

Formulasi bioinsektisida *Bacillus thuringiensis* isolat indigenos untuk pengendalian *Hyposidra talaca* pada tanaman teh

Formulation of indigenous isolate of Bacillus thuringiensis bioinsecticide to control Hyposidra talaca on tea

Happy WIDIASTUTI¹*, TRI_PANJI¹), Ciptadi Achmad YUSUP¹), Iman RUSMANA²) & Tri Eko WAHYONO³)

¹Pusat Penelitian Bioteknologi dan Bioindustri Indonesia, Jl Taman Kencana No 1, Bogor 16151, Indonesia

²FMIPA- Institut Pertanian Bogor, Jalan Agatis Kampus IPB Dramaga, Bogor 16680, Indonesia

³Puslitbangbun, Jl. Tentara Pelajar No.3, Cimanggu, Bogor 16111, Indonesia

Diterima tgl 25 Maret 2019/ disetujui tgl 29 April 2019

Abstract

A study has been conducted to develop indigenous Bacillus thuringiensis bioinsecticide. Preliminary study has been conducted to explore B. thuringiensis from sample of soil, leaf, and infected larvae from selected tea area as well as another area such as cocoa, and acasia. The result showed that based on colony morphology, ten isolates with the characteristics of B. thuringiensis colonies were discovered. Using phase contrast microscope and staining, four bacterial isolates showed an ability to formed crystal protein in which they were further used as active compounds of bioinsecticide. Based on the viability of bacteria, white clay was found as the best carrier for bioinsecticide formulation. In addition, maltose was selected best as osmoprotectant in liquid formulation. The toxicity assay of B. thuringiensis towards Hyposidra talaca larvae showed that H. talaca larvae were controlled up to 37.5%. However, the toxicity needs longer period compared to the one of commercial B. thuringiensis bioinsecticide.

[Keywords: *Bt* insecticide, cypermethrin, integrated pest management, tea looper].

Abstrak

Penelitian telah dilakukan untuk mengembangkan bioinsektisida berbahan aktif *B. thuringiensis* dari isolat asli Indonesia. Eksplorasi *B. thuringiensis* dari contoh berupa tanah, daun, dan ulat dari kebun teh telah dilakukan demikian pula dari habitat lain seperti kebun kakao dan akasia. Berdasarkan morfologi koloni diperoleh 10 isolat yang menunjukkan ciri-ciri koloni *B. thuringiensis*. Selanjutnya isolat yang diperoleh diuji kemampuan pembentukan kristal protein dengan pewarnaan dan pengamatan mikroskop fase kontras dan menghasilkan 4 isolat yang mampu membentuk kristal protein. Selanjutnya keempat isolat yang diperoleh digunakan sebagai bahan aktif dalam formulasi bioinsektisida.

Formula terbaik berdasarkan kriteria viabilitas bakteri adalah formula yang menggunakan bahan pembawa berupa *white clay*. Formula terbaik untuk bioinsektisida cair berdasarkan kriteria viabilitas *B. thuringiensis* dan kejernihan bioinsektisida adalah menggunakan maltose sebagai osmoprotektan. Pada pengujian toksisitas isolat *B. thuringiensis* terhadap larva ulat jengkal (*Hyposidra talaca*) menunjukkan bahwa *B. thuringiensis* hasil percobaan dapat mengendalikan larva ulat jengkal hingga 37,5%. Namun demikian toksisitasnya memerlukan waktu yang lebih lama dibandingkan dengan bioinsektisida berbahan aktif *B. thuringiensis* komersial.

[Kata kunci: bioinsektisida Bt, pengendalian hama terpadu, sipermetrin, ulat jengkal teh].

Pendahuluan

Rendahnya harga teh (*Camellia sinensis*, L) Indonesia di pasar dunia menjadi salah satu faktor yang merugikan bagi pengembangan teh di Indonesia. Untuk meningkatkan harga teh maka produksi teh organik menjadi pilihan yang perlu dipertimbangkan. Harga teh organik dapat mencapai 3 kali lebih tinggi dibandingkan dengan teh non organik dengan permintaan yang terus meningkat terutama dari Eropa dan Amerika Utara (Guthman, 2014; Karki *et al.*, 2011). Pola penanaman dengan sistem organik pada dasarnya adalah penggunaan bahan-bahan yang bersifat organik atau alami yang dapat berupa produk mikroba atau bahan organik dalam setiap aspek produksinya (Guthman, 2014).

Selama lebih dari 100 tahun, sistem penanaman tanaman teh secara konvensional dan monokultur menyebabkan efek negatif pada lingkungan. Tanaman teh menjadi subjek serangan beberapa notorius organisme pengganggu tanaman (OPT) seperti serangga, nematoda, penyakit, dan gulma. Secara global terdapat 1034 spesies Arthropoda dan 82 spesies nematoda yang berasosiasi dengan tanaman teh. Kerugian yang diakibatkan serangan hama dan penyakit ini menyebabkan penurunan

*) Penulis korespondensi: happywidiastuti@yahoo.com

produktivitas yang nyata (Mamun & Ahmed, 2011). Serangan hama dari kelompok Lepidoptera di perkebunan teh juga tergolong tinggi. Hama tersebut dapat berupa ulat jengkal, ulat kantung, dan ulat penggulung daun. Pengendalian hama di perkebunan teh saat ini dilakukan menggunakan pestisida kimia. Namun, penggunaan pestisida yang terus menerus dengan dosis yang juga terus meningkat sudah mulai ditinggalkan karena berbahaya bagi manusia dan lingkungan (Zacharia, 2011). Sebagai konsekuensi peningkatan penggunaan pestisida kimia mengakibatkan timbulnya resistensi, resurgensi, dan adanya residu pestisida di dalam produk teh sebagai masalah utama. Dewasa ini program pengendalian hama terpadu (PHT) yang mengurangi penggunaan pestisida kimia makin digalakkan pemerintah. Salah satu komponen PHT yang dikembangkan adalah penggunaan formula berbahan aktif mikroba sebagai pestisida yang ramah lingkungan dan berkelanjutan (Meissle *et al.*, 2011).

Lebih dari beberapa periode yang lalu, timbulnya pengaruh sosial dan lingkungan meningkatkan sistem produksi teh yang lebih berkelanjutan. Salah satu strategi dalam jangka panjang namun memiliki pengaruh minimal terhadap lingkungan adalah konversi dari sistem konvensional ke organik (Pimentel & Burgess, 2014). Peralihan dari sistem konvensional (anorganik) menjadi organik akan membawa dampak perubahan yang dapat menurunkan produktivitas, namun sistem organik diklaim lebih aman dan sehat dengan pengurangan penggunaan pestisida sintetik (Best, 2010; Cranfield *et al.*, 2010; L  pple, 2010). Dari pustaka yang ada, sistem organik lebih berpengaruh positif terhadap aspek sosial dan lingkungan (Cranfield *et al.*, 2010; Mzoughi, 2011). Dalam perspektif lingkungan, sistem perkebunan teh organik dapat menyimpan energi, keragaman dan mitigasi perubahan iklim, dan menjaga lingkungan, terutama pada jangka panjang. Di samping dapat meningkatkan kesuburan tanah dan memberikan sumber hara bagi tanah, pada jangka ke depan, sistem perkebunan teh organik mampu menurunkan energi yang tidak dapat diperbaharui, dan merupakan usaha untuk mitigasi pemanasan global melalui penurunan kehilangan emisi karbon. Selain itu harga jual teh organik lebih tinggi hingga 30% dari harga teh biasa (Doanh *et al.*, 2018).

Penelitian Doanh *et al.* (2018) menunjukkan bahwa diperlukan waktu tiga tahun atau lebih dalam masa peralihan dari sistem penanaman teh konvensional menjadi organik. Namun demikian, penurunan produktivitas dapat dikurangi dengan menggunakan produk-produk bioteknologi yang unggul yang telah teruji. Hasil penelitian pendahuluan menunjukkan bahwa isolat *B. thuringiensis* mengandung gen *cry* yang dikenal toksik untuk larva dalam kelompok Lepidoptera (Bravo *et al.*, 2007; J  hler *et al.* 2018; Van Frankenhuyzen, 2009). Pengujian pendahuluan pada tanaman teh di perkebunan teh organik swasta

menunjukkan beberapa isolat *B. thuringiensis* efektif untuk mengendalikan ulat jengkal (*Hyposidra talaca*) dan penggulung daun (Komunikasi personal, 2010).

Ulat jengkal *H. talaca* merupakan salah satu hama utama pada perkebunan teh. Hama ini tergolong dalam famili Geometridae ordo Lepidoptera. Penggunaan racun perut merupakan salah satu jenis insektisida yang cocok diaplikasikan untuk hama pemakan daun. Lebih jauh dikemukakan bahwa insektisida yang efektif untuk mengendalikan hama ini ialah insektisida yang berbahan aktif pirenoid, karbamat, organofosfat dan *anti-feedant* (Blessing *et al.*, 2010).

Bacillus thuringiensis (Bt) merupakan bakteri tanah yang telah digunakan sejak tahun 1950 untuk pengendalian hama. Bakteri ini mengandung kristal protein yang jika bereaksi dengan sistem pencernaan larva yang bereaksi alkalin akan menjadi toksik (Van Frankenhuyzen, 2009). Toksisitas kristal protein sangat spesifik yang menjadikannya bioinsektisida *B. thuringiensis* tidak mematikan serangga bukan sasaran dan ramah lingkungan (Dashora *et al.*, 2017). Peralta & Palma (2017) melaporkan bahwa bioinsektisida Bt paling banyak digunakan dan paling banyak diteliti dibandingkan dengan bioinsektisida lainnya. Chattopadhyay *et al.* (2017) mengemukakan bahwa beberapa keuntungan insektisida biologi dibandingkan dengan pestisida kimia adalah keamanan (bagi bukan target serangga dan manusia), ramah lingkungan (cenderung dapat terdegradasi), ekonomis (mudah diproduksi) dan dapat menjadi komponen dalam pengendalian hama penyakit secara terpadu. Namun demikian kelemahan bioinsektisida adalah adanya masa kadaluwarsa, efikasi yang tidak dapat diduga, dan waktu efektifnya di lapang sangat pendek. Gen *Bt* telah digunakan untuk mengembangkan tanaman transgenik (Sanahuja *et al.*, 2011). J  hler *et al.* (2018) juga mengemukakan bahwa penggunaan bioinsektisida Bt dapat menurunkan resiko keamanan pangan.

Pengendalian ulat jengkal (*H. talaca*) dengan bioinsektisida belum pernah dilaporkan sebelumnya. Penelitian ini bertujuan untuk memformulasi bioinsektisida berbahan aktif indigenos *B. thuringiensis* khususnya untuk mengendalikan ulat jengkal pada tanaman teh. Isolat indigenos *B. thuringiensis* dapat dimanfaatkan petani teh lokal untuk menekan biaya produksi dengan memanfaatkan sumber daya alam yang tersedia.

Bahan dan Metode

Penelitian dilakukan dalam tiga tahap yaitu 1) eksplorasi dan seleksi *B. thuringiensis* dari habitat perkebunan teh; 2) formulasi *B. thuringiensis*, dan 3) pengujian toksisitas formula bioinsektisida *B. thuringiensis* pada skala semi lapangan.

Eksplorasi dan seleksi B. thuringiensis dari habitat perkebunan teh

Isolasi bakteri pembentuk kristal protein dilakukan terhadap contoh tanah atau ulat yang diambil dari perkebunan teh dari beberapa lokasi di Gambung, Jawa Barat. Contoh tanah diambil pada kedalaman nol (0) sampai lima (5) cm dari permukaan tanah setelah terlebih dahulu seresah dibersihkan. Metode isolasi mengacu pada Travers *et al.* (1987). Seleksi dilakukan berdasarkan pertumbuhan dan kemampuan isolat *B. thuringiensis* menghasilkan kristal protein pada medium T3 (Travers *et al.*, 1987). Kristal protein diamati dengan cara mikroskopis menggunakan mikroskop fase kontras setelah inkubasi 20 jam dan pewarnaan menggunakan *naphtalene black* dan Giemsa sel *B. thuringiensis* setelah inkubasi 72 jam.

Formulasi B. thuringienis

Formulasi dilakukan dalam dua bentuk yaitu padat dan cair. Formulasi dalam bentuk padat (bubuk) menggunakan beberapa macam bahan pembawa yaitu lempung (kaolin, *white clay*, dan *brown clay*) dan atau gom arab (*arabic gum*). Pada saat awal dilakukan pengujian volume optimum *B. thuringiensis* untuk masing-masing lempung untuk menghasilkan bioinsektisida dengan kelembaban yang optimum. Dalam pengujian ini, volume yang diuji adalah 3 level yaitu 1,5; 5; dan 10%. Bahan utama dalam formulasi padat adalah kaolin, *white clay*, dan *brown clay* yang dicampur dengan atau tanpa gom arab sebagai perekat kristal protein.

Pada formula cair digunakan larutan osmoprotektan yaitu maltosa dan natrium klorida. Selain itu, ditambahkan pula *Tween® 20* untuk mendapatkan formula bioinsektisida cair yang homogen dan jernih.

Pengujian toksisitas formula bioinsektisida B. thuringiensis pada skala rumah kaca

Pengujian dilakukan menggunakan larva pada instar 3. Tahap-tahap yang dilakukan adalah penyiapan suspensi bakteri *B. thuringiensis* pada

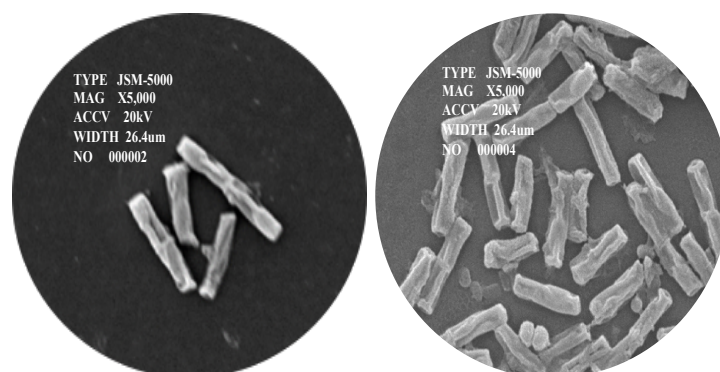
media pengkaya kristal protein T3 (Travers *et al.*, 1987) yang telah diinkubasi selama 3 hari, penyiapan serangga ulat jengkal dan pengujian toksisitas suspensi *B. thuringiensis* terhadap larva ulat jengkal. Lima perlakuan yang diuji adalah : 1) kontrol, 2) insektisida berbahan aktif Sipermetrin konsentrasi 0,1%, 3) bioinsektisida komersial I (dosis 0,5 kg/ha), 4) bioinsektisida komersial II, (dosis 0,4 kg/ha), 5) bioinsektisida *B. thuringiensis* hasil penelitian pada konsentrasi 10^8 /mL. Volume yang diaplikasikan pada tanaman teh yaitu 100 mL/perlakuan. Pengamatan dilakukan setiap 24 jam dari hari ke nol sampai 10 hari. Pengamatan dilakukan terhadap jumlah kematian larva, dan ciri-ciri kematian larva. Percobaan dilakukan menggunakan rancangan acak lengkap untuk menguji 5 perlakuan yang diulang 4 kali, sehingga total unit percobaan adalah 20 unit.

Hasil dan Pembahasan

Eksplorasi dan seleksi B. thuringiensis dari habitat perkebunan teh

Eksplorasi *B. thuringiensis* dari perkebunan teh di Gambung, Jawa Barat dilakukan pada dua blok area kebun teh yaitu area A1 dan area B3 masing-masing diambil pada lima titik yang berbeda. Selain itu, juga dilakukan pengambilan sampel ulat yang diduga terinfeksi *B. thuringiensis*. Dari kesepuluh contoh tanah yang diambil dari Gambung didapatkan 10 isolat yang diduga merupakan *B. thuringiensis* berdasarkan karakter morfologi koloni.

Pada tahap selanjutnya isolat yang diperoleh diuji pembentukan kristal proteinnya. Hasil pengujian menunjukkan bahwa terdapat 4 isolat yang dapat membentuk kristal protein. Isolat ini selanjutnya diperbanyak untuk pengujian toksisitas terhadap ulat jengkal. Gambar 1 menunjukkan hasil mikroskop pemindai elektron (SEM) dari dua isolat *B. thuringiensis* yang dilakukan di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Bogor.



Gambar 1. SEM *B. thuringiensis* isolat 1 (kiri) dan isolat 2 (kanan) yang diuji.
Figure 1. SEM of the tested *B. thuringiensis* isolate 1 (left) and isolate 2 (right).

Formulasi *B. thuringiensis*

Formulasi bioinsektisida berbasis mikroba ditujukan untuk meningkatkan nilai, efisiensi dan keefektifan dari bahan aktif yang digunakan (Ash, 2010; Behle & Birthisel, 2014). Formulasi bioinsektisida yang dikembangkan pada penelitian ini adalah dalam bentuk padat dan cair.

Ash (2010) melaporkan bahwa komponen formulasi biopestisida secara umum terdiri atas tiga bagian, yakni bahan aktif, bahan pembawa, dan *adjuvant*. Berdasarkan kriteria kadar air dan tekstur produk bioinsektisida, volume optimum bahan aktif *B. thuringiensis* untuk kaolin adalah 5%, sedangkan untuk *white clay* dan *brown clay* masing-masing adalah 5%, dan 1,5%. Perbedaan volume optimum pada ketiga bahan pembawa kemungkinan disebabkan kemampuan masing-masing lempung tersebut dalam mengikat larutan. Kaolin dan *white clay* mampu mengikat cairan lebih banyak dibandingkan dengan *brown clay* (Bergaya & Lagaly, 2013). Volume optimum yang diperoleh pada masing-masing jenis lempung selanjutnya diuji untuk formulasi bioinsektisida *B. thuringiensis* bubuk.

Hasil pengujian viabilitas *B. thuringiensis* menunjukkan bahwa populasi *B. thuringiensis* dalam bahan pembawa *brown clay* - gom arab dan *brown clay* + gom arab adalah sama yaitu 10^6 , demikian pula populasi *B. thuringiensis* dalam bahan pembawa kaolin - gom arab dan kaolin + gom arab, sedangkan pada formula bioinsektisida *B. thuringiensis* dengan bahan pembawa *white clay* - gom arab dan *white clay* + gom arab adalah masing-masing $4 \cdot 10^6$ dan $1 \cdot 10^6$ (Tabel 1). Hasil ini menunjukkan bahwa ketiga bahan lempung tersebut dapat digunakan sebagai bahan pembawa produk bioinsektisida *B. thuringiensis*. Selain itu,

nampaknya penambahan gom arab tidak mempengaruhi populasi *B. thuringiensis*.

Viabilitas *B. thuringiensis* dalam formula cair pada osmoprotektan natrium khlorida - *Tween*®20 dan natrium chlorida + *Tween*®20 masing-masing adalah $34 \cdot 10^6$ dan $29 \cdot 10^6$. Untuk perlakuan maltosa - *Tween*®20 dan maltosa + *Tween*®20 masing-masing adalah $52 \cdot 10^6$ dan $48 \cdot 10^6$ (Tabel 2). Hasil ini menunjukkan bahwa pemberian osmoprotektan maltosa untuk menjaga viabilitas *B. thuringiensis* lebih baik daripada NaCl. Penambahan *Tween*®20 menghasilkan bioinsektisida yang lebih jernih dibandingkan dengan tanpa pemberian *Tween*®20. Bougouffa *et al.* (2014) melaporkan bahwa senyawa gula seperti sukrosa dan trehalosa dapat digunakan sebagai osmoprotektan. Osmoprotektan bagi mikroba berfungsi sebagai senyawa yang dapat menjaga stabilitas volume sel dan tekanan turgor untuk aktivitasnya pada suatu larutan. Dalam penelitian ini digunakan maltose yang juga merupakan senyawa gula.

Pengujian toksisitas formula biopestisida *B. thuringiensis* pada skala rumah kaca

Dalam penyiapan larva dilakukan terlebih dahulu pengambilan ulat jengkal dari perkebunan teh. Jumlah ulat jengkal *H. talaca* yang diambil sebanyak 20 ekor dengan berbagai tahapan instar (tahapan pergantian kulit) sampai instar 5. Selanjutnya ulat yang didapat diperbanyak di rumah kaca. Perbanyak ulat jengkal dilakukan dalam sangkar yang terbuat dari kayu berukuran 70cm x 70cm x 100cm kemudian ditutupi oleh kain kasa (Gambar 2). Dalam sangkar tersebut diletakkan tanaman teh dewasa yang tidak pernah disemprot insektisida. Ulat jengkal sebanyak 20 ekor diletakkan pada pohon teh. Hasil pengamatan

Tabel . Populasi *B. thuringiensis* dalam masing masing-formula padat.

Table 1. *B. thuringiensis* population on each solid formulation.

Perlakuan (Treatment)		Populasi <i>B. thuringiensis</i> (<i>B. thuringiensis</i> population)
Bahan pembawa (<i>carrier</i>)	Gom arab (<i>Arabic gum</i>)	
Brown clay	tanpa (<i>without</i>)	10^6
Brown clay	dengan (<i>with</i>)	10^6
Kaolin	tanpa (<i>without</i>)	10^6
Kaolin	dengan (<i>with</i>)	10^6
White clay	tanpa (<i>without</i>)	$4 \cdot 10^6$
White clay	dengan (<i>with</i>)	10^6

Tabel 2. Populasi *B. thuringiensis* dalam masin –masing formula cair

Table 2. *B. thuringiensis* population in each liquid formula

Perlakuan (treatment)		Populasi <i>B. thuringiensis</i> (<i>B. thuringiensis</i> population)
Osmoprotektan	Pengemulsi (<i>emulsifier</i>) <i>Tween</i> ®20	
NaCl	tanpa (<i>without</i>)	$34 \cdot 10^6$
NaCl	dengan (<i>with</i>)	$29 \cdot 10^6$
Maltosa	tanpa (<i>without</i>)	$52 \cdot 10^6$
Maltosa	dengan (<i>with</i>)	$48 \cdot 10^6$

menunjukkan bahwa lamanya pergantian kulit dari instar awal sampai instar selanjutnya membutuhkan waktu 5 hari. Pergantian instar ditandai dengan berubahnya warna kulit yang semula coklat kehitaman menjadi hitam bercorak putih dan bertambahnya panjang larva. Jumlah larva yang berubah menjadi pupa hanya sebanyak 10 ekor, hal tersebut diduga disebabkan oleh kondisi lingkungan yang tidak sesuai bagi perkembangan dan pertumbuhan ulat jengkal.

Pupa (kepompong) diletakkan ditumpukan daun kering (serasah) di dalam pot. Waktu yang dibutuhkan larva instar 5 untuk menjadi pupa adalah 6 hari. Pupa kemudian diambil dan dipindahkan ke dalam stoples untuk perkembangan imago (ngengat) (Gambar 3). Pupa yang telah menjadi imago kemudian diberikan madu 10% sebagai sumber nutrisi. Waktu yang dibutuhkan pupa menjadi ngengat adalah 7 hari. Ngengat betina mempunyai ovipositor (bagian dari abdomen yang berfungsi untuk menaruh telur) dan memiliki ukuran tubuh relatif lebih besar daripada jantan. Tempat untuk bertelur disiapkan dari bambu atau kayu yang telah diberi rongga. Rongga

tersebut digunakan oleh ngengat untuk meletakkan telur yang diletakan secara berkelompok (Gambar 4). Telur berwarna hijau dan dilindungi oleh kokon seperti kapas berwarna kuning kusam. Setelah menetas, ulat jengkal selanjutnya digunakan untuk pengujian toksisitas *B. thuringiensis* skala semi lapang.

Pengujian toksisitas isolat *B. thuringiensis* dilakukan di rumah kaca. Pada tahap awal disiapkan botol kaca berisi larutan fisiologis dan tangkai pucuk teh. Suspensi *B. thuringiensis* yang telah disiapkan, insektisida kimia, dan bioinsektisida *B. thuringiensis* komersial disemprotkan pada pucuk teh dan dikering-anginkan. Pucuk teh yang telah diberi perlakuan dimasukkan ke dalam kotak kaca bersama dengan 10 larva ulat jengkal kemudian ditutup kain kasa (Gambar 5). Kotak kaca berisi tanaman perlakuan yang telah ditutup dengan kain kasa disusun secara acak kelompok. Pengamatan dilakukan hingga 10 hari terhadap jumlah kematian larva dan residu sipermetrin dalam pucuk teh yang telah diberi perlakuan. Tingkat kematian larva *H. talaca* terdapat pada Tabel 3.



Gambar 2. Pohon teh sebagai pakan ulat jengkal (A), Ulat jengkal instar 6 pada kotak perbanyakannya (B).

Figure 2. Tea plant as feed for black looper larvae (A). 6th instar of black looper larvae in a rearing cage (B).



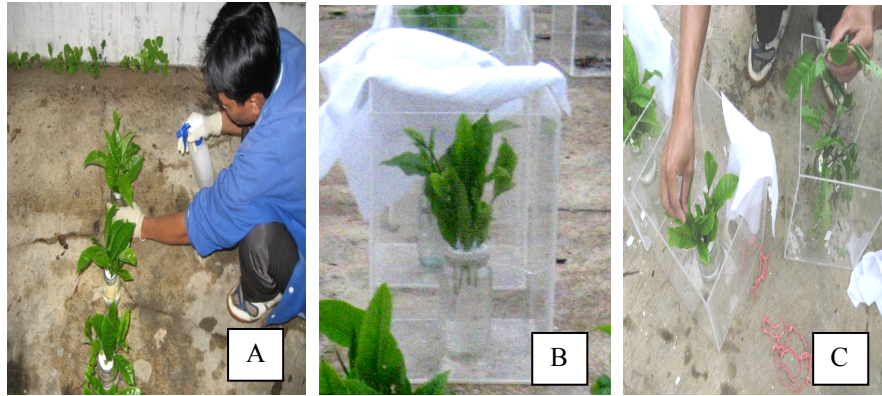
Gambar 3. Pupa ulat jengkal berwarna coklat tua (1,5 cm) (A), Imago (ngengat) ulat jengkal betina (2 cm) (B).

Figure 3. Pupae of black looper was old brown (1.5cm) (A). Imago of female black looper (2 cm) (B).



Gambar 4. Tempat perbanyakannya imago dan pupa (A), Imago (ngengat) ulat jengkal betina sedang meletakkan telur di rongga bambu (B).

Figure 4. Rearing cage for pupae and imago (A). Imago of female black looper was laying egg on bamboo stacks (B).



Gambar 5. Penyemprotan bioinsektisida (A), peletakkan pucuk teh dalam kotak uji (B) dan peletakkan 10 larva pada pucuk teh (C).

Figure 5. Bioinsecticide spraying (A), tea shoots inside treatment cage. (B), and introduction of 10 black looper larvae on tea shoots (C).

Tabel 3. Persentase kematian larva ulat jengkal tiap hari pengamatan (rerata dari 4 ulangan).

Table 3. Percentage of tea looper's larvae mortality everyday (means of four replications).

Perlakuan/ Treatment	Persen kematian hari ke- Mortality percentage on days- (%)					
	1	2	3	4	5	6
Kontrol Control	0	0	0	0	0	0
Sipermetrin Cypermethrin	86	96	100	100	100	100
Bt komersial I Commercial Bt I	15	27,5	32,5	52,5	65	75
Bt komersial II Commercial Bt II	0	0	5	12,5	20	45
Bt percobaan Treatment Bt	0	0	5	7,5	22,5	37,5

Hasil pengujian menunjukkan bahwa tidak terdapat kematian pada larva *H. talaca* yang tidak diperlakukan dengan insektisida (Tabel 1). Kematian larva yang terjadi akibat penyemprotan dengan insektisida sipermetrin sudah terlihat sejak hari pertama dan terus meningkat hingga akhirnya mencapai 100% pada hari ketiga. Hasil ini menunjukkan bahwa insektisida kimia sangat efektif dalam mematikan larva ulat jengkal. Insektisida berbahan aktif sipermetrin termasuk ke dalam kelompok piretroid yang bersifat sangat toksik terutama untuk serangga dari kelompok Lepidoptera (Biondi *et al.*, 2015; Pietrantonio *et al.*, 2014). Namun, penggunaan insektisida berbahan aktif piretroid sintesis ini memicu terjadinya resistensi hama target yang telah terjadi pada beberapa jenis hama penting dari kelompok Lepidoptera seperti *Helicoverpa armigera*, *Spodoptera litura*, dan *S. exigua* (Han *et al.*, 2011; Pietrantonio *et al.*, 2014; Zhou *et al.*, 2012).

Pada penggunaan bioinsektisida berbahan aktif *B. thuringiensis* komersial ditunjukkan bahwa kematian larva mulai terjadi pada hari pertama.

Namun demikian kematian larva lebih rendah dibandingkan dengan kematian larva yang disebabkan insektisida kimia dan pada pengamatan hari ke-6, kematian larva yang terjadi adalah 75%. Namun demikian berbeda dengan bioinsektisida komersial I, kematian larva pada penggunaan bioinsektisida komersial II terjadi pada hari ke-3 dan hingga hari ke-6 terjadi kematian larva sebesar 45%. Bioinsektisida berbahan aktif *B. thuringiensis* hasil percobaan menunjukkan kematian larva terjadi mulai hari ke-3 dan hingga hari ke-6 terjadi kematian larva sebesar 37,5%. Hasil ini menunjukkan bahwa insektisida kimia memiliki efektivitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan bioinsektisida berbahan aktif *B. thuringiensis*. Hal ini dikarenakan bioinsektisida *Bt* memiliki lima tahap dalam proses interaksi dengan larva, yaitu 1) pelarutan, 2) proteolisis, 3) pengikatan ke sistem pencernaan, 4) terbentuknya pori, dan 5) kematian larva (Chattopadhyay *et al.*, 2017). Dengan proses yang panjang ini menyebabkan proses kematian larva melalui aplikasi bioinsektisida *B. thuringiensis*

tidak secepat pestisida kimia. Selain itu, dalam formulasi bioinsektisida *B. thuringiensis* terdapat dua bentuk organ yaitu kristal protein yang dapat langsung bereaksi ketika dimakan larva dan spora yang memerlukan waktu untuk berkecambah dan membentuk kristal protein sebelum berinteraksi dengan larva.

Keefektifan bioinsektisida berbahan aktif *B. thuringiensis* komersial lebih tinggi dibandingkan dengan bioinsektisida hasil percobaan. Kurang efektifnya bioinsektisida *B. thuringiensis* hasil percobaan kemungkinan dapat disebabkan oleh 1) lebih rendahnya jumlah kristal protein, 2) lebih rendahnya toksisitas kristal protein dan 3) formulasi yang kurang optimum. Pardo-Lopez *et al.* (2009) mengemukakan bahwa peningkatan efektivitas bioinsektisida Bt dapat dilakukan dengan penambahan *enhancer* dan protein Bt. Damalas dan Koutroubas (2018) mengemukakan bahwa secara umum peningkatan efektivitas biopestisida dapat dilakukan melalui mikroenkapsulasi berdasarkan teknologi nano sehingga akan meningkatkan penggunaannya di lapang.

Kesimpulan

Telah dikembangkan formulasi bioinsektisida padat (bubuk) dan cair berbahan aktif *B. thuringiensis*, namun keefektifannya masih lebih rendah jika dibandingkan dengan insektisida kimia dan bioinsektisida Bt komersial. Hal ini diduga disebabkan belum optimalnya formulasi yang digunakan.

Saran

Peningkatan efikasi bioinsektisida *B. thuringiensis* dapat dilakukan melalui perbaikan formulasinya untuk meningkatkan stabilitasnya sehingga paparan sinar matahari tidak menurunkan aktivitas kristal protein demikian pula degradasi oleh mikroorganisme.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih ditujukan kepada Ir. Wahyu Widayat, MS dan Ir. Suharyanto, MS atas masukan dan saran sehingga penelitian ini dapat berjalan dengan baik.

Daftar Pustaka

Ash G (2010). The science, art and business of successful bioherbicides. *Biological Control* 52(3), 230-240.

Behle R & T Birthisel (2014). Formulations of entomopathogens as bioinsecticides. In, *Mass Production of Beneficial Organisms*. Belanda, Elsevier. p. 483-517

Bergaya F & G Lagaly (2013) *Handbook of clay science*. UK, Newnes.

Best H (2010). Environmental concern and the adoption of organic agriculture. *Society Natural Resources* 23(5), 451-468.

Biondi A, L Zappalà, N Desneux, A Aparo, G Siscaro, C Rapisarda, T Martin & G Tropea Garzia (2015). Potential toxicity of α -cypermethrin-treated nets on *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Journal of economic entomology* 108(3), 1191-1197.

Blessing LDT, OÁ Colom, S Popich, A Neske & A Bardón (2010). Antifeedant and toxic effects of acetogenins from *Annona montana* on *Spodoptera frugiperda*. *Journal of Pest Science* 83(3), 307-310.

Bougouffa S, A Radovanovic, M Essack & VB Bajic (2014). DEOP: a database on osmoprotectants and associated pathways. *Database* 2014(2014), p100.

Bravo A, SS Gill & M Soberon (2007). Mode of action of *Bacillus thuringiensis* Cry and Cyt toxins and their potential for insect control. *Toxicon* 49(4), 423-435.

Chattopadhyay P, G Banerjee & S Mukherjee (2017). Recent trends of modern bacterial insecticides for pest control practice in integrated crop management system. *Biotech* 7(1), 60.

Cranfield J, S Henson & J Holliday (2010). The motives, benefits, and problems of conversion to organic production. *Agriculture Human Values*, 27(3), 291-306.

Damalas C & S Koutroubas (2018). Current status and recent developments in biopesticide use. *Agriculture* 8(1), 13

Dashora K, S Roy, A Nagpal, SM Roy, J Flood, AK Prasad, R Khetarpal, S Neave & N Muraleedharan (2017). Pest management through *Bacillus thuringiensis* (Bt) in a tea-silkworm ecosystem: status and potential prospects. *Applied Microbiology Biotechnology* 101(5), 1795-1803.

Doanh N, N Thuong & Y Heo (2018). Impact of conversion to organic tea cultivation on household income in the mountainous areas of Northern Vietnam. *Sustainability* 10(12), 4475.

Guthman J (2014). *Agrarian dreams: The paradox of organic farming in California*. USA, Univ of California Press, 2014,

Han W-S, S-F Zhang, F-Y Shen, H-J Zhang & X-W Gao (2011). Sublethal effects of beta-cypermethrin on abamectin-resistant and susceptible population of diamondback moth *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *J Environ Entomol* 33, 335-341.

Johler S, EM Kalbhenn, N Heini, P Brodmann, M Bağcıoğlu, M Contzen, R Stephan & M Ehling-

- Schulz (2018). Enterotoxin production of *Bacillus thuringiensis* isolates from biopesticides, foods, and outbreaks. *Frontiers in microbiology* 9,1915.
- Karki L, R Schleenbecker & U Hamm (2011). Factors influencing a conversion to organic farming in Nepalese tea farms. *Journal of Agriculture Rural Development in the Tropics Subtropics* 112(2), 113-123.
- Läpple D (2010). Adoption and abandonment of organic farming: an empirical investigation of the Irish drystock sector. *Journal of Agricultural Economics* 61(3), 697-714.
- Mamun M & M Ahmed (2011). Integrated pest management in tea: prospects and future strategies in Bangladesh. *The Journal of Plant Protection Sciences* 3(2), 1-13.
- Meissle M, J Romeis & F Bigler (2011). Bt maize and integrated pest management-a European perspective. *Pest Management Science* 67(9), 1049-1058.
- Mzoughi N (2011). Farmers adoption of integrated crop protection and organic farming: Do moral and social concerns matter? *Ecological Economics* 70(8), 1536-1545.
- Pardo-Lopez L, C Munoz-Garay, H Porta, C Rodríguez-Almazán, M Soberón & A Bravo (2009). Strategies to improve the insecticidal activity of Cry toxins from *Bacillus thuringiensis*. *Peptides* 30(3), 589-595.
- Peralta C & L Palma (2017). Is the insect world overcoming the efficacy of *Bacillus thuringiensis*? *Toxins* 9(1), 39.
- Pietrantonio P, T Junek, R Parker, D Mott, K Siders, N Troxclair, J Vargas-Camplis, J Westbrook & V Vassiliou (2014). Detection and evolution of resistance to the pyrethroid cypermethrin in *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) populations in Texas. *Environmental Entomology* 36(5), 1174-1188.
- Pimentel D & M Burgess (2014). An environmental, energetic and economic comparison of organic and conventional farming systems. In, *Integrated Pest Management*. Jerman, Springer. p.141-166
- Sanahuja G, R Banakar, RM Twyman, T Capell & P Christou (2011). *Bacillus thuringiensis*: a century of research, development and commercial applications. *Plant Biotechnology Journal* 9(3), 283-300.
- Travers RS, PA Martin & CF Reichelderfer (1987). Selective process for efficient isolation of soil *Bacillus* spp. *Appl Environ Microbiol* 53(6), 1263-1266.
- Van Frankenhuyzen K (2009). Insecticidal activity of *Bacillus thuringiensis* crystal proteins. *Journal of invertebrate pathology* 101(1), 1-16.
- Zacharia JT (2011). Ecological effects of pesticides. In, *Pesticides in the Modern World-Risks and Benefits*. UK, InTechOpen. p131-142.
- Zhou J, Y Shu, G Zhang & Q Zhou (2012). Lead exposure improves the tolerance of *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) to cypermethrin. *Chemosphere* 88(4), 507-513.