul gandum (Valicente *et al.*, 2010), sisa makanan (Zou *et al.*, 2016), ampas kedelai (Salazar-Magallon *et al.*, 2015), molase (Poopathi, *et al.*, 2013). Untuk itu perlu diteliti kesesuaian media sebagai media pertumbuhan *B. thuringiensis* Penelitian bertujuan untuk mempelajari bahan limbah padat sebagai media perbanyakan *B. thuringiensis* dan efektivitasnya dalam pengendalian hama *O. rhinoceros* di rumah bayang.

2. BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di rumah bayang di PS Proteksi Tanaman FP Unsri dan di design menggunakan Rancangan Acak Kelompok dengan 6 perlakuan dan 4 ulangan. Adapun perlakuan sebagai berikut : yaitu P1: (onggok + bungkil kelapa sawit (2:1)), P2: (onggok + ampas tahu) (2:1), P3 (onggok + bungkil kacang tanah)(2:1), P4 (onggok + ampok jagung) (2:1), P5 (kontrol air), dan P6 (kontrol insektisida). Serangga uji berupa larva *Oryctes* instar 3, sebanyak 10 ekor per ulangan. Larva diperoleh dari kebun kelapa sawit dari berbagai daerah perkebunan kelapa sawit di Sumatera Selatan. Isolat Bt yang digunakan adalah isolat yang diperoleh dari hasil isolasi tanah di Sumatera Selatan dengan kode Bt TPP (koleksi Laboratorium Entomologi).

2.1 Persiapan Serangga Uji

Serangga uji yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *O. rhinoceros*. Serangga ini diambil pada fase larva yang dimulai dari instar ke-3. Larva serangga uji ditemukan dengan cara membongkar batang sawit yang telah lapuk dan kemudian serangga uji diambil serta diletakkan menggunakan kotak plastik dan dipelihara di laboratorium. Serangga uji dipelihara dengan mengganti tanah serta pakan seminggu sekali dengan media tanah disemprot air tiga hari sekali untuk menjaga kelembaban tanah. Sebagai pakan larva yaitu bunga jantan kelapa sawit. Larva dipelihara hingga pelaksanaan aplikasi penelitian. Pemeliharaan larva *O. rhinoceros* dilakukan secara intensif dengan mengamati larva setiap hari untuk melihat keadaan dan kondisi larva pada wadah pemeliharaan.

2.2 Persiapan Media Limbah Padat

Limbah yang digunakan pada penelitian ini ialah terdiri dari onggok, bungkil kelapa sawit, bungkil kacang tanah, ampas tahu, dan ampok jagung. Onggok didapatkan di daerah Sponyono, Kecamatan Negeri Agung, Kabupaten Way Kanan, Lampung. Bungkil kelapa sawit didapatkan di daerah Kabupaten Bogor, melalui *e-commerce*. Bungkil kacang tanah didapatkan di daerah Kecamatan Bandung Wetan, Kota Bandung melalui *e-commerce*. Ampas tahu didapatkan dari pabrik tahu yang berada di daerah Muhajirin, Kabupaten Indralaya Utara, dan ampok jagung di Pasar 16 Ilir, Kota Palembang (Gambar 1). Bahan-

bahan tersebut dikeringkan dan dihancurkan dengan mortar selanjutnya disaring dengan menggunakan saringan diameter 20 mesh.

2.3 Perbanyakkan *B. thuringiensis* pada Media Limbah Padat

Sebagai persiapan dilakukan pembuatan *seed culture*, dengan cara satu jarum ose isolat *B. thuringiensis* dari agar miring dimasukkan ke dalam 20 ml Nutrient Broth (NB). Selanjutnya selama 12 jam dikocok pada shaker dengan kecepatan 200 rpm. Hasilnya sebanyak 10 ml ditambahkan pada 20 ml NB yang baru dan kembali dikocok pada kondisi yang sama (200 rpm, 12 jam). *Seed culture* siap digunakan untuk perbanyakkan *B. thuringiensis* pada media padat.

Campuran media dimasukkan kedalam wadah plastik kotak berukuran 440 ml selanjutnya ditambahkan konsentrasi elemen mikro yaitu 1 g/L CaCO_3 , 0.3 g/L MgSO_4 , 0.02 g/L MnSO_4 , 0.02 g/L FeSO_4 , dan 0.02 g/L ZnSO_4 (Valicente *et al.*, 2010). Media disterilisasi secara terpisah menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 20 menit dengan tekanan 1 atm, setelah dingin baru diinokulasi dengan *seed culture* 10% (V/W) dan diatur dengan ketebalan media 3 cm. Media selanjutnya diinkubasi selama 72 jam didalam inkubator pada suhu 30°C

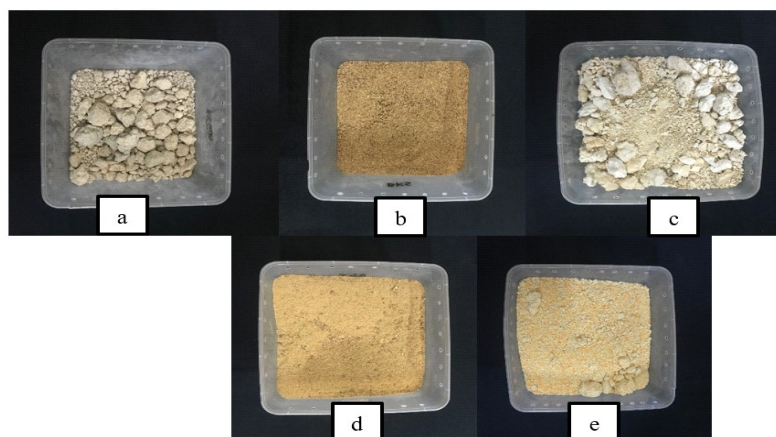
2.4 Aplikasi Bio-insektisida *Bacillus thuringiensis*

Aplikasi bioinsektisida di rumah bayang dilakukan dengan menambahkan media tanah yang sudah disterilkan sebanyak 2,5 kg tanah, dan ditambahkan 30 g bunga jantan sawit pada kotak.

Aplikasi bioinsektisida ini hanya dilakukan sekali pada saat awal perlakuan. Bio-insektisida diaplikasikan dengan dosis 20 g dengan cara dilarutkan dalam air sebanyak 200 ml air dimasukkan ke dalam kotak wadah penelitian untuk setiap ulangan. Penambahan pakan dilakukan setiap 7 hari sekali. Hal ini dilakukan untuk 6 perlakuan dengan masing-masing 4 ulangan. Pada masing-masing perlakuan diletakkan 10 serangga uji pada kotak wadah pada saat aplikasi berlangsung. Aplikasi bio-insektisida fermentasi padat dilakukan hanya satu kali, diikuti dengan pengamatan setiap hari terhadap mortalitas larva (Gambar 2).



Gambar 2. Tahapan aplikasi bioinsektisida fermentasi padat, a) tanah ditimbang sebanyak 2 kg, b.) penambahan pakan berupa bunga jantan kelapa sawit sebanyak 30 g, c) penambahan bioinsektisida yang sudah dilarutkan dalam air, d) Larva *O. rhinoceros* diletakan pada wadah kotak pengamatan (masing-masing perlakuan terdapat 10 ekor), e) kondisi rumah bayang setelah aplikasi dengan papan kode perlakuan.



Gambar 1. Bahan Hasil Samping Agroindustri, a) Onggok, b) Bungkil Kelapa Sawit, c) Ampas Tahu, d) Bungkil Kacang Tanah, e) Ampok Jagung

2.5 Penghitungan Koloni Bakteri

Koloni bakteri dihitung dengan metode *total plate count* (TPC), yaitu dengan cara menumbuhkan bakteri pada media agar dan dihitung jumlah koloninya setelah 24 jam. Pada pengujian ini, sampel bakteri diambil pada saat proses fermentasi berjalan selama 24 jam, 48 jam dan 72 jam.

2.6 Mortalitas Larva

Pengamatan mortalitas larva dilakukan setiap hari setelah diaplikasikan bio-insektisida *B. thuringiensis*. Gejala larva yang mati berupa adanya perubahan warna menjadi coklat kehitaman dan tekstur tubuh menjadi lembut berair serta tidak ada respon bila disentuh. Larva yang mati dipisahkan dari kotak dan dimasukkan kedalam plastik zip dan ditandai label. Adapun rumus perhitungan mortalitas larva adalah sebagai berikut:

$$P = \frac{a}{b} \times 100\% \quad (1)$$

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

2.7 Panjang dan berat Tubuh Larva *Oryctes rhinoceros*

Panjang tubuh larva *O. rhinoceros* diukur menggunakan meteran dari ujung caput sampai dengan ujung abdomen dengan posisi larva melingkar. Diukur setiap 7 hari sekali setelah aplikasi pada saat penggantian tanah dan pakan. Panjang larva di rata-ratakan untuk mengetahui panjang larva per-ekor untuk setiap perlakuan pada masing-masing ulangan.

Berat tubuh larva *O. rhinoceros* dihitung menggunakan timbangan digital. Ditimbang setiap 7 hari sekali. Seluruh berat kemudian dirata-ratakan untuk mengetahui berat larva per-ekor untuk setiap perlakuan pada masing-masing ulangan.

2.8 Gejala Infeksi dan Kematian *Oryctes rhinoceros*

Gejala infeksi serangga uji diamati setiap hari selama pengamatan berlangsung. Hal ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh dari bio-insektisida *B. thuringiensis* tersebut. Gejala infeksi yang diamati seperti perilaku larva yang sulit bergerak, tidak nafsu makan, kulit larva mulai lunak dan warna larva yang berubah menjadi kehitaman hingga kemudian serangga uji tidak bergerak dan

menimbulkan bau busuk serta berlendir yang menandakan serangga uji telah mati.

2.9 Suhu dan Kelembaban Udara dan Tanah Rumah Bayang

Suhu dan kelembaban diamati setiap hari setelah aplikasi menggunakan thermohyrometer yang dipasangkan pada rumah bayang. Pengamatan suhu dan kelembaban dilakukan untuk mengetahui faktor lingkungan yang mempengaruhi kemampuan hidup *O. rhinoceros* sebagai serangga uji. Suhu tanah pada wadah kotak penelitian setiap hari setelah aplikasi diamati menggunakan *digital soil meter* yang ditancapkan ke tanah pada masing-masing kotak perlakuan dan ulangannya. Pengamatan suhu tanah dilakukan untuk mengetahui faktor lingkungan yang mempengaruhi kemampuan hidup *O. rhinoceros* sebagai serangga uji

2.10 Analisis data

Data mortalitas larva, panjang dan berat larva dianalisis dengan menggunakan analisis varians (ANOVA). Pengujian lebih lanjut menggunakan *Tukey's Honest Significant Difference* (HSD) Test untuk menguji perbedaan yang signifikan antara perlakuan pada $P = 0,05$. Semua data dianalisis dengan menggunakan perangkat lunak SAS University Edition 2.79.4M5.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilaksanakan di rumah bayang Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya, dengan suhu udara rumah bayang berkisar 25,1-40,2 °C dan kelembaban udara 52,9-99%

3.1 Perhitungan Koloni *Bacillus thuringiensis*

Perhitungan koloni *B. thuringiensis* dilakukan dengan mengamati koloni sebanyak 3 kali pengamatan dengan interval waktu 24, 48, dan 72 jam proses fermentasi. Pengamatan dilakukan dengan menumbuhkan bakteri tersebut pada media *nutrient agar* (NA). Perhitungan koloni dilakukan dengan menggunakan *colony counter*. Hasil analisis sidik ragam yang dilakukan pada tiga waktu pengamatan didapatkan hasil berbeda nyata pada masing-masing perlakuan. Jumlah kerapatan spora berbeda-beda pada setiap perlakuan (Tabel 1).

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilaksanakan, perhitungan kepadatan koloni bakteri *B. thuringiensis* dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui potensi beberapa campuran hasil samping agroindustri sebagai media perbanyakan bakteri. Pada pengamatan kepadatan koloni 72 jam setelah inkubasi, didapatkan perhitungan kepadatan koloni berbeda nyata pada masing-masing perlakuan. Kepadatan koloni bakteri tertinggi terjadi pada perlakuan ongkok + bungkil kelapa sawit dengan nilai (3.86×10^6 cfu/g) dan terendah terjadi pada perlakuan ongkok + ampok jagung dengan nilai (1.53×10^6 cfu/g). Studi penelitian Zhuang *et al.* (2011) mengungkapkan bahwa fermentasi 72 jam campuran substrat *sludge* (limbah pabrik) + dedak gandum memberikan hasil sel hidup *B. thuringiensis* tertinggi (5.98×10^{10} cfu/g) sebagai media kultivasi padat *B. thuringiensis* yang dibandingkan dengan media komersial dengan nilai jumlah sel hidup tertinggi (6.18×10^{10}).

Perbedaan jumlah koloni bakteri didasarkan pada kandungan C (karbon) dan N (nitrogen) yang berbeda pada setiap campuran substrat hasil

samping agroindustri. Kadar karbohidrat dan kadar serat yang tinggi pada substrat ongkok dapat digunakan sebagai sumber karbon bagi *B. thuringiensis* sedangkan substrat bungkil kelapa sawit dengan dapat menjadi sumber nitrogen yang digunakan untuk pertumbuhan spora dan produksi δ -endotoksin. Menurut Purnawati *et al.* (2015) kombinasi ongkok dan bungkil sawit dapat memberikan kandungan serat dan mineral tambahan yang baik bagi pertumbuhan jumlah spora dan sel vegetatif. Serat merupakan komponen yang cukup penting untuk dipertimbangkan dalam komposisi media fermentasi padat. Hal ini karena berkaitan dengan porositas. Keberadaan serat dalam campuran bahan dapat memberikan pori pada media sehingga isolat bakteri tetap dapat mendapatkan suplai oksigen dan air saat proses fermentasi berlangsung.

3.2 Mortalitas Larva *Oryctes rhinoceros*

Pelaksanaan uji mortalitas larva *Oryctes rhinoceros* dilakukan pada masing-masing

Tabel 1. Perhitungan Koloni *Bacillus thuringiensis*

Bioinsektisida	Koloni Bakteri <i>B. thuringiensis</i> ($\times 10^6$ (cfu/g))		
	24 jam	48 jam	72 jam
P1 (ongkok + bungkil kelapa sawit)	1,95 $\pm$ 0,07b	2,97 $\pm$ 0,03c	3,86 $\pm$ 0,04c
P2 (ongkok + ampas tahu)	1,06 $\pm$ 0,09ab	1,90 $\pm$ 0,05b	2,17 $\pm$ 0,07b
P3 (ongkok + bungkil kacang tanah)	1,62 $\pm$ 0,04ab	1,83 $\pm$ 0,04b	2,09 $\pm$ 0,01b
P4 (ongkok + ampok jagung)	0,87 $\pm$ 0,07a	1,36 $\pm$ 0,11a	1,53 $\pm$ 0,11a
Fhitung	30,94*	61,09*	102,23*
Ftabel	3,49	3,49	3,49
BNJ 5%	0,06	0,04	0,04

Keterangan: * berbeda nyata, tn berbeda tidak nyata, angka-angka yang dihuruf yang sama berbeda tidak nyata. Berbeda nyata pada taraf uji $P < 0,05$ (Data transformasi log).

Tabel 2. Mortalitas Larva *Oryctes rhinoceros* terhadap Bioinsektisida Padat

Perlakuan	Pengamatan mortalitas larva <i>O. rhinoceros</i> (ekor) hari ke-				
	4	8	12	16	20
P1 (ongkok+ bungkil kelapa sawit)	12,50 $\pm$ 4,80c	25,00 $\pm$ 2,90b	47,50 $\pm$ 8,54b	60,00 $\pm$ 12,2b	82,50 $\pm$ 8,54c
P2 (ongkok + ampas tahu)	0,00 $\pm$ 0,00a	10,00 $\pm$ 4,08ab	25,00 $\pm$ 5,00ab	30,00 $\pm$ 5,77a	50,00 $\pm$ 7,07b
P3 (ongkok + bungkil kacang tanah)	2,50 $\pm$ 2,50ab	12,50 $\pm$ 7,50a	22,50 $\pm$ 14,3ab	40,00 $\pm$ 15,8ab	47,50 $\pm$ 14,4a
P4 (ongkok + ampok jagung)	7,50 $\pm$ 4,80bc	17,50 $\pm$ 8,54a	27,50 $\pm$ 8,54b	42,50 $\pm$ 8,54ab	62,50 $\pm$ 8,54b
P5 (kontrol air)	5,00 $\pm$ 2,90abc	7,50 $\pm$ 4,80a	10,00 $\pm$ 7,07a	22,50 $\pm$ 8,54a	25,00 $\pm$ 8,66a
P6 (kontrol insektisida)	100 $\pm$ 0,00d	100 $\pm$ 0,00c	100 $\pm$ 0,00c	100 $\pm$ 0,00c	100 $\pm$ 0,00d
Fhitung	44,69*	20,43*	12,96*	9,50*	8,83*
Ftabel	2,90	2,90	2,90	2,90	2,90
BNJ 5%	10,84	14,19	16,38	16,14	16,13

Keterangan: * berbeda nyata, tn berbeda tidak nyata, angka-angka yang dihuruf yang sama berbeda tidak nyata. Berbeda nyata pada taraf uji $P < 0,05$ (Data transformasi arcsin).

perlakuan dengan jumlah 40 ekor. Mortalitas serangga uji diamati pada hari ke 4, 8, 12, 16 dan 20 hsa (hari setelah aplikasi). Mortalitas larva *O. rhinoceros* mengalami peningkatan pada setiap kali pengamatan. Berdasarkan hasil analisa sidik ragam, pengamatan mortalitas menunjukkan hasil berbeda nyata antar setiap perlakuan (Tabel 2)

Pengaplikasian bioinsektisida *B. thuringiensis* terhadap mortalitas larva *O. rhinoceros* didapati hasil bahwa penggunaan bioinsektisida berpengaruh nyata terhadap mortalitas larva dengan mortalitas tertinggi dalam 20 hsa pada perlakuan P1 (onggok + bungkil kelapa sawit) dengan tingkat kematian 82.5% dan tingkat kematian terendah terjadi pada perlakuan P3 (onggok + bungkil kacang tanah) dengan kisaran 47.5%. Pada produksi bioinsektisida dengan campuran substrat karbon dan nitrogen yang terpilih, dihasilkan jumlah sel dan jumlah spora yang berbeda. Apabila jumlah spora yang dihasilkan sedikit maka kristal protein yang dihasilkan juga sedikit sehingga akan berpengaruh terhadap tingkat toksisitasnya. Selain itu, tingkat mortalitas juga dipengaruhi oleh dosis atau konsentrasi bioinsektisida. Dengan kata lain, semakin tinggi konsentrasi yang digunakan maka akan semakin tinggi mortalitas larva *O. rhinoceros*. Hal ini sesuai dengan Elsharkawy *et al.* (2022) yang menyatakan bahwa peningkatan konsentrasi berbanding lurus dengan peningkatan efek toksik atau racun yang menyebabkan daya bunuh semakin tinggi.

3.3 Lethal Time 50 (LT₅₀) larva *Oryctes rhinoceros*

Penentuan waktu letal didasarkan pada pengamatan mortalitas larva yang dilakukan. *Lethal time* dihitung mulai dari saat aplikasi bioinsektisida hingga larva *O. rhinoceros* mengalami mortalitas mencapai 50%. Hasil pengamatan pada masing-masing perlakuan yang diaplikasikan bioinsektisida *B. thuringiensis* menunjukkan hasil bahwa pemberian bioinsektisida P1 (onggok + bungkil

kelapa sawit) telah mempercepat waktu LT₅₀ dari larva *O. rhinoceros* rata-rata 13 hari dengan kisaran 12×14 hari dibandingkan dengan perlakuan bio-insektisida lainnya. LT₅₀ pada kontrol insektisida mencapai 2,11 hari (Tabel 3).

Pemberian beberapa bioinsektisida dari campuran hasil samping agroindustri menunjukkan bahwa pemberian onggok + bungkil kelapa sawit merupakan perlakuan yang paling cepat mematikan 50% larva *O. rhinoceros* yaitu 13 hari setelah aplikasi dibandingkan dengan perlakuan bioinsektisida lainnya. Hal ini berbeda dengan kontrol insektisida yang paling cepat mematikan 50% larva yaitu 2 hari. Hal ini diduga karena belum dapat dipastikan berapa kristal protein yang diperoleh dari setiap spora yang dihasilkan. Selain itu faktor-faktor seperti distribusi spora dan kristal protein dalam penyemprotan bioinsektisida juga menjadi salah satu faktor keberhasilan (Bravo *et al.*, 2011). mengemukakan bahwa salah satu kelemahan pestisida nabati adalah daya racunnya yang rendah, sehingga memerlukan waktu yang lebih lama dalam mematikan serangga uji.

3.4 Panjang dan berat Larva *Oryctes rhinoceros*

Pengamatan panjang dan berat larva *O. rhinoceros* dilakukan setiap minggu dengan perhitungan panjang larva dimulai pada hari aplikasi bioinsektisida berlangsung hingga minggu ketiga. Berdasarkan hasil analisis sidik ragam panjang larva *O. rhinoceros* pada minggu pertama, berbeda tidak nyata pada masing-masing perlakuan, pada perlakuan minggu kedua dan minggu ketiga menunjukkan hasil berbeda nyata pada masing-masing perlakuan (Tabel 4). Berdasarkan hasil analisis sidik ragam, berat larva *O. rhinoceros* pada minggu pertama yaitu P1 berbeda tidak nyata dengan P3, tetapi berbeda nyata dengan P2, P4, P5 dan P6. Pada pengamatan minggu kedua dan ketiga masing-masing perlakuan menunjukkan hasil yang berbeda nyata (Tabel 5).

Tabel 3. *Lethal time* (LT₅₀) larva *Oryctes rhinoceros* bioinsektisida padat

Perlakuan	LT ₅₀ (hari)	Selang Kepercayaan	
		Batas bawah	Batas atas
P1 (onggok + bungkil kelapa sawit)	13,13	12,01	14,30
P2 (onggok + ampas tahu)	19,54	18,13	21,08
P3 (onggok + bungkil kacang tanah)	18,32	16,99	19,76
P4 (onggok + ampok jagung)	16,79	15,54	18,13
P5 (kontrol air)	-	-	-
P6 (kontrol insektisida)	2,11	1,91	2,32

Pengamatan panjang dan berat larva *O. rhinoceros*, didapati hasil penelitian berupa penurunan panjang tubuh pada masing-masing perlakuan di setiap minggunya. Penurunan panjang dan berat tubuh larva diakibatkan oleh infeksi *B. thuringiensis* pada larva yang bergejala dan belum mati yang mengalami perubahan yang ditandai dengan ukuran tubuh menyusut. Panjang larva pada minggu pertama berdasarkan hasil analisis sidik ragam menunjukkan tidak berbeda nyata antar perlakuan sedangkan berat larva pada minggu pertama menunjukkan hasil berbeda nyata antar perlakuan. Pada minggu kedua dan ketiga pengamatan, menunjukkan panjang dan berat yang berbeda nyata pada setiap perlakuan. Perbedaan panjang dan berat tubuh larva dipengaruhi oleh jumlah kematian dan jumlah pakan yang dimakan sehingga menyebabkan peningkatan ataupun penurunan pada larva. Faktor eksternal seperti suhu, kelembaban dan kualitas pakan pada tempat

berlangsungnya hidup larva mempengaruhi panjang dan berat tubuh larva (Fauzana & Ustadi, 2020).

3.5 Suhu Tanah dan Kelembaban Udara Rumah Bayang

Pengamatan suhu tanah pada media inkubasi dilakukan setiap hari ke 4, 8, 12, 16, dan 20 hsa (hari setelah aplikasi). Suhu tanah diamati pada masing-masing perlakuan dengan menggunakan *digital soil meter*. Pengamatan suhu tanah dilakukan pagi (07.30 WIB), siang (12.30 WIB) dan sore (16.30 WIB). Berdasarkan hasil analisis sidik ragam, pengamatan suhu tanah (Tabel 6.).

Suhu dan kelembaban udara dirumah bayang diukur dengan menggunakan *thermohygrometer*. Pengamatan suhu dan kelembaban udara dilakukan setiap hari ke 4, 8, 12, 16, dan 20 hsa (hari setelah aplikasi) pada pagi hari (07.30 WIB), siang hari (12.30 WIB), dan sore hari (16.30) WIB. Rata-

Tabel 4. Panjang Larva *Oryctes rhinoceros* terhadap Bio-Insektisida Padat

Perlakuan	Pengamatan panjang larva <i>O. rhinoceros</i> (cm) minggu ke-		
	1	2	3
P1 (onggok + bungkil kelapa sawit)	10,30±0,03	7,70±0,33b	4,40±1,26b
P2 (onggok + ampas tahu)	10,40±0,10	8,90±0,25bc	6,40±0,48bc
P3 (onggok + bungkil kacang tanah)	10,40±0,10	8,30±0,54bc	6,10±1,57bc
P4 (onggok + ampok jagung)	10,80±0,07	8,70±0,63bc	6,00±0,64bc
P5 (kontrol air)	10,80±0,18	9,30±0,87c	7,00±0,69c
P6 (kontrol insektisida)	10,20±0,25	0,00±0,00a	0,00±0,00a
F hitung	2,81 ^{tn}	97,85*	12,48*
Ftabel	2,90	2,90	2,90
BNJ 5%	0,34	0,21	0,47

Keterangan: * berbeda nyata, tn berbeda tidak nyata, angka-angka yang dihuruf yang sama berbeda tidak nyata. Berbeda nyata pada taraf uji $P < 0,05$ (Data transformasi akar kuadrat).

Tabel 5. Berat Larva *Oryctes rhinoceros* terhadap Bioinsektisida Fermentasi Padat

Perlakuan	Pengamatan berat larva <i>O. rhinoceros</i> (g) minggu ke-		
	1	2	3
P1 (onggok + bungkil kelapa sawit)	11,00±0,15a	10,10±0,46b	5,40±1,76b
P2 (onggok + ampas tahu)	11,40±0,23b	10,90±0,31bc	7,30±0,68bc
P3 (onggok + bungkil kacang tanah)	11,00±0,22a	9,80±0,31b	6,60±1,59bc
P4 (onggok + ampok jagung)	11,90±0,28bc	9,90±0,63b	7,00±0,90bc
P5 (kontrol air)	13,50±0,28d	12,00±0,92c	8,90±1,34c
P6 (kontrol insektisida)	12,00±0,12c	0,00±0,00a	0,00±0,00a
Fhitung	14,98*	157,2*	10,76*
Ftabel	2,90	2,90	2,90
BNJ 5%	0,53	0,19	0,56

Keterangan: * berbeda nyata, tn berbeda tidak nyata, angka-angka yang dihuruf yang sama berbeda tidak nyata. Berbeda nyata pada taraf uji $P < 0,05$ (Data transformasi akar kuadrat).

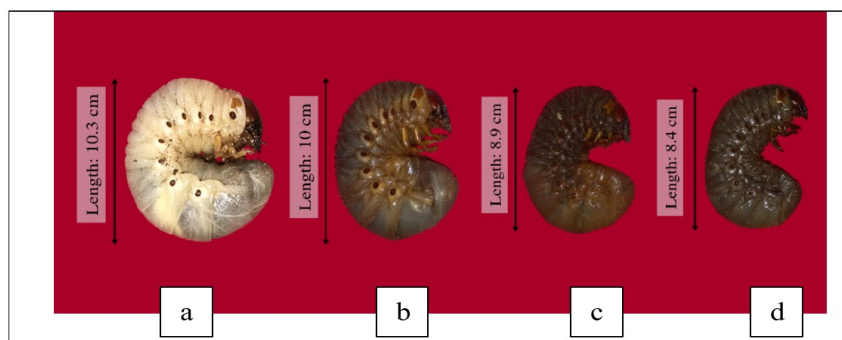
rata suhu dirumah bayang didapatkan berkisar antara 29.7-32.8°C dengan rata-rata kelembaban udara berkisar antara 83.6-90% (Tabel 7).

Suhu tanah pada wadah serangga uji di setiap hari pengamatan didapati bahwa suhu tanah relatif fluktuatif dengan kisaran 30-33%. Tanah sebagai habitat utama memainkan peranan penting bagi kemampuan bertahan hidup larva *O. rhinoceros*. Jika kisaran suhu pada tanah sesuai, mikroorganisme dan serangga dapat hidup secara optimal. Menurut Pujiastuti *et al.* (2022), larva *O. rhinoceros* dapat hidup dengan suhu optimal dengan kisaran 27-29°C. Pada temperatur tersebut, bioinsektisida *B. thuringiensis* dapat tumbuh dengan optimal dan berkembang di tubuh larva dengan baik. Suhu dan kelembaban udara di rumah bayang juga mempengaruhi terhadap daya hidup

larva. Pada suhu ruang, suhu relatif fluktuatif dengan kisaran 29.7-32.8°C dengan kelembaban berkisar 80.7-90.0%. Suhu dan kelembaban udara berpengaruh terhadap perkembangan dan pertumbuhan larva *O. rhinoceros*. Suhu dan kelembaban yang optimal secara langsung akan mempengaruhi laju dekomposisi pakan sehingga mempermudah larva dalam mengonsumsi pakannya. Nuriyanti *et al.* (2017) melaporkan bahwa kelembaban habitat yang optimum bagi stadia larva *O. rhinoceros* adalah 85×95%.

3.6 Gejala Larva *Oryctes rhinoceros* Terinfeksi *Bacillus thuringiensis*

Larva *Oryctes rhinoceros* yang terinfeksi oleh bakteri *Bacillus thuringiensis* menunjukkan gejala



Gambar 3. Gejala Infeksi Bakteri *B. thuringiensis* pada Larva *Oryctes rhinoceros* a) Larva *O. rhinoceros* Sehat Hari Pertama, b) Gejala Infeksi pada Larva Hari Keempat, c) Gejala Infeksi Larva pada Hari Keenam, d) Gejala Infeksi Larva pada Hari ke-10.

Tabel 6. Suhu Tanah Inkubasi Larva *Oryctes rhinoceros*

Perlakuan	Suhu tanah <i>O. rhinoceros</i> (°C) hari ke-				
	4	8	12	16	20
P1 (onggok + bungkil kelapa sawit)	31.6	31.9	32.5	33.4	30.0
P2 (onggok + ampas tahu)	32.3	32.4	32.6	33.1	30.6
P3 (onggok + bungkil kacang tanah)	32.2	32.1	32.9	33.1	30.1
P4 (onggok + ampok jagung)	32.5	32.	33.3	33.4	30.1
P5 (kontrol air)	31.6	33.	33.3	32.3	29.9
P6 (kontrol insektisida)	32.1	32.8	32.8	33.9	29.7
Fhitung	2.05 ^{tn}	1.56 ^{tn}	0.65 ^{tn}	0.96 ^{tn}	0.51 ^{tn}
Ftabel	2.90	2.90	2.90	2.90	2.90
BNJ 5%	0.57	0.73	0.89	0.83	0.90

Tabel 7. Suhu dan Kelembaban Udara Rumah Bayang

Parameter Pengamatan	Suhu dan kelembaban udara rumah bayang hari ke-				
	4	8	12	16	20
Suhu (°C)	30.9	31.8	31.6	32.8	29.7
Kelembaban (%)	88.3	83.6	90.0	80.7	89.9

motorik yang ditandai dengan tingkat keaktifan dan sensitifitas larva menurun. Larva bergejala juga mengalami perubahan warna tubuh yang awalnya bewarna putih, kemudian berangsur-angsur kecokelatan dan bewarna hitam yang menandakan larva sudah mati. Selain perubahan warna, gejala yang timbul akibat infeksi *B. thuringiensis* juga ditandai dengan bentuk fisik tubuh larva yang cenderung melunak hingga terbentuknya pori atau lubang yang mengeluarkan cairan akibat pecahnya organ pencernaan larva, serta larva yang bergejala cenderung berbau busuk dan menyengat. Larva *O. rhinoceros* yang sehat ditandai dengan ciri-ciri tubuh larva yang bewarna putih dengan ujung abdomen bewarna coklat/merah menghitam (Gambar 3).

Gejala serangan yang terjadi akibat serangan *B. thuringiensis* terhadap larva *O. rhinoceros* dapat menyebabkan perubahan warna pada tubuh larva dari yang bewarna putih menjadi kecokelatan hingga menjadi kehitaman, secara motorik larva menjadi tidak aktif bergerak dan kehilangan nafsu makan. Akibatnya, larva akan mati dengan kondisi tubuh berubah menjadi melunak. Selanjutnya, akan terjadi kerusakan pada bagian organ tubuh yang ditandai adanya cairan yang keluar melalui bagian tubuh larva. Tubuh larva juga akan membusuk dan mengeluarkan aroma menyengat. (Sihombing *et al.* 2014) mengungkapkan bahwa *B. thuringiensis* merupakan bakteri yang memiliki kristal protein dan bersifat sebagai racun perut didalam saluran tubuh serangga dan menyebabkan hidrolisis dan menghasilkan fraksi yang bersifat toksik dan merusak dinding tubuh bagian dalam serangga sehingga menyebabkan gangguan pencernaan dan menyebabkan kematian

4. KESIMPULAN

Mortalitas larva *O. rhinoceros* tertinggi terjadi pada perlakuan P1 (onggok + bungkil kelapa sawit) dengan tingkat kematian mencapai 82.5% dibandingkan dengan perlakuan P2, P3 dan P4 yang masing-masing memiliki tingkat kematian 50%, 47.5%, dan 62.5% di Rumah Bayang. Jumlah koloni sel bakteri *B. thuringiensis* pada P1 (onggok + bungkil kelapa sawit) yang lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya berpengaruh terhadap banyaknya jumlah kerapatan spora dan kristal protein yang dihasilkan dalam menyebabkan mortalitas pada larva *O. rhinoceros*. Gejala infeksi dan kematian telah terjadi setelah 24 jam aplikasi dan terjadi pada beberapa perlakuan dengan menunjukkan gejala infeksi *Bacillus thuringiensis*

pada larva serangga uji *O. rhinoceros* di rumah bayang.

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Rektor Unsri yang telah memberikan dukungan dana melalui skim penelitian Hibah kompetitif dengan nomor Kontrak Nomor : 0164.25/UN9/SB3.LP2M.PT/2022 tanggal 27 Juni 2022

6. DAFTAR PUSTAKA

- Bravo, A., S. Likitvivatanavong, S. S. Gillb, & M. Soberóna. 2011. *Bacillus thuringiensis*: A Story of A Successful Bioinsecticide. *Insect Biochem Mol Biol*.41(7): 423–431.
- Bravo, A. I. Gómez, H. Porta, B. I. García-Gómez, C. Rodriguez-Almazan, L. Pardo, & M. Soberón. 2013. Evolution of *Bacillus thuringiensis* Cry Toxins Insecticidal Activity. *Microb Biotechnol*. 2013 Jan; 6(1): 17–26.
- Elsharkawy, M. M., M. Almasoud, Y. M. Alsulaiman, R. S. Baeshen, H. Elshazly, R. H. Kadi, M. M. Hassan, & R. Shower. 2022. Efficiency of *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus cereus* Against *Rhynchophorus ferrugineus*. *Insects*. 13(905): 1-13.
- Fauzana, H. & U. Ustadi. 2020. Pertumbuhan Larva Kumbang Tanduk (*Oryctes rhinoceros* L.) pada Berbagai Media Tumbuh Tanaman Famili Arecaceae. *Jurnal Entomologi Indonesia*. 17(2): 89-96.
- Hosang, M. L. A., & Salim. 2013. Penekanan Populasi *Oryctes rhinoceros* dan *Rhynchophorus ferrugineus* dengan Perangkap dan Feromon. *Prosiding Konferensi Nasional Kelapa (KNK) VIII*, 67-72.
- Nuriyanti, D. D., I. Widhiono, & A. Suyanto. 2016. Faktor-faktor Ekologis yang Berpengaruh terhadap Struktur Populasi Kumbang Badak (*Oryctes rhinoceros* L.) *Jurnal Biosfera*. 33 (1): 13-21
- Poopathi, S., C. Mani & G. Rajeswari. 2013. Potential of Sugarcane Bagasse (agro-industrial waste) for the Production of *Bacillus thuringiensis* Israelensis. *Tropical Biomedicine* 30(3): 504–515
- Priwiratama, H., A. E. Prasetyo, T. A. P. Rozziansha, & A. Susanto. 2020. Hama Kumbang Badak *Oryctes rhinoceros* Bioekologi, Kerusakan dan Pengendalian.

- Medan: Pusat Penelitian Kelapa sawit Medan.
- Pujiastuti, Y., M. Ridwan, H. Saputra, M. Agusrafil, A. Nurnabila, H. Hendarjanti. 2022. Study of Effectivity *Bacillus thuringiensis* Based Bio-insecticide Against *Oryctes rhinoceros* Larvae at Shade House. *Biovalentia: Biological Research Journal*. 8 (2): 145–150.
- Purnawati, R., T. Sunarti, K. Syamsu, & M. Rahayuningsih. 2015. Produksi Bioinsektisida oleh *Bacillus thuringiensis* Menggunakan Formulasi Media Padat. *Jurnal Teknologi Industri Pertanian*. 25 (3):205-214
- Sasmitaloka, K. S., S. T. Candra, & R. Mulyorini. 2017. Bioinsecticides Production by *Bacillus thuringiensis* subsp. aizawai using Agroindustrial by-Product in Solid Fermentation. <http://repository.pertanian.go.id/handle/123456789/1549>
- 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.
- Susanto, A., Sudharto, & A. E. Prasetyo. 2011. Informasi Organisme Pengganggu Tanaman Kumbang Tanduk *Oryctes rhinoceros* Linn. Artikel. Pusat Penelitian Kelapa Sawit: Medan.
- Valicente F. H., S. T. Edmar De, I. S. L. Maria, L. F. Fernanda, & M. V. Corina. 2010. Production of *Bacillus thuringiensis* Biopesticide Using Commercial Lab Medium and Agricultural by-Products as Nutrient Sources. *Revista Brasileira De Milho E Sorgo*. 9 (1): 1-11
- Velazquez, A. A. Alvear-Garcia, I. Arenas-Sosa, & G. Peña-Chora. 2015. Evaluation of Industrial by-Products for The Production of *Bacillus thuringiensis* Strain GP139 and The Pathogenicity When Applied to *Bemisia tabaci* nymphs. *Bulletin of Insectology*. 68 (1): 103-109
- 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
- Zou H., S. Ding, W. Zhanga, J. Yaoa, L. Jiang, & J. Liang. 2016. Study on Influence Factors in *Bacillus thuringiensis* Production by Semi-Solid State Fermentation Using food waste. *The Tenth International Conference on Waste Management and Technology (ICWMT) Procedia Environmental Sciences*. 31: 127 – 135.