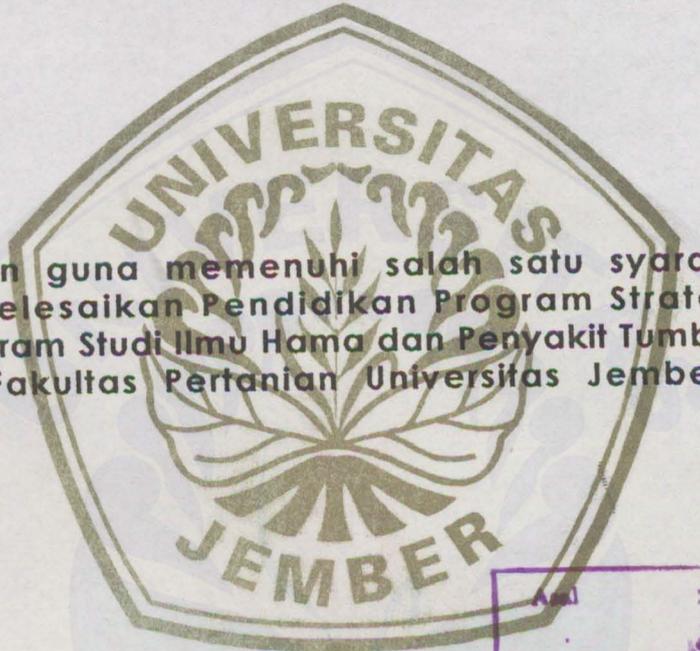




UJI VIRULENSI SIMBION NEMATODA ENTOMOPATOGEN :  
*Xenorhabdus nematophilus* DAN *Photorhabdus luminiscens*  
TERHADAP LARVA KUMBANG TEBU, *Lepidiotia stigma* (F.)

KARYA ILMIAH TERTULIS  
(SKRIPSI)

Diajukan guna memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Pendidikan Program Strata Satu Program Studi Ilmu Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Jember



Oleh :

**SRI KUNDARI ASTUTIK**  
NIM : F1E195233

Asal	: Hadiah	Kl
	: Pembelian	6
Terima Tgl:	29 JUN 2000	121
No. Induk :	PT.2000.10.2128	

SRS  
S  
632.651  
AST  
M  
c.1

FAKULTAS PERTANIAN UNIVERSITAS JEMBER  
Juni 2000

**PEMBIMBING:**

**Ir. RACHMI MASNILAH, MS. (DPU)**

**Ir. SAIFUDDIN HASJIM, MP. (DPA)**

Diterima oleh :

**Fakultas Pertanian Universitas Jember**

Sebagai :

**Karya Ilmiah Tertulis (Skripsi)**

**Dipertahankan pada :**

Hari : Jum'at

Tanggal : 9 Juni 2000

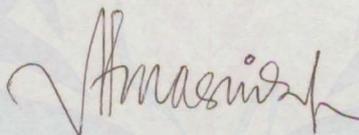
Pukul : 7.30 BBWI

Tempat : Fakultas Pertanian

Universitas Jember

**Tim Penguji**

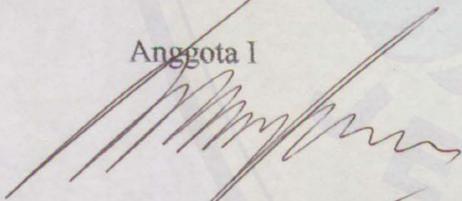
Ketua



Ir. Rachmi Masnilah, MS.

NIP. 131 759 539

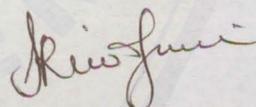
Anggota I



Ir. Saifuddin Hasjim, MP.

NIP. 131 832 329

Anggota II

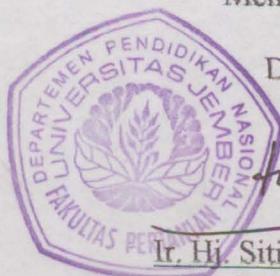


Dr. Ir. Wiwik Sri Wahyuni, MS.

NIP. 130 875 932

Mengesahkan

Dekan,



Ir. Hj. Siti Hartanti, MS.

NIP. 130 350 763

**Karya sederhana ini aku persembahkan kepada :**

- ⇒ **BAPAK** dan **IBU** tercinta terima kasih untuk segala kasih sayang, perhatian, pengorbanan dan do'anya.
- ⇒ Mas "**BIB**" terima kasih atas segala kasih, kesetiaan dan perhatiannya padaku
- ⇒ **Tim Uret** Trim's atas kekompakan dan kebersamaannya selama ini.
- ⇒ Teman-teman seperjuangan di "**Kost Merak Barat**" : **Tinike, Erni, Dian, Dinong, Ninik, Hesti, Dyah dan seluruh adik kostku** yang tak bisa kusebut satu persatu, terima kasih semuanya.
- ⇒ **Almamaterku** tercinta.

## KATA PENGANTAR

Alhamdulillah penulis panjatkan puji syukur kehadirat Allah SWT. atas karunia dan rahmat yang dilimpahkan. Berkat karunia Allah SWT semata penelitian dan penulisan karya tulis ilmiah (Skripsi) dengan judul "**Uji Virulensi Bakteri Symbion Nematoda Entomopatogen : *Xenorhabdus nematophilus* Dan *Photorhabdus luminescens* Terhadap Larva Kumbang Tebu, *Lepidiotia stigma* (F).**" dapat terselesaikan.

Keberhasilan penulisan karya ilmiah ini tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak, maka pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. **Ir. Rachmi Masnilah, MS.** dan **Ir. Saifuddin Hasjim, MP.** selaku Dosen Pembimbing Utama (DPU) dan Dosen Pembimbing Anggota (DPA) yang telah banyak membantu memberikan motivasi serta membimbing dalam penelitian dan penulisan Karya Ilmiah Tertulis ini.
2. **Ir. Hj. Siti Hartanti, MS.** selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Jember
3. **Ir. Sutjipto, MS.** selaku Ketua Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Jember.
4. Seluruh Dosen dan Staf Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Jember.
5. PG Ngadirejo Kediri dan PG Semboro Jember yang telah bekerjasama dalam penelitian ini.
6. Semua pihak yang telah membantu selama penelitian ini berlangsung.

Penulis berharap semoga Karya Ilmiah Tertulis ini bermanfaat bagi semua pihak. Semoga amal baik bapak-bapak dan saudara sekalian di terima oleh Tuhan Yang Maha Esa.

Jember, Juni 2000

Penulis

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR .....	v
DAFTAR ISI .....	vi
DAFTAR TABEL .....	viii
DAFTAR GAMBAR .....	ix
DAFTAR GRAFIK .....	x
ABSTRAK .....	xi
RINGKASAN .....	xii
<b>I. PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang Permasalahan .....	1
1.2 Tujuan dan Kegunaan .....	3
1.2.1 Tujuan .....	3
1.2.2 Kegunaan .....	3
1.3 Hipotesis .....	3
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Biologi <i>Lepidiota stigma</i> F. ....	4
2.1.1 Morfologi .....	4
2.1.2 Siklus hidup .....	5
2.2 Arti Ekonomi <i>L. stigma</i> pada Tanaman Tebu .....	6
2.3 Asosiasi Nematoda Entomopatogen dengan Bakteri .....	7
2.4 Bakteri <i>Xenorhabdus</i> spp .....	8
2.5 Patogenesitas <i>X. nematophilus</i> dan <i>P. luminescens</i> Terhadap Serangga Hama .....	9

III. BAHAN DAN METODE PENELITIAN	
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian.....	10
3.2 Bahan dan Alat Penelitian.....	10
3.3 Metode Penelitian .....	10
3.3.1 Perbanyakkan Nematoda Entomopatogen <i>S. carpocapsae</i> dan <i>H. indicus</i> .....	10
3.3.2 Isolasi Bakteri.....	11
3.3.3 Identifikasi Bakteri dengan Uji Fisiologis.....	11
3.3.4 Pengambilan Larva <i>L. stigma</i> .....	14
3.3.5 Pengujian Virulensi Bakteri <i>X. nematophilus</i> dan <i>P. luminescens</i> Terhadap larva <i>L. stigma</i> .....	14
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Morfologi Bakteri .....	16
4.2 Identifikasi Bakteri Berdasarkan Uji Fisiologis.....	18
4.3 Uji Virulensi Bakteri <i>X. nematophilus</i> dan <i>P. luminescens</i> Terhadap Larva <i>L. stigma</i> .....	22
V. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan .....	27
5.2 Saran.....	27
DAFTAR PUSTAKA .....	28
LAMPIRAN.....	32

DAFTAR TABEL

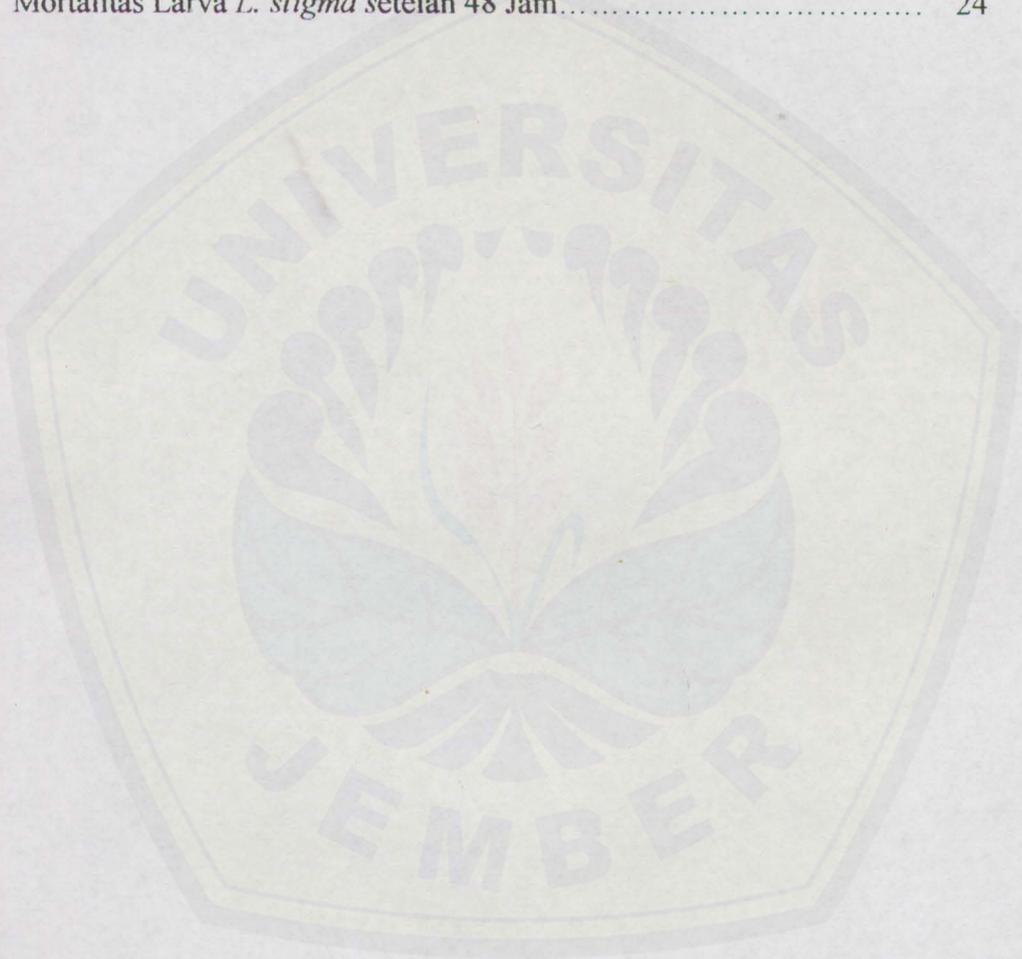
No.	Teks	Halaman
1.	Hasil Pengamatan Karakteristik Morfologi Koloni Bakteri pada Beberapa Media.....	16
2.	Hasil Pengujian Sifat-sifat Fisiologis Bakteri.....	18
3.	Rata-rata mortalitas larva <i>L. stigma</i> yang disebabkan oleh <i>X. nematophilus</i> dan <i>P. luminescens</i> dengan dua perlakuan setelah 48 jam.....	22
4.	Nilai $LC_{50}$ <i>X. nematophilus</i> dan <i>P. luminescens</i> terhadap larva <i>L. stigma</i> Setelah 48 Jam .....	25

DAFTAR GAMBAR

No.	Teks	Halaman
1.	Metode <i>White trap</i> untuk Perbanyakkan Nematoda Entomopatogen <i>S. carpocapsae</i> dan <i>H. indicus</i> .....	11
2.	Hasil Isolasi Bakteri ; A. Bakteri dari <i>T. molitor</i> + <i>S. carpocapsae</i> , B. Bakteri dari <i>T. molitor</i> + <i>H. indicus</i> .....	17
3.	Bentuk Sel Bakteri (primer)Secara Mikroskopis (perbesaran 1000 X); A. Bakteri dari <i>T. molitor</i> + <i>S. carpocapsae</i> , B. Bakteri dari <i>T. molitor</i> + <i>H. indicus</i> .....	17
4.	Hasil Uji Oksidatif-Fermentatif; A. Oksidatif Positif (tidak ditutup), B. Fermentatif Positif (ditutup) .....	19
5.	Hasil Uji Hidrolisis Pati (negatif); A. Bakteri dari <i>T. molitor</i> + <i>S. carpocapsae</i> , B. Bakteri dari <i>T. molitor</i> + <i>H. indicus</i> .....	20
6.	Hasil Uji Bioluminenscens pada Larva <i>L. stigma</i> ; A. Sehat, B. terinfeksi oleh bakteri A, C. terinfeksi olah bakteri B.....	21

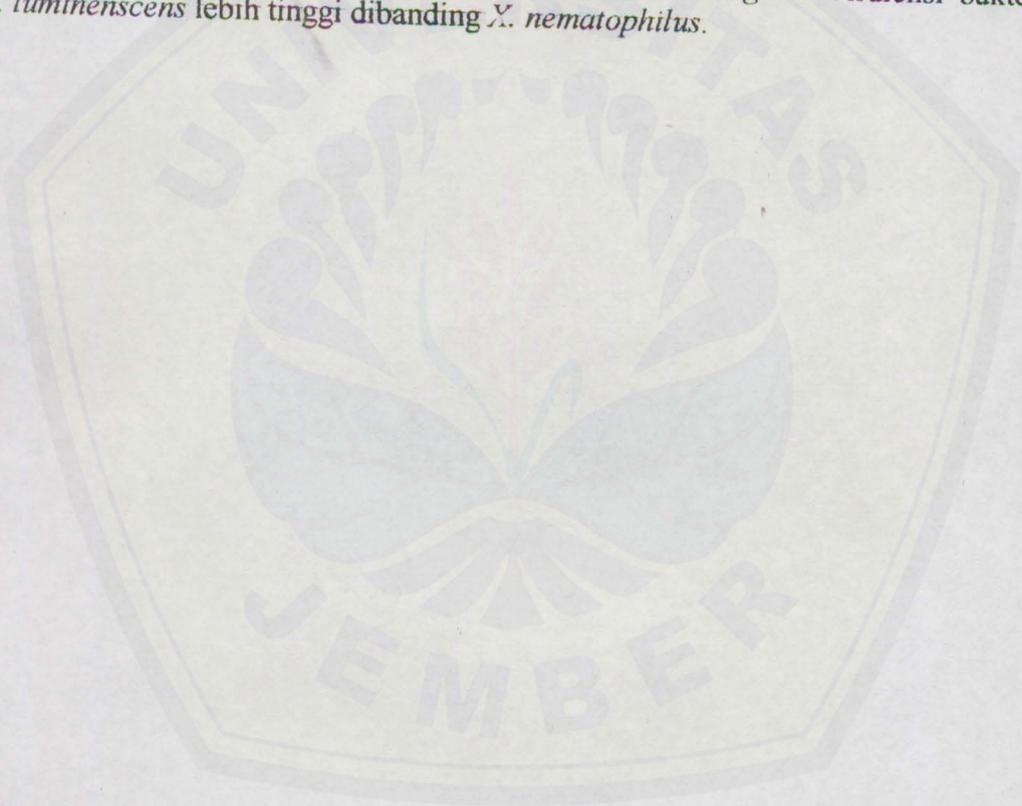
DAFTAR GRAFIK

No.	Teks	Halaman
1.	Hubungan antara Konsentrasi Bakteri <i>X. nematophilus</i> terhadap Mortalitas Larva <i>L. stigma</i> setelah 48 Jam .....	23
2.	Hubungan antara Konsentrasi Bakteri <i>P. luminiscens</i> terhadap Mortalitas Larva <i>L. stigma</i> setelah 48 Jam.....	24



ABSTRAK

*Lepidiota stigma* F. merupakan hama utama pada tanaman tebu. Usaha pengendalian yang dilakukan selama ini masih bertumpu pada pengendalian kimiawi dan mekanis. Cara tersebut kurang efektif sehingga perlu cara pengendalian yang efektif dan aman bagi lingkungan. Penggunaan nematoda entomopatogen (NEP) untuk pengendalian hama mempunyai potensi tinggi. NEP dari golongan *Steinernema* spp. dan *Heterorabditis* spp. bersimbiose dengan bakteri *Xenorhabdus* spp. Bakteri simbiosis NEP memproduksi toksin dengan aktivitas insektisida yang berperan dalam proses kematian serangga. *Xenorhabdus nematophilus* dan *Photorhabdus luminescens* yang diinokulasikan secara dermal dan oral terhadap *L. stigma* menunjukkan bahwa kedua spesies bakteri bersifat virulen terhadap serangga tersebut dengan nilai  $LC_{50}$  *X. nematophilus* 57 dan 189,71 sel dan *P. luminescens* 46,922 dan 178,64 sel. Ada korelasi positif antara konsentrasi bakteri dengan mortalitas larva *L. stigma*. Virulensi bakteri *P. luminescens* lebih tinggi dibanding *X. nematophilus*.



RINGKASAN

Sri Kundari Astutik, NIM. F1E195233, Uji Virulensi Bakteri Symbion Nematoda Entomopatogen: *Xenorhabdus nematophilus* dan *Photorhabdus luminescens* Terhadap Larva Kumbang Tebu, *Lepidiota stigma* F. Dosen Pembimbing Utama (DPU) Ir. Rachmi Masnilah, MS. dan Dosen Pembimbing Anggota (DPA) Ir. Saifuddin Hasjim, MP.

Produktivitas tebu di Indonesia masih rendah bila dibandingkan dengan kebutuhan gula. Salah satu kendala dalam usaha peningkatan produksi gula ini adalah adanya serangan hama, penyakit dan gulma. *Lepidiota stigma* F. merupakan hama utama pada tanaman tebu karena dapat menurunkan produksi gula sebesar 80 – 100%. Usaha pengendalian selama ini adalah kimiawi dan mekanis sehingga kurang efektif dan dapat membahayakan lingkungan.

Nematoda entomopatogen (NEP), *Steinernema carpocapsae* dan *Heterorhabditis indicus* sebagai agensia hayati berpotensi mengatasi masalah hama. Nematoda tersebut bersimbiose dengan bakteri *Xenorhabdus nematophilus* dan *Photorhabdus luminescens* karena bakteri menghasilkan toksin yang bersifat insektisidal terhadap serangga. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui virulensi bakteri tersebut terhadap larva *L. stigma* di laboratorium.

Penelitian dilakukan di laboratorium Perlindungan Tanaman, Jurusan Ilmu Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Jember. Metode Penelitian meliputi perbanyakan NEP, isolasi bakteri dan identifikasi dengan uji fisiologis, pengumpulan larva *L. stigma* dan uji virulensi bakteri dengan cara dermal (injeksi) dan oral (pakan) dengan konsentrasi 0, 5000, 16000, 27000, 38000, dan 49000 sel/ml. Jumlah larva 30 tiap konsentrasi. Mortalitas larva dianalisa varian dan dilanjutkan dengan uji Duncan ( $P < 0,05$ ) analisis regresi dilakukan untuk mengetahui korelasi antara peningkatan konsentrasi terhadap mortalitas larva, sedangkan untuk mengetahui nilai  $LC_{50}$  dilakukan analisa Probit,

Hasil uji virulensi menunjukkan bahwa bakteri *X. nematophilus* dan *P. luminescens* bersifat virulen terhadap larva *L. stigma* dengan mortalitas larva pada konsentrasi 49000 sel/ml yaitu *X. nematophilus* mencapai 96,67% (dermal) dan 83,3% (oral), sedangkan *P. luminescens* mencapai 93,3% (dermal) dan 86,67% (oral). Virulensi *P. luminescens* lebih tinggi dari *X. nematophilus* terhadap larva *L. stigma* karena nilai  $LC_{50}$  lebih kecil, yaitu *X. nematophilus* mencapai 57 sel (dermal) dan 189,71 sel (oral), sedangkan *P. luminescens* mencapai 46,922 sel (dermal) dan 178,64 sel (oral). Terdapat korelasi positif antara penambahan konsentrasi bakteri terhadap mortalitas larva.

Virulensi bakteri *P. luminescens* dan *X. nematophilus* terhadap larva *L. stigma* dilaboratorium cukup tinggi, tetapi perlu penelitian lebih lanjut mengenai virulensinya di lapang dan bagaimana bakteri bisa mempertahankan virulensinya.

(Program Studi Ilmu Hama Dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian Universitas Jember, Mei 2000)

## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang Permasalahan

Tebu (*Saccharum officinarum*) merupakan tanaman penghasil gula utama. Kebutuhan gula di Indonesia dari tahun ketahun semakin meningkat (Hubbard, *et.al.*,1989). Meningkatnya konsumsi gula ini disebabkan oleh bertambahnya jumlah penduduk, peningkatan pendapatan penduduk, dan bertambahnya industri yang memerlukan bahan baku berupa gula. Untuk memenuhi kebutuhan masyarakat akan gula selama ini negara Indonesia harus mengimpor dari negara lain. Cara tersebut kurang tepat, sedangkan cara yang paling baik yaitu dengan meningkatkan produksi gula dalam negeri (Anonim, 1995).

Salah satu kendala dalam peningkatan produksi gula adalah adanya serangan hama, penyakit dan gulma. Beberapa jenis hama yang menyerang tanaman tebu adalah penggerek batang, penggerek pucuk, tikus, dan uret. Jenis uret yang dikenal sebagai hama utama pada tanaman tebu yaitu *Lepidiota stigma* F. Pada umumnya serangan *L. stigma* pada tanaman tebu bersifat "patchy" tetapi bisa menurunkan hasil sebesar 80 hingga 100% selama serangan bersifat endemik (Patil *et. al.*, (1981), dalam Kalshoven, 1981). Selain tanaman tebu, sasaran serangan *L. stigma* adalah tanaman kakao, kopi, karet, nanas dan lain-lain (Kalshoven, 1981). Serangan *L. stigma* pada tanaman kakao dapat mengakibatkan kematian 92,24% tanaman kakao yang belum menghasilkan berumur 1-2 tahun (Priatno, 1987).

Hingga kini usaha untuk mengendalikan *L. stigma* adalah dengan cara mekanis dan kimiawi. Cara mekanis yaitu dengan mengumpulkan uret dan menangkap imago dengan lampu perangkap. Cara ini kurang efektif terutama pada stadia larva dan dalam areal yang luas. Umumnya yang dilakukan oleh petani adalah pengendalian dengan cara kimiawi. Suhartawan (1995) menyebutkan bahwa pengendalian secara kimiawi dengan aplikasi 28 kg/ha Chlor pyrifos 14 G dengan formulasi "slow release" cukup efektif, tetapi karena harganya yang mahal sehingga tidak terjangkau oleh petani TRI. Menurut Pracaya (1992) ketiadaan

yang dilakukan oleh petani, jika serangan makin meningkat maka cenderung menggunakan insektisida dengan dosis, frekwensi aplikasi yang tinggi dan tidak terjadwal dengan pencampuran beberapa pestisida yang tidak diketahui kompatibilitasnya. Menurut Untung (1993), hal tersebut akan mengakibatkan resistensi, resurgensi, peledakan hama kedua, terbunuhnya jasad bukan sasaran dan pencemaran lingkungan.

Nematoda entomopatogen sebagai agensia hayati berpotensi untuk mengatasi masalah hama (Gaugler, 1981). Telah banyak dilaporkan mengenai kesuksesan penggunaan nematoda entomopatogen jenis *Steinernema* spp. dan *Heterorhabditis* spp. untuk mengendalikan serangga hama yang hidup di dalam tanah (Klein, 1990). Berdasarkan laporan dari berbagai peneliti, nematoda entomopatogen mampu mengendalikan serangga hama dari ordo Coleoptera: Scarabaeidae maupun hama lain (Yeh and Alm, 1992). Menurut Kaya dan Gaugler (1993); Ehler dan Peter (1995), Nematoda entomopatogen mempunyai reseptor kimia dan bersifat mobil, seperti patogen yang mempunyai virulensi tinggi terhadap inangnya, membunuh inang dengan cepat dan dapat diproduksi secara masal.

Nematoda entomopatogen dari jenis *Steinernema* spp. dan *Heterorhabditis* spp., keduanya memiliki bakteri simbion yaitu *Xenorhabdus* spp. dan *Photorhabdus luminescens* (Boemare, 1996). Menurut Simoes (1996), terdapat interaksi mutualistik antara nematoda entomopatogen dengan *Xenorhabdus* spp. dan *P. luminescens*. Bakteri simbiose tersebut dapat memproduksi toksin dengan aktivitas insektisida yang sangat berperan dalam kematian serangga.

Mengingat pentingnya peran bakteri simbiose pada proses kematian serangga hama, maka penelitian ini perlu dilakukan untuk mengetahui virulensi dari bakteri simbion *X. nematophilus* dan *P. luminescens* terhadap hama tanaman tebu *L. stigma* di laboratorium.

## 1.2 Tujuan dan Kegunaan

### 1.2.1 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Mengidentifikasi bakteri simbiose *S. carpocapsae* dan *H. indicus* dengan uji fisiologis.
2. Mengetahui virulensi *X. nematophilus* dan *P. luminenscens* berdasarkan nilai  $LC_{50}$  terhadap larva *L. stigma*.
3. Mengetahui korelasi antara peningkatan konsentrasi bakteri yang ditambahkan pada perlakuan terhadap mortalitas larva *L. stigma*.

### 1.2.2 Kegunaan

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat mendukung dalam usaha memproduksi bioinsektisida sebagai usaha pengendalian hama tebu, *L. stigma* yang aman bagi lingkungan.

## 1.3 Hipotesis

1. Bakteri dari hasil uji fisiologis adalah *X. nematophilus* dan *P. luminenscens*
2. Bakteri simbion nematoda entomopatogen virulen terhadap hama tebu, *L. stigma*.
3. Peningkatan konsentrasi bakteri berkorelasi positif terhadap mortalitas larva *L. stigma*.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Biologi *Lepidiota stigma* F.

*Lepidiota stigma* F. merupakan jenis serangga hama utama yang merusak tanaman tebu pada fase larva (uret). Menurut Kalshoven (1981), sistematika dari serangga ini adalah sebagai berikut :

Filum	: Arthropoda
Kelas	: Hexapoda
Ordo	: Coleoptera
Sub ordo	: Lamallicornia
Famili	: Scarabaeidae
Subfamili	: Melolonthidae
Genus	: <i>Lepidiota</i>
Spesies	: <i>Lepidiota stigma</i> F.

#### 2.1.1 Morfologi

Uret merupakan nama umum yang diberikan oleh beberapa negara untuk larva dari kumbang yang termasuk famili Scarabaeidae. Kepalanya berwarna agak kecoklatan dan tubuhnya berbentuk scarabeiform (Ritcher, 1966 dalam Widiawati, 1991).

Uret dari genus *Lepidiota* berukuran besar, panjang tubuhnya sampai 7,5 cm (larva instar akhir), tubuhnya sukar atau tidak dapat diluruskan. Gerakan ke muka dan belakang mengalami kesulitan, hanya dengan posisi miring. Badannya berwarna putih krem, bagian belakangnya gemuk sehingga menyerupai kantong (Wirioadmodjo, 1970). Memiliki tiga pasang kaki yang berkembang dengan baik. Tungkai yang kuat tersebut jarang digunakan untuk berjalan tetapi banyak digunakan untuk menggali. Kepalanya kuat bertipe hypognathous atau mandibula menghadap ke bawah. Memiliki tiga atau empat ruas antena. Thoraxnya terdiri dari tiga ruas, sedangkan badannya sepuluh ruas. Pada thorax dan delapan ruas abdomen pertama masing-masing terdapat spirakulum pada setiap sisinya (Widiawati, 1991).

Genus *Lepidiota* sulit dibedakan dengan genus-genus lain dari sub famili Melolonthidae, karena apabila dilihat sepintas hampir sama. Untuk membedakan uret *L. stigma* dengan uret lainnya dapat dilihat pola perambutan pada ujung abdomen bagian ventral (Kalshoven, 1981). Deretan dibagian tengah daerah perambutan tersusun jelas. Sekat-sekat dalam deretan tersebut berbentuk jarum. Sekat-sekat berhadapan saling menyentuh pada ujung deretannya pendek dan sejajar. Jumlah sekat dalam deretan lebih dari 20. Bentuk akolade dari pembukaan celah analnya kadang-kadang tidak jelas. Sisi punggung segmen terakhir dipenuhi dengan duri-duri kecil diantara rambut-rambut yang panjang (Ananda dkk., (1975) dalam Widiawati, 1991).

Kumbang atau imagonya berukuran panjang anantara 3,5 – 5 cm, tertutup oleh sisik-sisik berwarna coklat kelabu yang tebal. Sebagai karakteristik dari kumbang ini adalah bintik-bintik putih pada bagian belakang eliternya (Kalshoven, 1981).

### 2.1.2 Siklus Hidup

*L. stigma* mempunyai tipe metamorfose holometabola yang meliputi : telur – larva (uret) – pupa – imago (kumbang). Daur hidupnya kurang lebih satu tahun yang meliputi masa telur 15 hari, masa larva 9 bulan, masa pra pupa 15 hari, masa pupa 1 bulan, masa imago inaktif 1 bulan dan masa imago aktif 1 bulan (Mudjiono dkk., 1979).

Penerbangan serangga dewasa terjadi setelah datangnya musim hujan (Oktober – Desember). Serangga dewasa keluar dari dalam tanah pada senja hari. Perkawinan sering dijumpai pada waktu senja hari (Jongeleen dan Mahrub, 1979). Kumbang betina meletakkan telur di dalam tanah basah atau lembab yang tertutup mulsa. Setelah menetas kumbang betina menjadi tidak aktif (Kalshoven, 1981). Menurut Wirioadmodjo (1970), kekeringan yang terlalu berlebihan dapat mematikan telur-telur. Kedalaman peletakan telur antara 5 – 30 cm di bawah permukaan tanah. Telur-telur tersebut diletakkan pada permulaan musim hujan dan menetas satu sampai dua minggu setelah kopulasi.

Uret instar pertama hanya makan sisa-sisa tanaman yang ada di dalam tanah (bahan organik), sedang uret instar kedua mulai makan akar-akar tanaman dan terbatas pada lingkungan lembab. Kadang-kadang dapat ditemukan pada kedalaman 50 cm atau lebih. Uret instar ketiga merupakan instar yang paling membahayakan, karena makannya sangat rakus. Hal ini dimaksudkan untuk mengimbangi pertumbuhan yang sangat cepat dan sebagai makanan cadangan untuk menyelesaikan fase berikutnya yaitu fase pupa (Mudjiono dkk., 1979).

Setelah uret instar tiga selesai mempersiapkan untuk fase berikutnya, lalu uret membentuk kotak tempat berpupa di dalam tanah (Widiawati, 1991). Pupa terletak pada kedalaman 15 – 20 cm di bawah permukaan tanah (Kalshoven, 1981). Kedalaman letak pupa berbeda-beda. Perubahan pupa menjadi imago juga terjadi di dalam tanah (Wirioadmodjo, 1970). Menurut Kalshoven (1981), setelah 4 minggu imago tetap tinggal di dalam tanah selama beberapa hari menunggu hujan pertama tiba. Kumbang keluar pada permulaan hujan, aktif pada malam hari dan lebih tertarik pada cahaya lampu. Kumbang dewasa memerlukan makanan sedikit tetapi dapat menimbulkan kerusakan pada *Desmodium* dan *Crotalaria*.

## 2.2 Arti Ekonomi *L. stigma* pada Tanaman tebu

Dalam edar hidupnya *L. stigma* dapat menimbulkan kerusakan pada tanaman tebu tua maupun muda. Adanya kerusakan tanaman tersebut mengakibatkan kerugian pada penambahan biaya dalam pemeliharaan dan menurunkan produksi gula. Tanaman tebu yang terserang uret menunjukkan gejala seperti kekeringan. Pada serangan yang berat, tanaman mudah roboh dan mudah dicabut karena akarnya dimakan uret (Samoedi, 1977). Pada tanaman tebu muda, gejala yang nampak ialah pucuk-pucuk tebu mula-mula melayu kemudian menguning menyerupai gejala kekeringan. Hal ini disebabkan karena akar yang merupakan bagian terpenting bagi tanaman dimakan oleh uret sehingga transportasi air dan unsur hara terhambat. Adanya serangan pada tanaman tebu muda mengakibatkan penanaman ulang sehingga akan menambah biaya dalam penanaman (Wilson, 1969).

Pada tanaman tua, gejala serangan nampak sekitar bulan April - September dimana uret berada pada instar II dan instar III. Tanaman tebu yang diserang, daunnya menguning dan serangan yang parah dapat mengakibatkan tanaman menjadi roboh dan mati (Soetanto, 1972). Menurut Wirioadmodjo (1970), kerusakan yang ditimbulkan pada tanaman tebu tua maupun muda sangat berarti. Apabila populasi uret tinggi dapat menyebabkan kematian tanaman. Akibat serangan pada tebu tua menyebabkan turunnya rendemen tebu sehingga berakibat langsung pada penurunan produksi gula. Berdasarkan laporan dari HGU Jengkol PG Pesantren Baru Kediri, kerugian yang diakibatkan oleh serangan *L. stigma*, kurang lebih 61% dan menyebabkan penurunan produksi gula sebesar 22,5 ton setiap kali panen (Haryono, 1985).

### 2.3 Asosiasi Nematoda Entomopatogen dengan Bakteri

Nematoda entomopatogen dari golongan Steinernematidae dan Heterorhabditidae bersimbiose atau berasosiasi dengan bakteri dari famili Enterobacteriaceae yaitu dari genus *Xenorhabdus* (Thomas dan Poinar, 1966 *in* Boemare *et al.*, 1993). Lima spesies bakteri yang telah diidentifikasi adalah *X. nematophilus*, *X. beddingii*, *X. poinarii*, dan *Photorhabdus luminenscens* (Woodring dan Kaya, 1988).

Menurut Akhrust dan Boemare (1990), terdapat kekhususan asosiasi antara spesies nematoda entomopatogen dengan spesies bakteri simbiotiknya. Kekhususan asosiasi nematoda dengan bakteri simbion dapat dilihat pada asosiasi *Steinernema carpocapsae* dengan *X. nematophilus* dimana juvenil infeksi tidak dapat berisi bakteri selain bakteri simbiotiknya sedangkan *S. feltiae* dan *S. glaseri* dapat menerima bakteri lain dari *Steinernema*. *P. luminenscens* merupakan bakteri yang diproduksi sebagai makanan penting bagi *Heterorhabditis* spp. Semua *P. luminenscens* yang dikulturkan secara *in-vitro* hanya untuk strain dari *Heterorhabditis* spp.

Asosiasi antara nematoda dengan bakterinya diketahui mempunyai banyak keuntungan. *Steinernema* spp. dan *Heterorhabditis* spp. mengandung *Xenorhabdus* spp. 0 - 200 sel bakteri yang akan menyebar dari kadaver menuju

haemocoel inang (Boemare *et al.*, 1993). Pada saat bakteri menuju inang yang baru nematoda melindungi bakteri dari mekanisme ketahanan inang. Bakteri merupakan makanan bagi nematoda (Akhurst dan Boemare, 1990). Menurut Ehlers dan Peters (1995), tanpa adanya bakteri simbion nematoda entomopatogen tidak dapat berkembang biak dengan baik, disisi lain bakteri simbion tidak dapat bertahan lama tanpa nematoda entomopatogen. Fungsi nematoda entomopatogen bagi bakteri adalah melindungi bakteri dari kondisi ekstrim dalam tanah dan melindungi bakteri dari kemungkinan adanya protein anti bakteri yang dikeluarkan oleh serangga inang. Akhurst dan Boemare (1990) juga menjelaskan bahwa nematoda entomopatogen tidak dapat melakukan reproduksi tanpa adanya sel bakteri didalam tubuh serangga dan membutuhkan aktivitas bakteri untuk memproduksi makanan yang sesuai.

#### 2.4 Bakteri *Xenorhabdus* spp.

Bakteri *Xenorhabdus* spp. mempunyai sifat gram negatif, anaerob fakultatif, dan berbentuk batang (Akhurst dan Boemare, 1990). Boemare *et al.* (1993), juga menyatakan bahwa *Xenorhabdus* terdiri dari dua bentuk (fase). Fase I (primer) koloninya memproduksi toksin dan antibiotik pada agar tetapi substansi tersebut tidak dikeluarkan oleh fase II (sekunder), kecuali beberapa strain dari *X. poinarii*. Antibiotik tersebut adalah indole derivatives, trans stilbenederivates, Xenorhabdins dan Xenocoumacins.

Fase primer dari *X. nematophilus*, *X. beddingii* dan *X. biovienii* berbeda dari fase sekunder dalam hal kemampuan adsorpsi pigmentasi, produksi antimikrobal dan lecithinase. Fase primer *X. nematophilus* berbeda dengan fase sekunder dalam hal ukuran sel, morfologi internal, interaksi dalam haemocites dan fimbriae (Akhurst dan Boemare, 1990 ; Woodring dan Kaya, 1988).

Nematoda entomopatogen bakteri kompleks selalu membunuh inang dengan memproduksi toksin dan menyebabkan septisemia (Boemare, *et al.*, 1993). Toksin yang diproduksi oleh bakteri simbion pada juvenil infektif merupakan hal yang penting dalam proses patogenesis (Simoes, 1996). Patogenesis *Xenorhabdus* spp. tergantung pada kemampuan masuknya bakteri

pada haemocoel serangga inang dan kemampuan bakteri untuk multiplikasi di dalam haemolim serta kemampuannya untuk melawan mekanisme pertahanan inang. Pertumbuhan *Xenorhabdus* spp. dibentuk oleh produksi eksotoksin dan endotoksin. Aktivitas eksotoksin berhubungan dengan fungsi eksoenzimatik dari *Xenorhabdus* spp. (protease, lecithinase, dan lipase). Endotoksin merupakan komponen lipopolisakarida pada dinding sel bakteri yang bersifat gram negatif. (Akhrust dan Boemare, 1990).

### 2.5 Patogenesitas Bakteri *X. nematophilus* dan *P. luminescens* Terhadap Serangga Hama

Penelitian tentang patogenesitas bakteri simbiosis nematoda entomopatogen terhadap serangga hama telah dilakukan oleh beberapa peneliti, walaupun patogenesitasnya untuk beberapa spesies serangga belum diselidiki secara luas.

Akhrust dan Boemare (1990) melaporkan bahwa *Xenorhabdus* spp. mempunyai patogenesitas yang tinggi saat diaplikasikan pada haemocoel larva *Galleria* dengan LD<sub>50</sub>nya kurang dari 50 sel. Patogenesitas *X. nematophilus* terhadap larva *Galleria mellonella* juga dilaporkan oleh Poinar (1979) bahwa diantara satu atau tiga sel bisa menjadi patogenik terhadap serangga tersebut.

Menurut Zahro'in (1999), *X. nematophilus* sangat patogenik terhadap larva *Spodoptera litura* larva instar III yang dapat menimbulkan mortalitas mencapai 100% setelah 24 jam inokulasi dengan nilai LC<sub>50</sub> 4,76 sel. Menurut Yeh dan Alm (1992), *P. luminescens*, *X. nematophilus*, *X. poinarri* yang diinjeksikan terhadap larva kumbang Jepang *Popillia japonica* (Coleoptera: Scarabaeidae) menunjukkan bahwa *X. luminescens* (*P. luminescens*) mempunyai virulensi lebih tinggi secara berturut-turut diikuti oleh *X. nematophilus* dan *X. poinarri* dengan nilai LD<sub>50</sub> 24,8 sel..

### III. BAHAN DAN METODE PENELITIAN

#### 3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di laboratorium Perlindungan Tanaman, Program Studi Ilmu Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian Universitas Jember mulai bulan April sampai Desember 1999.

#### 3.2 Bahan dan Alat

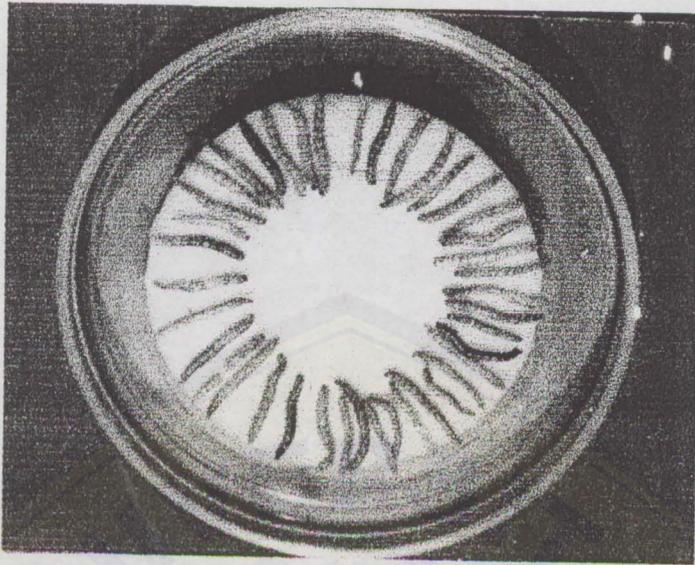
Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah nematoda entomopatogen (*Steinernema carpocapsae* dan *Heterorhabditis indicus* (Bahari, 1999)), larva *Tenebrio molitor*, larva *L. stigma* instar II dan III, air steril, gliserin, kertas filter Whatman No. 1, media Nutrien Bromothymol blue Agar (NBTA), Mac Conkey agar, Nutrien Agar (NA), Yeast Solution (YS) medium, media uji hidrolisa pati, media uji oksidatif-fermentatif, media uji reduksi nitrat, media uji indol, media uji pencairan gelatin, media uji Florescens (komposisi media tertera pada lampiran 1), KOH 3%, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3%, Alkohol 70% dan 95%, spiritus.

Alat-alat yang digunakan antara lain mikroskop fase kontras, mikroskop stereo, pipet effendorf (200 dan 1000 µl), orbital shaker, inkubator, cawan petri, botol plastik, gelas plastik, haemocytometer, mikroinjektor (Hamilton syringe), parafilm, gunting, skapel, Frezeer -25°C, saringan 15, 30, dan 45 µm, autoklaf, laminar flow, kapas, tissue, oven, erlemeyer, gelas ukur, hand counter, heater, dan stirer.

#### 3.3 Metode Penelitian

##### 3.3.1 Perbanyak Nematoda Entomopatogen

Perbanyak ini dilakukan dengan cara menginokulasikan nematoda entomopatogen pada larva *T. molitor* dalam cawan petri yang telah dilapisi dengan kertas filter yang dibasahi dengan air steril. Larva *T. molitor* yang telah terinfeksi (mati) diekstraksi dengan metode *white trap* (Gambar 1). (Woodring dan Kaya, 1988). Setelah satu sampai dua minggu juvenil infeksi yang dihasilkan disimpan dalam air steril dan digunakan untuk isolasi bakteri.



Gambar 1. Metode *white trap* untuk perbanyak nematoda entomopatogen

### 3.3.2 Isolasi Bakteri

Perbanyak bakteri simbiosis yaitu dengan mengisolasi bakteri dari haemolimf *T. molitor* yang mati karena nematoda *S. carpocapsae* dan *H. indicus* pada media NBTA, Mac Conkey dan NA. Sebelumnya *T. molitor* yang telah terinfeksi (24-48 jam) disterilisasi permukaannya dengan alkohol 70% selama 10-15 menit kemudian dibilas dengan air steril dan dikeringanginkan di atas kertas filter steril. Haemolimf diperoleh dengan memotong tungkai kedua dari *T. molitor* kemudian digoreskan pada media dan diinkubasikan dalam ruang gelap selama 24 jam. Bakteri dimurnikan (direisolasi) hingga diperoleh koloni tunggal.

### 3.3.3 Identifikasi Bakteri dengan Uji Fisiologis

Identifikasi bakteri dilakukan berdasarkan Woodring dan Kaya (1988) yang meliputi morfologi dan sifat fisiologisnya. Uji morfologis yaitu dengan melihat warna koloni pada media baik pada NBTA, Mac Conkey, NA dan juga bentuk bakteri yang dilihat secara mikroskopis dengan perbesaran 1000 kali. Uji fisiologis yaitu meliputi:

**Uji gram.** Pada pengujian ini digunakan biakan bakteri yang berumur 24 jam. Gelas obyek dibersihkan dengan alkohol 70% kemudian dikeringanginkan dengan cara memanaskan di atas api bunsen. Pada gelas obyek tersebut diteteskan KOH 3%. Kemudian diletakkan satu ose bakteri yang akan diuji, dicampur dan diaduk sampai rata. Setelah kurang lebih 10 detik, campuran isolat bakteri dengan KOH 3% tersebut diangkat perlahan-lahan dengan menggunakan jarum ose. Jika campuran bersifat lengket setelah diangkat kurang lebih 1 cm, maka bakteri tersebut bersifat gram negatif dan reaksi tersebut merupakan reaksi positif. (Fahy dan Hayward, 1983).

**Uji Hidrolisis Pati.** Komposisi bahan yang digunakan pada pengujian ini tertera pada lampiran 1. Isolat bakteri yang baru berumur 24 jam diinokulasikan pada cawan petri yang berisi medium pati kurang lebih 10 ml dan diinkubasikan selama 3-5 hari pada suhu kamar. Setelah diinkubasikan biakan kemudian ditambah larutan iodium sebanyak 2-3 tetes. Reaksi positif ditandai dengan warna kontras pada koloni. Sedangkan reaksi negatif ditandai dengan tidak terbentuknya bagian yang berwarna kontras di sekitar koloni dan seluruh medium berwarna hitam (Kerr, 1980).

**Uji Katalase.** Pada pengujian ini digunakan biakan bakteri yang berumur 24 jam. Gelas obyek dibersihkan dengan alkohol 70% kemudian dikeringanginkan dengan memanaskan di atas api bunsen. Pada gelas obyek diteteskan satu tetes 3%  $H_2O_2$  kemudian diletakkan satu ose bakteri yang akan diuji, dicampur dan diaduk sampai merata. Reaksi positif ditandai dengan terdapatnya gelembung-gelembung udara karena bakteri menghasilkan enzim katalase yang menghidrolisis 3%  $H_2O_2$  menjadi air dan oksigen. Sedangkan reaksi negatif ditandai dengan tidak terbentuknya gelembung-gelembung udara.

**Uji Oksidatif -Fermentatif.** Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui karbohidrat tunggal biasanya (glukosa) dapat dimanfaatkan oleh bakteri pada proses fermentasi atau oksidasi. Bahan-bahan yang digunakan sebagai medium dasar untuk pengujian ini tertera pada lampiran 1. Uji ini dilakukan dengan menusukkan isolat bakteri uji pada kedua media oksidatif-fermentatif yaitu media yang ditutup dengan minyak parafin dan yang tanpa minyak parafin. Kemudian

media tersebut diinkubasikan pada suhu kamar selama 7-14 hari. Terjadinya perubahan warna dari biru mejadi kuning menunjukkan adanya produksi asam pada tabung yang tidak tertutup, akan tetapi pada tabung yang tertutup menunjukkan adanya metabolisme fermentatif dari glukosa (Fahy dan Hayward, 1983; Lelliot dan Stead, 1987).

**Uji Reduksi Nitrat.** Komposisi bahan yang digunakan dalam pengujian ini tertera pada lampiran 1. Isolat bakteri yang ditumbuhkan pada medium yang mengandung nitrat dalam tabung. Kemudian diinkubasikan dalam suhu kamar selama 3-7 hari. Setelah diinkubasi ditetesi dengan reagent iodium pati sebanyak 5-10 tetes. Reaksi positif ditandai dengan terjadinya warna biru pada medium setelah di tetesi reagent.

**Uji Pembentukan Indol.** Bahan-bahan yang digunakan sebagai medium untuk pengujian ini tertera pada lampiran 1. Kultur bakteri yang berumur 24 jam ditumbuhkan pada medium dan diinkubasi selama 2-5 hari pada suhu ruang. Setelah diinkubasi biakan ditetesi dengan reagent kovac sebanyak 10-12 tetes. Reaksi positif ditandai dengan terbentuknya warna merah pada medium setelah ditetesi reagent yang berarti bakteri dapat membentuk indol.

**Uji Pencairan Gelatin.** Komposisi bahan tertera pada lampiran 1. Media yang sudah disterilisasi diinokulasi dengan kultur bakteri yang akan diuji. Selanjutnya diinkubasikan pada suhu kamar selama 48 jam. Untuk mengetahui reaksinya, tabung yang telah diinkubasikan terlebih dahulu disimpan pada suhu 5<sup>0</sup>C selama 2 jam. Reaksi positif ditandai dengan tetap cairnya media pada tabung yang diinokulasi (Kerr, 1980 ; Lelliot dan Stead, 1987).

**Uji Fluorescens.** Medium yang digunakan untuk pengujian ini adalah medium King's B. Komposisi bahan tertera pada lampiran 1. Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui fluorescensi, pijaran warna hijau atau biru suatu bakteri. Bakteri yang akan diuji ditumbuhkan pada medium tersebut dan diinkubasikan selama 3 hari pada suhu kamar. Pengamatan dilakukan dibawah sinar ultra violet. Bila bakteri berpendar hijau kebiruan, maka bakteri menghasilkan senyawa *fluorescens* dan uji ini bersifat positif (Lelliot dan Stead, 1987; Kerr, 1980).

**Uji bioluminiscens.** Uji bioluminiscens dilakukan dengan melihat gejala yang nampak pada serangga yang mati karena terinfeksi bakteri. Sifat bioluminiscens berdasarkan warna kutikula serangga yang mati yaitu berwarna coklat kehitaman (terinfeksi oleh *Xenorhabdus* spp.) dan berwarna merah kecoklatan/ caramel (terinfeksi oleh *P. luminiscens*) (Woodring dan Kaya, 1988; Akhurst dan Boemare, 1990). Pengujian fisiologis disesuaikan dengan karakteristik bakteri dari genus *Xenorhabdus* (Woodring dan Kaya, 1988).

Bakteri yang sudah diidentifikasi ditumbuhkan dalam media YS cair selama 24 jam. Kemudian dimasukkan dalam caps-caps dengan diberi 15% gliserin dan penyimpanan dengan dimasukkan dalam freezer  $-25^{\circ}\text{C}$ . Pada saat uji virulensi sebelumnya bakteri ditumbuhkan pada media NBTA atau Mac Conkey agar selama 24 jam kemudian dipilih koioni tunggal (koloni primer) kemudian ditumbuhkan dalam media YS selama 24 jam. Menurut Woodring dan Kaya (1988), sebagai indikasi dari fase primer yaitu terjadinya penyerapan warna merah (*neutral red*) pada media Mac Conkey agar dan warna biru (Bromothymol blue) pada media NBTA. Perhitungan bakteri dilakukan dengan menggunakan haemocitometer.

### 3.3.4 Pengambilan Larva *L. stigma*

Pengumpulan larva *L. stigma* yaitu dilakukan dengan mengambil langsung dari lapang (sekitar perakaran tebu yang terserang uret) kemudian dipisahkan berdasarkan jenis dan instarnya.

### 3.3.5 Pengujian Virulensi Bakteri *X. nematophilus* dan *P. luminiscens* Terhadap Larva *L. stigma*

Pengujian  $\text{LC}_{50}$  berdasarkan pengujian yang dilakukan Glazer (1992) dengan menggunakan lima konsentrasi dan sebelumnya ditentukan berdasarkan uji pendahuluan dengan konsentrasi 0, 2500, 7500, 15.000, 30.000 dan 60.000 sel bakteri/ml.. Hasil uji pendahuluan dianalisis dengan analisis probit (Finney, 1972) untuk menentukan konsentrasi aplikasi yang sebenarnya. Konsentrasi aplikasi yang sebenarnya dari hasil analisis uji pendahuluan yaitu 0, 5000, 16000, 27000, 38000, dan 49000 sel/ml digunakan untuk pengujian virulensi selanjutnya.

Cara pengujian yaitu dilakukan secara dermal dan oral. Bakteri yang akan diuji terlebih dahulu ditumbuhkan pada media YS selama 24 jam. Cara dermal yaitu dengan menginjeksikan isolat bakteri sebanyak 10 µl/serangga pada bagian abdomen larva *L. stigma* (dua segmen dari belakang). Kemudian diletakkan didalam botol plastik yang telah dilapisi kertas filter steril. Cara oral yaitu dengan merendam tebu sebagai makanan uret dalam suspensi bakteri selama 5-10 menit kemudian bersama-sama uret dimasukkan dalam botol plastik yang telah dilapisi kertas filter steril. Masing-masing konsentrasi diulang tiga kali dengan jumlah larva tiap ulangan 10 larva (n=30).

Pengamatan mortalitas larva dilakukan 24-48 setelah perlakuan. Persentase kematian larva di hitung berdasarkan rumus Abbot (1925) yaitu :

$$\text{Persen kematian terkoreksi} = \frac{A - B}{100 - B} \times 100\% , \text{ dimana}$$

A = persentase kematian larva *L. stigma* pada perlakuan

B = persentase kematian larva *L. stigma* pada kontrol

Nilai  $LC_{50}$  *X. nematophilus* dan *P. luminescens* terhadap larva *L. stigma* ditentukan dengan analisis Probit (Finney, 1972). Mortalitas *L. stigma* dianalisis dengan analisis varian dilanjutkan dengan uji Duncan dengan jenjang 5% dan untuk mengetahui hubungan antara penambahan konsentrasi dengan mortalitas larva digunakan analisis regresi.



IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Morfologi Bakteri

Hasil isolasi bakteri dari *Tenebrio molitor* yang mati karena nematoda entomopatogen *S. carpocapsae* dan *H. indicus* menunjukkan karakteristik pertumbuhan koloni yang berbeda pada beberapa medium NBTA, Mc.Conkey dan Nutrien Agar. Pengamatan secara morfologis terhadap koloni bakteri dapat dilihat pada tabel 1.

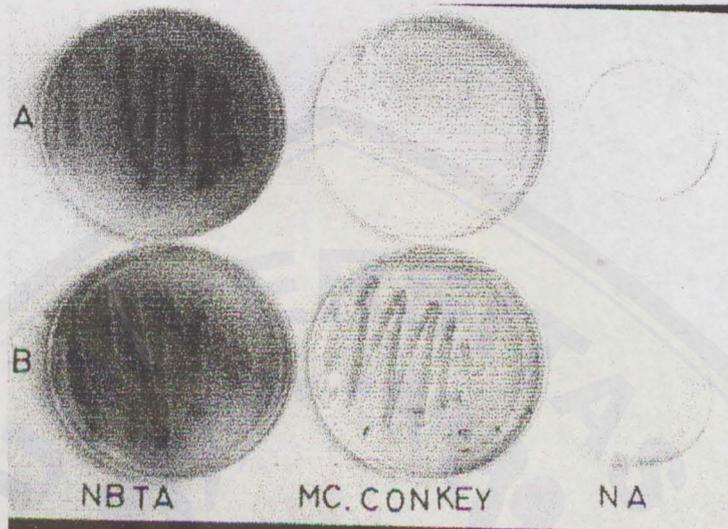
Tabel 1. Hasil pengamatan karakteristik morfologi koloni bakteri pada beberapa media

Karakteristik Morfologi pada media	Bakteri hasil isolasi (primer)	
	A	B
Nutrien Bromothymol blue agar (NBTA)	Koloni bulat cembung, warna biru jernih	Koloni bulat cembung, warna biru jernih
Mc. Conkey	Bulat cembung mengkilap warna koloni merah jernih	Bulat cembung mengkilap warna koloni merah jernih
Nutrien agar (NA)	Koloni berwarna putih susu menyerupai lendir cembung dan dapat meneruskan cahaya	Koloni berwarna putih susu menyerupai lendir cembung dan dapat meneruskan cahaya

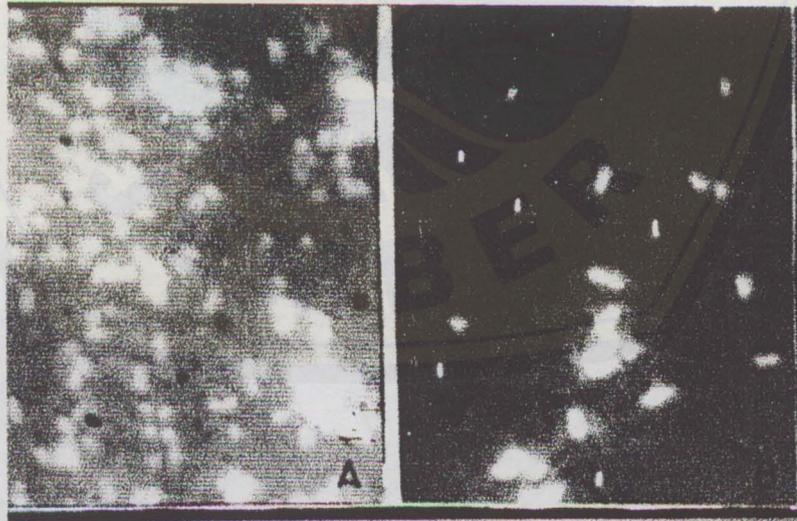
Keterangan : A. bakteri dari *T. molitor* + *S. carpocapsae*  
 B. bakteri dari *T. molitor* + *H. indicus*

Berdasarkan tabel 1, bakteri hasil isolasi dari *T. molitor* yang terinfeksi *S. carpocapsae* (A) mempunyai morfologi koloni yang secara umum sulit dibedakan dengan bakteri hasil isolasi dari *T. molitor* yang terinfeksi *H. indicus* (B) (gambar 2). Menurut Akhurst (1980) ; Woodring dan Kaya (1988) dalam Gerritsen & Krasomil-Osterfeld (1994), hal tersebut merupakan karakteristik morfologi yang umum ditunjukkan oleh semua genus *Xenorhabdus* jika ditumbuhkan pada media NA, Mac Conkey maupun NBTA.

Hasil pengamatan morfologi sel secara mikroskopis dengan perbesaran 1000 kali menunjukkan bahwa kedua bakteri berbentuk batang (gambar 3). Hal ini sesuai dengan Akhurst dan Boemare (1990); Woodring dan Kaya (1988) yang menyatakan bahwa bakteri genus *Xenorhabdus* berbentuk batang.



**Gambar 2.** Hasil isolasi bakteri (primer);  
A. Bakteri dari *T. molitor* + *S. carpocapsae*  
B. Bakteri dari *T. molitor* + *H. indicus*



**Gambar 3.** Bentuk sel bakteri primer secara mikroskopis (perbesaran 1000 kali);  
A. Bakteri dari *T. molitor* + *S. carpocapsae*  
B. Bakteri dari *T. molitor* + *H. indicus*

#### 4.2 Identifikasi Bakteri Berdasarkan Uji Fisiologis

Hasil pengujian fisiologis terhadap kedua bakteri menunjukkan bahwa kedua bakteri bersifat gram negatif. Karena berreaksi positif dengan KOH 3% yang menunjukkan terbentuknya lendir yang ikut terangkat oleh jarum ose. Hasil pengujian uji fisiologis yang lain disajikan pada tabel 2.

**Tabel 2. Hasil pengujian sifat-sifat fisiologis bakteri**

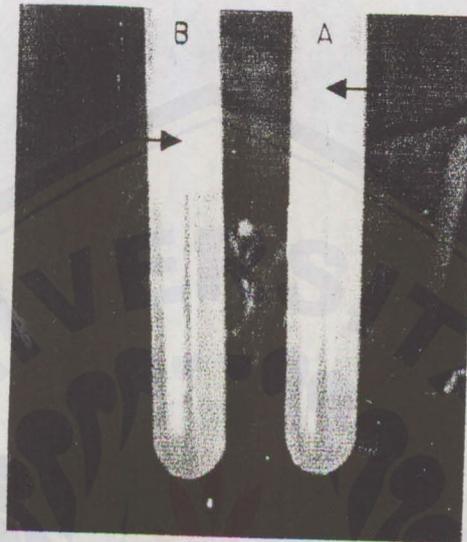
No.	Jenis pengujian	Hasil uji		Genus <i>Xenorhabdus</i> menurut Woodring dan Kaya (1988)
		A	B	
1.	Gram	-	-	-
2.	Katalase (peroksidase)	-	-	-
3.	Hidrolisis pati	-	-	-
4.	Pencairan gelatin	+	+	+
5.	Reduksi nitrat	-	-	-
6.	Oksidatif-fermentatif	+	+	+
7.	Indol	-	-	-
8.	Pertumbuhan pada Mc. Conkey	+	+	+
9.	Flourescens	-	-	
10.	Bioluminenscens	-	+	(+) <i>Photorhabdus luminenscens</i>

Keterangan : (+) = reaksi positif, (-) = reaksi negatif,  
A = bakteri dari *T. molitor* + *S. carpocapsae*,  
B = bakteri dari *T. molitor* + *H. indicus*

Pada tabel 2 ditunjukkan bahwa kedua bakteri (A dan B) mempunyai karakteristik yang sama yaitu positif terhadap uji pencairan gelatin, oksidatif-fermentatif, dan bereaksi negatif terhadap uji katalase, reduksi nitrat, hidrolisis pati, uji indol, dan flourescens. Pada uji bioluminenscens, kedua bakteri menunjukkan reaksi yang berbeda yaitu bakteri A negatif dan bakteri B positif.

Pada pengujian oksidatif-fermentatif menunjukkan kedua isolat bakteri tersebut bereaksi positif yang ditandai dengan terbentuknya warna kuning pada tabung yang ditutup minyak parafin dan yang tidak ditutup minyak parafin (gambar 4). Adanya reaksi positif pada uji oksidatif dan fermentatif menunjukkan bahwa bakteri dapat hidup dan mampu memproduksi asam dari glukosa

pada kondisi aerob (ada oksigen) dan anaerob (tanpa oksigen). Hal ini sesuai dengan sifat bakteri dari genus *Xenorhabdus* yang bersifat anaerob fakultatif (Woodring dan Kaya, 1988) yang berarti bakteri sebenarnya bersifat aerob tetapi pada kondisi tidak ada oksigen dapat bersifat anaerob.



**Gambar 4.** Hasil Uji Oksidatif-fermentatif,  
A. Oksidatif positif (tidak ditutup),  
B. Fermentatif positif (ditutup)

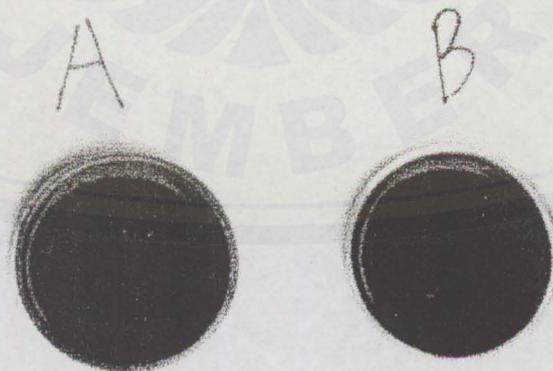
Uji katalase terhadap kedua isolat bakteri menunjukkan reaksi negatif. Hal ini ditandai dengan tidak terbentuknya gelembung-gelembung udara setelah dicampur dengan  $H_2O_2$  3% yang menunjukkan bahwa bakteri tidak menghasilkan enzim katalase yang dapat mengubah hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) menjadi air dan oksigen.

Beberapa bakteri mampu mereduksi nitrat menjadi nitrit dan mampu memproduksi gas dari nitrat melalui proses denitrifikasi. Pada uji reduksi nitrat terhadap kedua isolat bakteri menunjukkan bahwa bakteri tidak mampu mereduksi nitrat menjadi nitrit yang ditandai dengan tidak terbentuknya warna biru setelah ditetesi iodin pati (larutan A+larutan B). Hal ini berarti bakteri tidak mempunyai enzim nitrase.

Uji indol terhadap kedua isolat bakteri menunjukkan reaksi negatif, karena tidak terbentuknya lapisan berwarna merah setelah ditetesi 12 tetes reagen Kovac yang berarti bahwa bakteri tidak mampu menghasilkan enzim triptofan sehingga tidak mampu menghidrolisis asam amino triptofan menjadi indol dan asam piruvat (Utomo, 1985). Bakteri yang dapat tumbuh pada media Mc. Conkey dan kemudian pada uji indol bereaksi negatif berarti bakteri termasuk famili Enterobacter (Lay, 1994). Menurut Akhurst dan Boemare (1990), bakteri *Xenorhabdus* termasuk famili Enterobacteriaceae.

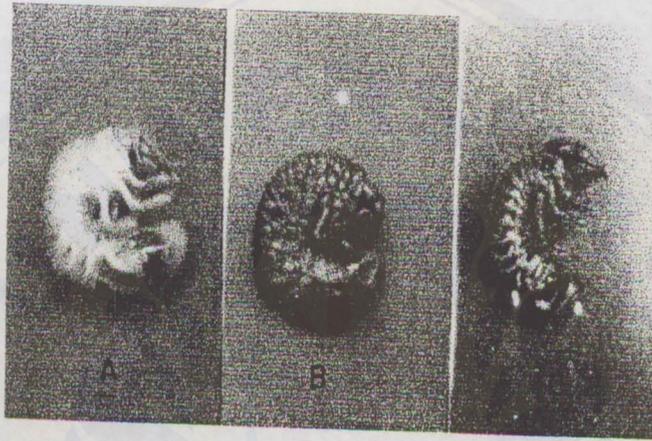
Hasil pengujian gelatin pada kedua isolat bakteri menunjukkan reaksi positif yang ditunjukkan setelah masa inkubasi 48 jam pada suhu kamar kemudian disimpan dalam lemari pendingin selama dua jam (sebelum pengamatan) pada tabung gelatin yang diisolasi dengan bakteri tetap cair. Hal ini menunjukkan kedua bakteri mampu mendekomposisi gelatin.

Pada uji hidrolisis pati kedua isolat bakteri menunjukkan reaksi negatif (gambar 5) yang ditandai dengan seluruh areal medium yang ditumbuhi koloni bakteri (setelah inkubasi selama tiga hari pada suhu kamar dan ditetesi larutan iodium sebanyak dua sampai tiga tetes) berwarna hitam. Hal ini berarti kedua isolat bakteri tidak mampu menghasilkan enzim amilase yang dapat menghidrolisis pati.



**Gambar 5.** Hasil Uji Hidrolisis Pati (negatif);  
A = bakteri dari *T. molitor* + *S. carpocapsae*,  
B = bakteri dari *T. molitor* + *H. indicus*

Hasil uji bioluminiscens menunjukkan bahwa serangga yang mati setelah diinokulasi dengan bakteri A berwarna coklat kehitaman yang identik dengan gejala serangan oleh bakteri *Xenorhabdus nematophilus* (Boemare 1996) dan gejala pada serangga yang mati setelah diinokulasi dengan bakteri B berwarna coklat kemerahan/caramel yang identik dengan gejala serangan oleh bakteri *P. luminescens* (Woodring dan Kaya, 1988) (gambar 6). Hal ini berarti bakteri B menghasilkan bioluminiscens seperti *P. luminescens*.



**Gambar 6.** Uji Bioluminiscens pada larva *L. stigma*;  
A. sehat, B. terinfeksi oleh bakteri A  
C. terinfeksi oleh bakteri B

Berdasarkan hasil pengujian fisiologis terhadap kedua isolat bakteri yang diisolasi dari *T. molitor* yang terinfeksi nematoda entomopatogen *S. carpocapsae* dan *H. indicus* dapat diketahui bahwa kedua isolat bakteri (A dan B) identik dengan genus *Xenorhabdus* karena mempunyai persamaan sifat karakteristik dengan *Xenorhabdus* yang dideskripsikan oleh Woodring dan Kaya (1988), sehingga diasumsikan bahwa bakteri yang diisolasi dari *T. molitor* yang mati karena *S. carpocapsae* merupakan *X. nematophilus* dan bakteri yang diisolasi dari *T. molitor* yang mati karena *H. indicus* merupakan *X. luminescens* (Woodring dan Kaya, 1988). Menurut Akhurst dan Boemare (1994), berdasarkan taksonomi yang baru *X. luminescens* diidentifikasi sebagai *Photorhabdus luminescens*.

### 4.3 Uji Virulensi Bakteri Symbion *X. nematophilus* dan *P. luminiscens* Terhadap larva *L. stigma*.

Hasil uji virulensi bakteri *X. nematophilus* dan *P. luminiscens* terhadap larva *L. stigma* instar II/III yang diperlakukan secara dermal (diinjeksi) dan oral (pakan) menunjukkan bahwa kedua spesies tersebut bersifat virulen terhadap serangga *L. stigma*.

Gejala serangan yang terlihat pada *L. stigma* yang terinfeksi oleh *X. nematophilus* adalah terjadinya perubahan warna yang semula berwarna putih krem menjadi coklat kehitaman. Gejala yang disebabkan oleh *P. luminiscens* menunjukkan perubahan warna menjadi coklat agak kemerahan dan agak terang/menyala (gambar 6). Gejala yang disebabkan oleh *X. nematophilus* tersebut karena bakteri menghasilkan enzim lechitinase dan protease (Boemare, 1996) sedangkan warna coklat kemerahan dan menyala disebabkan oleh bioluminiscens yang dihasilkan bakteri *P. luminiscens* (Woodring dan Kaya, 1988).

Mortalitas larva yang disebabkan oleh *X. nematophilus* dengan dua perlakuan tersebut masing-masing dapat mencapai 83,3% dan 96,67%. Sedangkan *P. luminiscens* dapat menyebabkan mortalitas larva mencapai 86,67% dan 93,3% setelah 48 jam inokulasi pada konsentrasi 49.000 sel/ml.

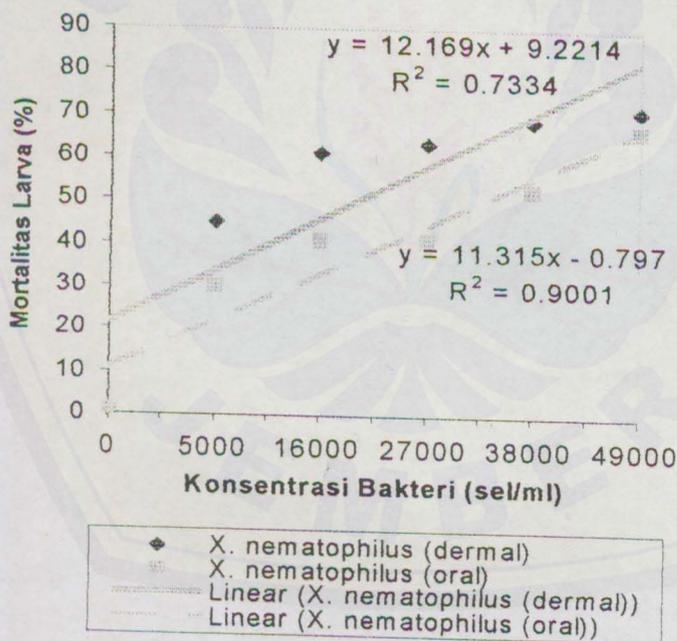
Tabel 3. Rata-rata mortalitas larva *L. stigma* yang disebabkan oleh *X. nematophilus* dan *P. luminiscens* dengan dua perlakuan setelah 48 jam.

Konsentrasi bakteri / ml.	Rata-rata mortalitas larva (%) setelah 48 jam			
	<i>X. nematophilus</i>		<i>P. luminiscens</i>	
	Dermal (injeksi)	Oral (pakan)	Dermal (injeksi)	Oral (pakan)
0	0.9059 a	0.9659 a	0.9059 a	6.7489 a
5000	45.0840 b	30.2925 b	46.9228 b	36.9322 b
16000	61.2197 c	41.1543 cd	59.7075 c	26.4563 ab
27000	63.4349 c	41.0703 cd	61.2197 c	43.0772 bc
38000	68.8550 cd	52.7753 d	68.8550 cd	61.2197 cd
49000	71.3861 d	66.6397 d	71.4756 d	68.8550 d

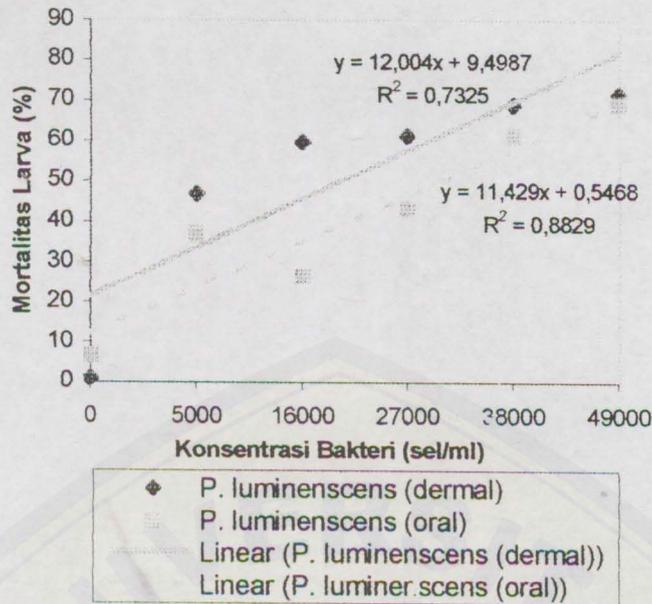
Ket : Data asli telah ditransformasikan ke Arc Sinus. Angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata pada uji Duncan ( $P < 0,05$ ).

Pengaruh penambahan konsentrasi bakteri dapat menyebabkan peningkatan mortalitas larva. Walaupun bakteri *P. luminenscens* (uji oral) pada konsentrasi tertentu yaitu konsentrasi 16000 sel/ml terjadi penurunan mortalitas larva. Tetapi pada konsentrasi 27000 sel/ml mortalitas larva terus mengalami peningkatan. Hal ini ditunjukkan pada tabel (3) yang berbeda nyata setelah dianalisa varian dengan uji Duncan ( $P < 0,05$ ). Terjadinya penurunan mortalitas larva tersebut dapat diduga karena bakteri yang bercampur dengan pakan serangga belum termakan oleh serangga dan atau belum masuk dalam haemocoel serangga.

Pada grafik (1) dan (2) menunjukkan adanya korelasi positif antara peningkatan konsentrasi bakteri terhadap mortalitas larva *L. stigma* dengan nilai  $R^2$  untuk masing-masing perlakuan *X. nematophilus* 0,7334 (perlakuan dermal) dan 0,9001 (perlakuan oral), sedangkan *P. luminenscens* nilai  $R^2$  nya masing-masing 0,7325 (perlakuan dermal) dan 0,8829 (perlakuan oral).

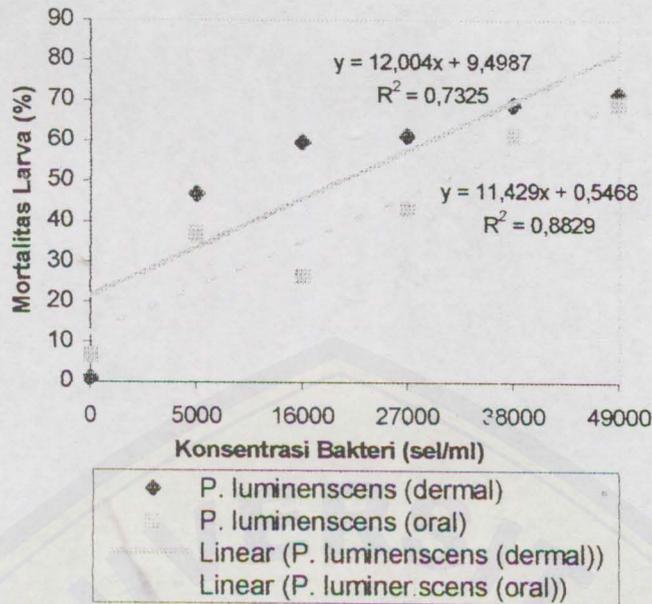


**Grafik 1.** Hubungan antara bakteri *X. nematophilus* terhadap mortalitas larva *L. stigma* setelah 48 jam.



**Grafik 2.** Hubungan antara bakteri *P. luminiscens* terhadap mortalitas larva *L. stigma* setelah 48 jam.

Berdasarkan grafik (1) dan (2) dapat dijelaskan bahwa kedua spesies bakteri, *X. nematophilus* dan *P. luminiscens* yang diaplikasikan dengan cara dermal (diinjeksi) lebih efektif dari aplikasi dengan cara oral (pakan), karena pada perlakuan konsentrasi bakteri yang sama mortalitas larva yang ditimbulkan lebih tinggi. Hal ini juga ditunjukkan pada nilai gradien (x) atau  $\tan \alpha$  dari persamaan regresinya yang lebih besar dari cara oral (pakan). Nilai gradien (x) tersebut untuk bakteri *X. nematophilus* yang diaplikasikan dengan cara dermal mencapai 12,169 sedang dengan cara oral mencapai 11,315. Pada bakteri *P. luminiscens* nilai gradien (x)nya dengan cara dermal mencapai 12,004, sedangkan dengan cara oral mencapai 11,429. Hal tersebut terjadi karena bakteri yang diaplikasikan dengan cara dermal (diinjeksikan) dapat langsung segera masuk dalam haemocoel serangga. Menurut Poinar dan Thomas (1966 in Glazer, 1992) bakteri yang telah masuk ke dalam haemocoel serangga akan segera mengalami multiplikasi serta memproduksi enzim proteolitik dan toksin yang menyebabkan septisemia dan kematian pada serangga setelah 24 jam.



**Grafik 2.** Hubungan antara bakteri *P. luminiscens* terhadap mortalitas larva *L. stigma* setelah 48 jam.

Berdasarkan grafik (1) dan (2) dapat dijelaskan bahwa kedua spesies bakteri, *X. nematophilus* dan *P. luminiscens* yang diaplikasikan dengan cara dermal (diinjeksi) lebih efektif dari aplikasi dengan cara oral (pakan), karena pada perlakuan konsentrasi bakteri yang sama mortalitas larva yang ditimbulkan lebih tinggi. Hal ini juga ditunjukkan pada nilai gradien (x) atau  $\tan \alpha$  dari persamaan regresinya yang lebih besar dari cara oral (pakan). Nilai gradien (x) tersebut untuk bakteri *X. nematophilus* yang diaplikasikan dengan cara dermal mencapai 12,169 sedang dengan cara oral mencapai 11,315. Pada bakteri *P. luminiscens* nilai gradien (x)nya dengan cara dermal mencapai 12,004, sedangkan dengan cara oral mencapai 11,429. Hal tersebut terjadi karena bakteri yang diaplikasikan dengan cara dermal (diinjeksikan) dapat langsung segera masuk dalam haemocoel serangga. Menurut Poinar dan Thomas (1966 in Glazer, 1992) bakteri yang telah masuk ke dalam haemocoel serangga akan segera mengalami multiplikasi serta memproduksi enzim proteolitik dan toksin yang menyebabkan septicemia dan kematian pada serangga setelah 24 jam.

Nilai  $LC_{50}$  dari *X. nematophilus* lebih tinggi bila dibandingkan dengan nilai  $LC_{50}$  dari *P. luminescens* (tabel 4). Menurut Finney (1972), semakin tinggi nilai  $LC_{50}$  berarti virulensinya semakin kecil.

**Tabel 4. Nilai  $LC_{50}$  *X. nematophilus* dan *P. luminescens* terhadap larva *L. stigma* setelah 48 jam**

Bakteri	Cara pengujian	$LC_{50}$ (sel)
<i>X. nematophilus</i>	dermal (dinjeksi)	57
	oral (pakan)	189,71
<i>P. luminescens</i>	dermal (dinjeksi)	46,922
	oral (pakan)	178,64

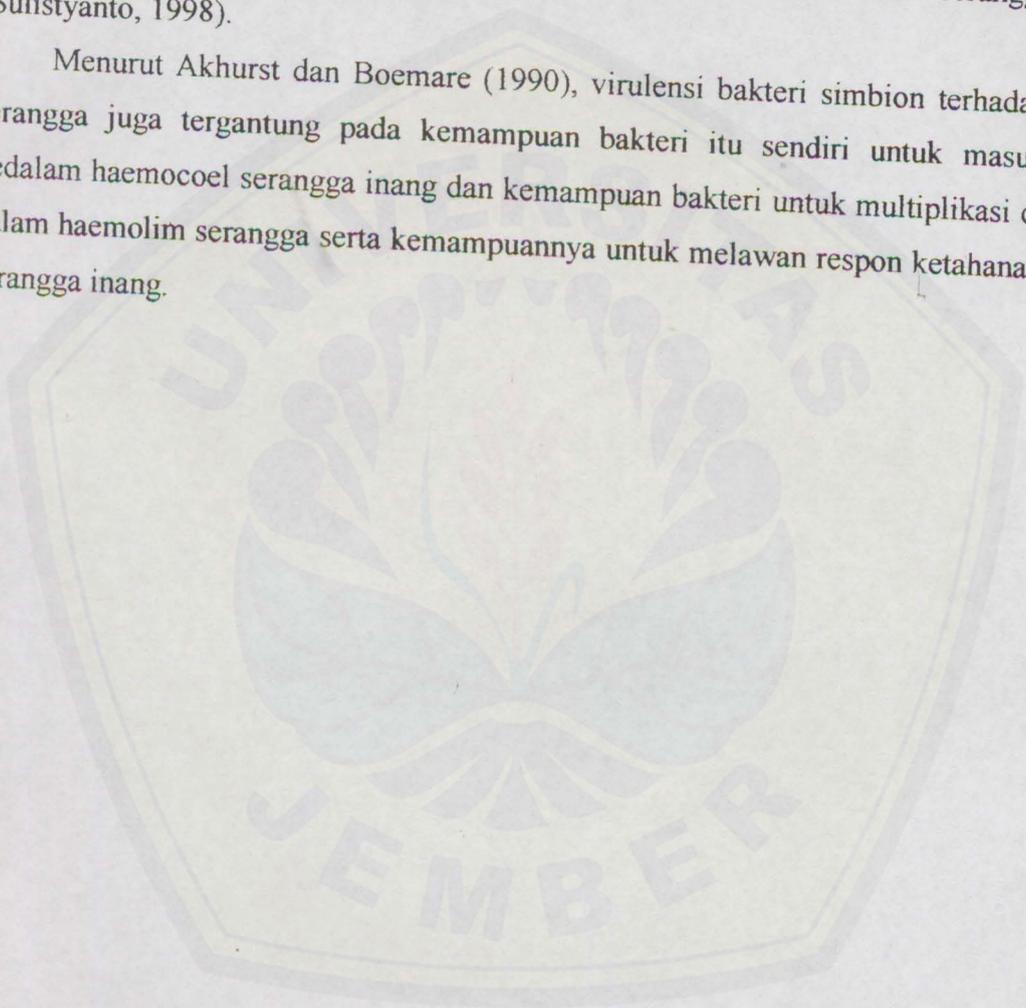
Berdasarkan hasil tersebut menunjukkan bahwa virulensi dari *P. luminescens* terhadap larva *L. stigma* lebih tinggi dari *X. nematophilus* dimana dari masing-masing perlakuan baik oral maupun dermal nilai  $LC_{50}$  dari *P. luminescens* lebih kecil dari *X. nematophilus*. Menurut Yeh dan Alm (1992), *P. luminescens*, *X. nematophilus*, *X. poinarri* yang diinjeksikan terhadap larva kumbang Jepang *Popillia japonica* (Coleoptera: Scarabaeidae) menunjukkan bahwa *P. luminescens* mempunyai virulensi lebih tinggi dibandingkan dengan *X. nematophilus* dan *X. poinarri*.

Virulensi *X. nematophilus* dan *P. luminescens* terhadap *L. stigma* lebih rendah bila dibandingkan terhadap serangga lain seperti *G. melonella*, *S. litura* dan *P. japonica* karena nilai  $LC_{50}$ nya lebih tinggi yaitu 49,622 sel sampai 189,71 sel setelah 48 jam inokulasi. Sedang menurut Akhurst dan Boemare (1990) nilai  $LD_{50}$  dari *X. nematophilus* terhadap *G. melonella* kurang dari 50 sel setelah 24 jam. Menurut Zahro'in (1999) nilai  $LC_{50}$  *X. nematophilus* terhadap *S. litura* larva instar III 4,76 sel setelah 24 jam, dan menurut Yeh dan Alm (1992) nilai  $LD_{50}$  dari *P. luminescens* terhadap *P. japonica* 24,8 sel setelah 24 jam.

Hal tersebut dapat terjadi karena ketahanan antara spesies serangga satu dengan serangga lain berbeda-beda. Seperti yang dilaporkan oleh Akhurst dan Boemare(1990) bahwa *X. nematophilus* tidak virulen terhadap *Chironomus* spp. (Diptera). Ketahanan *Chironomus* spp. terhadap *X. nematophilus* karena aktivitas enkapsulasi dari serangga inang terhadap bakteri yang masuk dalam haemocoel serangga.

Menurut Poinar (1979), bakteri *Xenorhabdus* yang diinjeksikan dalam haemocoel serangga dapat berubah-ubah sifatnya tergantung pada fisiologi dari serangga, spesies serangga dan spesies bakteri itu sendiri. Serangga dari ordo Coleoptera umumnya merupakan serangga yang tahan terhadap mikroorganisme asing yang masuk dalam tubuhnya yaitu dengan meng kapsul mikroorganisme asing tersebut sehingga tidak mampu berkembang di dalam tubuh serangga (Sulistyanto, 1998).

Menurut Akhurst dan Boemare (1990), virulensi bakteri simbiosis terhadap serangga juga tergantung pada kemampuan bakteri itu sendiri untuk masuk ke dalam haemocoel serangga inang dan kemampuan bakteri untuk multiplikasi di dalam haemolim serangga serta kemampuannya untuk melawan respon ketahanan serangga inang.



## V. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

1. Bakteri hasil isolasi dari *T. molitor* yang terinfeksi *S. carpocapsae* diidentifikasi sebagai *X. nematophilus* dan bakteri hasil isolasi dari *T. molitor* yang terinfeksi *H. indicus* diidentifikasi sebagai *P. luminescens*.
2. Bakteri simbiosis *X. nematophilus* dan *P. luminescens* virulen terhadap larva *L. stigma* dengan nilai  $LC_{50}$  masing-masing untuk *X. nematophilus* 57 sel (uji dermal) dan 189,71 sel (uji oral) sedangkan untuk *P. luminescens* 46,922 sel (uji dermal) dan 178,64 sel (uji oral), sehingga *P. luminescens* virulensinya lebih tinggi dari *X. nematophilus*.
3. Makin tinggi konsentrasi bakteri yang diaplikasikan makin tinggi mortalitas larva *L. stigma*.

### 5.2 Saran

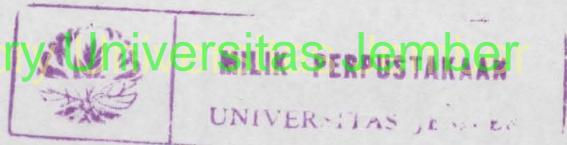
Berdasarkan hasil penelitian tersebut maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai identifikasi bakteri secara spesifik, virulensi bakteri di lapang dan faktor-faktor yang mempengaruhi virulensi bakteri terhadap serangga hama sehingga dapat diperoleh data yang menunjang dalam usaha memproduksi bioinsektisida untuk mengendalikan *L. stigma* yang aman bagi lingkungan.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbot, W. S.. 1925. Methode of computing the efectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.*
- Akhurst, R. J. and N. E. Boemare., 1990. Biology and taxonomy of *Xenorhabdus*. In *Entomopathogenic Nematode in Biological Control* (R. Gaugler and H. K. Kaya). CRC Press. Boca Raton Florida.
- Anonim, 1995. *Pembudidayaan Tebu di Lahan Sawah dan Tegalan*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Bahari, R.. 2000. Inventarisasi, isolasi, dan identifikasi nematoda entomopatogen *Steinernema* spp. dan *Heterorhabditis* spp. pada tanaman hortikultura di Jawa Timur. *Karya Ilmiah Tertulis (KIT)*. Fakultas Pertanian Universitas Jember.
- Boemare, N. E., M. H. B. Giglio, J. O. Thaler and R. J. Akhurst. 1993. The phages and bacteriocins of *Xenorhabdus* spp. symbiont of the nematodes *Steinernema* spp. and *Heterorhabditis* spp. *Nematodes and the biological control of pest*. 16.
- Boemare, N. E. and R. J. Akhurst. 1994. DNA Homology Between *Xenorhabdus* and *Photorhabdus* spp. Convergent Evolution of Two Different Genera. *Biotechnol : Genetics of Entomopatogenic Nematode-Bacterium Coplexes*. European Commission.
- , 1996. The Entomopathogenic nematode bacterium complex. biologi and life cycle and vertebrate safety. *Biocon. Sci. and Technol.* 6.
- Ehlers, R. U. and A. Peters. 1995. Entomopathogenic nematodes in biological control feasibility, perspectives and possible risks. In *Biological Control Benefit and Risks*. Cambridge University Press. Cambridge.
- Fahy, P. C. and A. C. Hayward. 1983. Media and methods for isolation and diagnostic test. pp 337-378. in. P. C. Fahy and G. J. Persley (eds.). *Plant Bacterial Diseases: A Diagnostic Guide*. Sydney . Academic Press.
- Finney, D. J.. 1972. *Probit Analysis* 3<sup>rd</sup> ed. Cambridge University Press. Cambridge England.
- Gaugler, R.. 1981. Biological control potential of Neoplectana nematodes. *J. Nematol.*

- Gerritsen, L. J. M. dan K.C.K. Osterfeld. 1994. Characterization of *Xenorhabdus* & *Photorhabdus* strain and form variants. Summary of a Practical Work Shop Session, *Biotechnol : Genetics of Entomopathogenic Nematode-Bacterium Complexes*. European Commission.
- Glazer, I.. 1992. Invasion rate as measure of infectivity of Steinernematidae and Heterorhabditidae nematodes to insect. *J. Invertebr. Pathol.*
- Haryono, E.. 1985. Pengendalian Hama Uret jenis *Lepidiota stigma* F. Secara terpadu di HGU, Jengkol, PG Pesantren Baru. Makalah Dalam Pertemuan Teknis Tengah Tahunan. 1985. Pasuruan.
- Hubbard, N. L., Huber, dan D. M. Pharr. 1989. Sukrose Synthase and Acid Invertase as Determinant of Sukrose Concentration Developing Muskmelon (*Cucumis melo*) Fruits. *Plant Physiol.*
- Jongeleen, F. J. J. and E. Mahrub. 1979. The biology of two species noxious Scarabaeidae from Indonesia. *J. Entomol.*
- Kalshoven, L. G. E.. 1981. *Pest of Crop in Indonesia*. Revised by van der Laan, PT. Ikhtiar Baru, van Hoeve. Jakarta.
- Kaya, H. K. and R. Gaugler. 1993. Entomopathogenic nematodes. *Annu. Rev. Entomol.*
- Kerr, A.. 1980. Media and methods for plant bacteriology, Pp. 399-408 in J. F. Brown (Eds.). *A. Course Manual in Plant Protection*. Melbourne Hedges and Bell Pty. Ltd.
- Klein, M. G.. 1990. Efficacy against soil inhabiting insect pest. *In Entomopathogenic Nematodes in Biological Control* (et R. Gaugler and H. K. Kaya). CRC Press Boca Raton Florida.
- Lay B. W.. 1994. *Analisa Mikrobial di Laboratorium*. Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Lelliot, R. A., and D. E. Stead. 1987. *Methods for Diagnosis of Bacterial Diseases on Plant*. Second edition. Oxford: Blackwell Scientific publications.
- Mudjiono, G., D. Soeharto dan B. Wirioadmodjo. 1979. Beberapa masalah yang dihadapi dalam pemberantasan uret pada tanaman tebu, *Bul. BP3G.*, Pasuruan.
- Poinar, G. O.. 1979. *Nematodes for Biological Control of Insect*. CRC. Boca Raton. Florida.

- Pracaya. 1992. *Hama dan Penyakit Tanaman*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Priatno, N.. 1987. Penerapan konsep pengendalian terpadu dalam menanggulangi uret *Lepidiota stigma* F. di Pertanaman Kakao in Adisumarto (Ed.). *Prosiding Kongres entomologi I*. Jakarta.
- Samoedi, D.. 1977. Usaha pengendalian beberapa hama penting pada tanaman tebu di Mauritius. *Laporan Kunjungan Luar Negeri*. BP3G Pasuruan.
- Simoes, N. 1996. Pathogenecity of the complex *Steinernema carpocapsae* – *Xenorhabdus nemathophilus* : Molekuler Aspects Related with Virulence. *Biological Sci and Technol*.6.
- Soetanto. 1972. Pemberantasan Uret di Lahan Jengkol. PG. Ngadirejo. *Majalah penelitian Gula VIII*. Pasuruan.
- Suhartawan. 1995. Upaya pengendalian hama uret *Lepidiota stigma* F. secara mekanis di PG Madukismo. *Majalah Penelitian Gula XXXI*. P3GI Pasuruan.
- Sulistyanto, D.. 1998. Entomotoksin Kompleks Nematoda Entomopatogen. *Workshop Nol : Dasar-Dasar Biologi Molekuler 27 Juli-1 Agustus 1998*. Pusat Penelitian Biologi Molekuler Universitas Jember. Jember.
- Untung, K. 1993. *Pengantar Pengendalian Hama Terpadu*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Utomo H.. 1985. *Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium*. Gramedia. Jakarta.
- Widiawati, S.. 1991. Penggunaan Beberapa insektisida Untuk mengendalikan uret *Lepidiota stigma* (F.)(Coleoptera : Sacarabaeidae). *Karya Ilmiah Tertulis*, Fakultas Pertanian Universitas Jember. Jember.
- Wilson. 1969. White grubs as pest of Sugarcane. *Elsivier Publising Company*. Amsterdam.
- Wirioadmodjo. 1970. *Hama Tebu*. Himpinan Diktat Kursus Tanaman. Balai Penelitian Perusahaan Perkebunan Gula, Pasuruan.
- Woodring, J. L. and H. K. Kaya. 1988. Steinernematid and Heterorabditid nematodes: a handbook of biology and techniques. Southern Cooperative Series. *Bul*, 331, *Arkansas Agriculture Experiment Station*. Fayetteville, AR.



Yeh, T. and S. R. Alm. 1992. Effects of entomopathogenic nematode species, rate, soil, moisture and bacterial on control of Japanese beetle in laboratory. *Econ. Entomol.*

Zahroin, E.. 1999. Patogenesitas Nematoda Entomopatogen-Bakteri Komplek, *Steinernema carpocapsae* (All strain)-*Xenorhabdus nematophilus* terhadap *Spodoptera litura* F. (Lepidoptera: Nuctuidae). *Karya Ilmiah Tertulis*. Fakultas Pertanian Universitas Jember. Jember.



## Lampiran 1. Komposisi Media

## 1. Komposisi Medium Nutrien Bromothymol Blue Agar (NBTA)

No.	Jenis/Bahan	Jumlah
1.	Nutrien Agar	37 g
2.	Bromothymol blue (BTB)	25 mg
3.	Aquades	1000 ml
3.	Triphenyl Tetrazolium Chloride Solution PH $\geq$ 8,5	4 ml

## 2. Komposisi Medium YS

No.	Jenis/Bahan	Jumlah
1.	$\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$	0,5 g
2.	$\text{K}_2\text{HPO}_4$	0,5 g
3.	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,2 g
4.	NaCl	5 g
6.	Yeast ekstrak	5 g
7.	Aquades	1000 ml

## 3. Komposisi Bahan untuk pengujian Pencairan Gelatin

No.	Jenis/Bahan	Jumlah/l
1.	Pepton	5.0 g
2.	Yeast ekstrak	3.0 g
3.	Gelatin	120 g

## 4. Komposisi Bahan untuk pengujian Reduksi Nitrat

No.	Jenis/Bahan	Jumlah/l
1.	$\text{KNO}_3$	1,0 g
2.	Yeast ekstrak	1,0 g
3.	Pepton	10,0 g
4.	Aquades	1000 ml

## 5. Komposisi Bahan Untuk pengujian Hirolisa pati

No.	Jenis/Bahan	Jumlah/l
1.	Agar	15 g
2.	Pati	2,0 g
3.	Pepton	5,0 g
4.	Beef ekstrak	3,0 g

**6. Komposisi Bahan Untuk pengujian Oksidatif – Fermentatif**

No.	Jenis/Bahan	Jumlah/l
1.	Pepton	1,0 g
2.	$\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$	1,0 g
3.	KCl	0,2 g
4.	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,2 g
5.	Bromothymolblue(BTB)	0,08 g
6.	Agar PH = 7,0 – 7,1	3,0 g

**7. Komposisi Bahan Untuk pengujian Indol**

No.	Jenis/Bahan	Jumlah/l
1.	Tripton	10 g
2.	Aquades	1000 ml

**8. Komposisi Bahan Untuk pengujian Fluorescens (King's B)**

No.	Jenis/Bahan	Jumlah/l
1.	Protease pepton	20 g
2.	$\text{K}_2\text{HPO}_4$	1,5 g
3.	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1,5 g
4.	Agar	15 g
5.	Gliserol	10 g

**Lampiran 2. Hasil Pengamatan Uji Virulensi Bakteri Symbion Nematoda Entomopatogen (*X. Nematophilus* Dan *P. Luminenscens*) Terhadap Larva *L. Stigma*.**

**1. Hasil Pengamatan Mortalitas (%) Larva *L. stigma* oleh *X. nematophilus* (Uji Secara Dermal/Injeksi)**

Konentrasi bakteri/ml	Mortalitas larva(%) setelah 48jam			Jumlah	Rerata
	1	2	3		
0	0	0	0	0	0
5000	40	70	40	150	50
16000	80	70	80	230	76.67
27000	80	80	80	240	80
38000	90	90	80	250	86.67
49000	100	90	100	290	96.67

**2. Hasil Pengamatan Mortalitas (%) Larva *L. stigma* oleh *P. luminenscens* (Uji Secara Dermal/Injeksi)**

Konentrasi bakteri/ml	Mortalitas larva(%) setelah 48 jam			Jumlah	Rerata
	1	2	3		
0	0	0	0	0	0
5000	50	60	50	160	53.33
16000	60	70	90	220	73.33
27000	80	80	70	230	76.67
38000	90	80	90	260	86.67
49000	100	90	90	280	93.33

**3. Hasil Pengamatan Mortalitas (%) Larva *L. stigma* oleh *X. nematophilus* (Uji Secara Oral/Pakan)**

Konentras bakteri/ml	Mortalitas larva(%) setelah 48 jam			Jumlah	Rerata
	1	2	3		
0	0	0	0	0	0
5000	30	40	10	80	26.67
16000	40	40	50	130	43.33
27000	40	60	30	130	43.33
38000	70	60	60	190	63.33
49000	90	90	70	250	83.33

**4. Hasil Pengamatan Mortalitas (%) Larva *L. stigma* oleh *P. luminescens* (Uji Secara Oral/Pakan)**

Konentras bakteri/ml	Mortalitas larva(%) setelah 48 jam			Jumlah	Rerata
	1	2	3		
0	0	0	10	10	3.33
5000	40	50	20	110	36.67
16000	0	40	40	80	26.67
27000	40	60	40	140	46.67
38000	80	80	70	230	76.67
49000	90	90	80	260	86.67

Lampiran 3. Analisa Varian dan Uji Duncan Terhadap Mortalitas Larva

Pengaruh konsentrasi bakteri *X. nematophilus* terhadap mortalitas *L. stigma* diuji secara dermal setelah 48 jam

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata
	I	II	III		
0	0	0	0	0	0
5000	40	70	40	150	50
16000	80	70	80	230	76.66667
27000	80	80	80	240	80
38000	90	90	80	260	86.66667
49000	100	90	100	290	96.66667
Jumlah	390	400	380	1170	
Rata-rata	65	66.66667	63.33333		65

Data hasil transformasi Arc Sinus

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata
	I	II	III		
0	0.905926	0.905926	0.905926	2.717777	0.905926
5000	39.23152	56.78909	39.23152	135.2521	45.08404
16000	63.43495	56.78909	63.43495	183.659	61.21966
27000	63.43495	63.43495	63.43495	190.3048	63.43495
38000	71.56505	71.56505	63.43495	206.5651	68.85502
49000	71.29665	71.56505	71.29665	214.1584	71.38612
Jumlah	309.869	321.0492	301.7389	932.6572	
Rata-rata	51.64484	53.50819	50.28982		51.81429

Sidik ragam

Sumber Keragaman	dB	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F-hitung	F-tabel	
					5%	1%
Perlakuan	5	10601.7042	2120.34084	91.174303 **	3.11	5.06
Galat	12	279.070848	23.255904			
Total	17	10880.775				

Keterangan : \*\* Berbeda sangat nyata  
 \* Berbeda nyata  
 ns Berbeda tidak nyata  
 kk 9.307%

Uji Beda Jarak Berganda Duncan (Uji Duncan)

Pengaruh konsentrasi bakteri *X. nematophilus* terhadap mortalitas *L. stigma* diuji secara dermal setelah 48 jam

KT Galat = 23.2559  
 dB Galat = 12  
 SD = 2.784236

Perlakuan	0	5000	16000	27000	38000	49000
Rata-rata	0.905926	45.08404	61.21966	63.43495	68.85502	71.38612
P		2	3	4	5	6
SSR 5%		3.08	3.23	3.33	3.36	3.4
DMRT 5%		8.575446	8.993081	9.271505	9.355032	9.466401
Beda rata-rata						
0		44.17812	60.31374	62.52902	67.94909	70.48019
5000			16.13562	18.35091	23.77097	26.30208
16000				2.215287	7.635355	10.16646
27000					5.420068	7.951171
38000						2.531103
0	—					
5000		—				
16000			—			
27000				—		
38000					—	
Notasi	d	c	b	b	ab	a

Perlakuan	Rata-rata	Rangking	SSR 5%	DMRT 5%	Notasi
49000	71.38612	1	3.4	9.466401	a
38000	68.85502	2	3.36	9.355032	ab
27000	63.43495	3	3.33	9.271505	b
16000	61.21966	4	3.23	8.993081	b
5000	45.08404	5	3.08	8.575446	c
0	0.905926	6			d

Keterangan : Huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata pada uji Duncan taraf 5%.

Pengaruh konsentrasi bakteri *X. nematophilus* terhadap mortalitas *L. stigma* diuji secara oral setelah 48 jam

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata
	I	II	III		
0	0	0	0	0	0
5000	30	40	10	80	26.66667
16000	40	40	50	130	43.33333
27000	40	60	30	130	43.33333
38000	70	60	60	190	63.33333
49000	90	90	70	250	83.33333
Jumlah	270	290	220	780	
Rata-rata	45	48.33333	36.66667		43.33333

Data hasil transformasi Arc Sinus

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata
	I	II	III		
0	0.905926	0.905926	0.905926	2.717777	0.905926
5000	33.21091	39.23152	18.43495	90.87738	30.29246
16000	39.23152	39.23152	45	123.463	41.15435
27000	39.23152	50.76848	33.21091	123.2109	41.0703
38000	56.78909	50.76848	50.76848	158.326	52.77535
49000	71.56505	71.56505	56.78909	199.9192	66.63973
Jumlah	240.934	252.471	205.1094	698.5143	
Rata-rata	40.15567	42.0785	34.18489		38.80635

Sidik ragam

Sumber Keragaman	dB	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F-hitung	F-tabel	
					5%	1%
Perlakuan	5	7468.1912	1493.63824	30.895831 **	3.11	5.06
Galat	12	580.131956	48.3443297			
Total	17	8048.32316				

Keterangan : \*\* Berbeda sangat nyata  
 \* Berbeda nyata  
 ns Berbeda tidak nyata  
 kk 17.917%

Uji Beda Jarak Berganda Duncan (Uji Duncan)

Pengaruh konsentrasi bakteri *X. nematophilus* terhadap mortalitas *L. stigma* diuji secara oral setelah 48 jam

KT Galat = 48.34433  
 dB Galat = 12  
 SD = 4.014321

Perlakuan	0	5000	27000	16000	38000	49000
Rata-rata	0.905926	30.29246	41.0703	41.15435	52.77535	66.63973
p		2	3	4	5	6
SSR 5%		3.08	3.23	3.33	3.36	3.4
DMRT 5%		12.36411	12.96626	13.36769	13.48812	13.64869
Beda rata-rata						
0		29.38653	40.16438	40.24842	51.86942	65.7338
5000			10.77784	10.86189	22.48289	36.34727
27000				0.084043	11.70505	25.56943
16000					11.621	25.48538
38000						13.86438
0	—					
5000	—	—				
27000		—	—	—		
16000			—	—	—	
38000				—	—	—
Notasi	d	c	bc	bc	a	a

Perlakuan	Rata-rata	Rangking	SSR 5%	DMRT 5%	Notasi
49000	66.63973	1	3.4	13.64869	a
38000	52.77535	2	3.36	13.48812	a
16000	41.15435	3	3.33	13.36769	bc
27000	41.0703	4	3.23	12.96626	bc
5000	30.29246	5	3.08	12.36411	c
0	0.905926	6			d

Keterangan : Huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata pada uji Duncan taraf 5%.

Pengaruh Konsentrasi bakteri *P. Luminescen* terhadap mortalitas *L. stigma* diuji secara dermal setelah 48 jam

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata
	I	II	III		
0	0	0	0	0	0
5000	50	60	50	160	53.33333
16000	60	70	90	220	73.33333
27000	80	80	70	230	76.66667
38000	90	80	90	260	86.66667
49000	100	90	90	280	93.33333
Jumlah	380	380	390	1150	
Rata-rata	63.33333	63.33333	65		63.88889

Data hasil transformasi Arc Sinus

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata
	I	II	III		
0	0.905926	0.905926	0.905926	2.717777	0.905926
5000	45	50.76848	45	140.7685	46.92283
16000	50.76848	56.78909	71.56505	179.1226	59.70754
27000	63.43495	63.43495	56.78909	183.659	61.21966
38000	71.56505	63.43495	71.56505	206.5651	68.85502
49000	71.29665	71.56505	71.56505	214.4268	71.47559
Jumlah	302.9711	306.8984	317.3902	927.2597	
Rata-rata	50.49518	51.14974	52.89836		51.51443

Sidik ragam

Sumber Keragaman	dB	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F-hitung	F-tabel	
					5%	1%
Perlakuan	5	10328.2974	2065.65947	76.3252229 **	3.11	5.06
Galat	12	324.767	27.0639167			
Total	17	10653.0644				

Keterangan : \*\* Berbeda sangat nyata  
 \* Berbeda nyata  
 ns Berbeda tidak nyata  
 kk 10.099%

Uji Beda Jarak Berganda Duncan (Uji Duncan)

Pengaruh Konsentrasi bakteri *P. Luminiscen* terhadap mortalitas *L. stigma* diuji secara dermal setelah 48 jam

KT Galat = 27.06392  
 dB Galat = 12  
 SD = 3.003549

Perlakuan	0	5000	16000	27000	38000	49000
Rata-rata	0.905926	46.92283	59.70754	61.21966	68.85502	71.47559
p		2	3	4	5	6
SSR 5%		3.08	3.23	3.33	3.36	3.4
DMRT 5%		9.25093	9.701463	10.00182	10.09192	10.21207
Beda rata-rata						
0		46.0169	58.80161	60.31374	67.94909	70.56966
5000			12.78471	14.29684	21.93219	24.55276
16000				1.512122	9.147477	11.76805
27000					7.635355	10.25592
38000						2.620568
0	—					
5000		—				
16000			—	—	—	
27000				—	—	
38000					—	—
Notasi	d	c	b	b	ab	a

Perlakuan	Rata-rata	Rangking	SSR 5%	DMRT 5%	Notasi
49000	71.47559	1	3.4	10.21207	a
38000	68.85502	2	3.36	10.09192	ab
27000	61.21966	3	3.33	10.00182	b
16000	59.70754	4	3.23	9.701463	b
5000	46.92283	5	3.08	9.25093	c
0	0.905926	6			d

Keterangan : Huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata pada uji Duncan taraf 5%.

Pengaruh konsentrasi bakteri *P. luminiscen* terhadap mortalitas *L. stigma* diuji secara oral setelah 48 jam

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata
	I	II	III		
0	0	0	10	10	3.333333
5000	40	50	20	110	36.66667
16000	0	40	40	80	26.66667
27000	40	60	40	140	46.66667
38000	80	80	70	230	76.66667
49000	90	90	80	260	86.66667
Jumlah	250	320	260	830	
Rata-rata	41.66667	53.33333	43.33333		46.11111

Data hasil transformasi Arc Sinus

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata
	I	II	III		
0	0.905926	0.905926	18.43495	20.2468	6.748933
5000	39.23152	45	26.56505	110.7966	36.93219
16000	0.905926	39.23152	39.23152	79.36897	26.45632
27000	39.23152	50.76848	39.23152	129.2315	43.07717
38000	63.43495	63.43495	56.78909	183.659	61.21966
49000	71.56505	71.56505	63.43495	206.5651	68.85502
Jumlah	215.2749	270.9059	243.6871	729.8679	
Rata-rata	35.87915	45.15099	40.61451		40.54822

Sidik ragam

Sumber Keragaman	dB	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F-hitung	F-tabel	
					5%	1%
Perlakuan	5	7767.08373	1553.41675	12.2302029 **	3.11	5.06
Galat	12	1524.17757	127.014798			
Total	17	9291.26131				

Keterangan : \*\* Berbeda sangat nyata  
 \* Berbeda nyata  
 ns Berbeda tidak nyata  
 kk 27.794%

Uji Beda Jarak Berganda Duncan (Uji Duncan)

Pengaruh konsentrasi bakteri *P. lumninescen* terhadap mortalitas *L. stigma* diuji secara oral setelah 48 jam

KT Galat = 127.0148  
 dB Galat = 12  
 SD = 6.506786

Perlakuan	0	16000	5000	27000	38000	49000
Rata-rata	6.746933	26.45632	36.93219	43.07717	61.21966	68.85502
p		2	3	4	5	6
SSR 5%		3.08	3.23	3.33	3.36	3.4
DMRT 5%		20.0409	21.01692	21.6676	21.8628	22.12307
Beda rata-rata						
0		19.70739	30.18326	36.32824	54.47073	62.10608
16000			10.47587	16.62085	34.76334	42.39869
5000				6.144983	24.28747	31.92283
27000					18.14249	25.77784
38000						7.635355
0		—	—			
16000		—	—	—		
5000			—	—	—	
27000				—	—	—
38000					—	—
Notasi		d	cd	c	bc	ab
						a

Perlakuan	Rata-rata	Rangking	SSR 5%	DMRT 5%	Notasi
49000	68.85502	1	3.4	22.12307	a
38000	61.21966	2	3.36	21.8628	ab
27000	43.07717	3	3.33	21.6676	bc
5000	36.93219	4	3.23	21.01692	c
16000	26.45632	5	3.08	20.0409	cd
0	6.748933	6			d

Keterangan : Huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata pada uji Duncan taraf 5%.

Lampiran 4. Analisa Probit

PROBIT ANALISIS VIRULENSI BAKTERI SIMBION NEP X. nematophilus TERHADAP L. stigma L2/3 (UJI ORAL/PAKAN)

Konsentrasi (sel/ml)	log konsentrasi	Jumlah sel	kematian	% kematian	% ke-matian	Po	% kematian	Probit	Probit	Probit	Koefisien	Bobot	nwx	nwy	nwx	nwy	nwx	nwy	nwx	nwy	Selisih (Yz-Y)		
	x	n	r	t	o		pt	Y	y	w		nw	nwx	nwy	nwx	nwy	nwx	nwy	nwx	nwy			
5000	3.699	30	8	26.67	26.67	26.67	4.38	3.92	4.491	0.412	12.35	169.03	45.70	55.49	169.03	249.22	45.70	55.49	169.03	249.22	205.25	4.28	0.36
16000	4.204	30	13	43.33	43.33	43.33	4.83	4.83	4.830	0.629	18.87	333.57	79.34	91.16	333.57	440.31	79.34	91.16	333.57	440.31	383.24	4.91	0.08
27000	4.431	30	13	43.33	43.33	43.33	4.83	5.14	4.831	0.631	18.94	371.85	83.91	91.48	371.85	441.93	83.91	91.48	371.85	441.93	405.37	5.19	0.05
38000	4.580	30	19	63.33	63.33	63.33	5.34	5.34	5.341	0.610	18.30	383.83	83.81	97.73	383.83	521.97	83.81	97.73	383.83	521.97	447.60	5.37	0.03
49000	4.690	30	25	83.33	83.33	83.33	5.97	5.66	5.897	0.542	16.27	357.95	76.32	95.95	357.95	565.79	76.32	95.95	357.95	565.79	450.03	5.51	-0.15
0	-	30	0	0	0	0				Jumlah	84.74	1616.23	369.08	431.81	1616.23	2219.21	369.08	431.81	1616.23	2219.21	1891.49		

Rerata x 4.3557      Y = -0.29 + 1.237 x

Rerata y 5.096

b = 1.24

a = -0.2903

Y50 = 5.0

LC 50 = 4.2781

Antilog 4.2781

LC 50 = 18971 Sel/ml

d = 5

Y20 = 4.1584

LC20 = 3.597511

LC20 = Antilog 3.598

3958.33 Sel/ml

Homogenitas (Khi Kuadrat)

x2 = 5.5405

x2 (3;0,05) = 7,82 (tabel)

x2 hit < x2 tabel (data homogen)

t0,025 = Z0,025 = 1.96

h = 1

Sxx = 8.6098

g = 0.2918 (g > 1 = nilai y (probit) dan x (log dosis))

tidak dapat dinyatakan dengan pers. regresi linier)

PROBIT ANALISIS VIRULENSI BAKTERI SIMBION NEP X. *nematophilus* TERHADAP *L. stigma* L2/3 (UJI DERMAL/INJEKSI)

Konsentrasi (sel/ml) m	log konsentrasi x	Jl h serangga uji n	kemampuan r	% kematian Po	% kematian terkoreksi Pt	Probit empirik y	Probit harapan Y	Probit penghitung y	Koefisien pembobot w	Bobot mw	nmx	nmy	nxxx	nwyw	nxy	1/2	Selisih (Yz-Y)
5000	3.699	30	15	50.00	50.00	5.00	4.88	5.000	0.633	18.98	70.20	94.89	259.66	474.45	351.00	4.90	0.02
16000	4.204	30	23	76.67	76.67	5.73	5.66	5.722	0.542	16.27	68.41	93.11	287.60	532.77	391.44	5.77	0.11
27000	4.431	30	24	80.00	80.00	5.84	6.02	5.820	0.432	12.97	57.46	75.46	254.61	439.13	334.38	6.15	0.13
36000	4.580	30	26	86.67	86.67	6.11	6.24	6.099	0.356	10.69	48.97	65.21	224.26	397.66	298.63	6.41	0.17
49000	4.690	30	29	96.67	96.67	6.83	6.42	7.328	0.295	8.86	41.56	64.94	194.95	475.83	304.57	6.60	0.18
0	-	30	0	0	0				Jumlah	67.77	286.60	393.60	1221.08	2319.84	1680.01		

Rerata x = 4.22897      Y = -1.41 + 1.708 x

Rerata y = 5.80785

b = 1.71

a = -1.4135

Y50 = 5.0

LC 50 = 3.75587

Antilog 3.75587

LC 50 = 5700 Sel/ml

d = 5

Y20 = 4.1584

LC20 = 3.263018

LC20 = Antilog 3.263

1832.399 Sel/ml

Homogenitas (Kiri Kuadrat)

x2 = 7.42234

x2 (3;0,05) = 7,82 (tabel)

x2 Hit < x2 tabel (data homogen)

t0,025 = Z0,025 = 1,96

h = 1

Sxx = 9.07317

g = 0.14521 (g > 1 = nilai y (probit) dar. x (log dosis)

tidak dapat dinyatakan dengan pers. regresi linier)

Selang Kepercayaan 95% bagi LC 50      Selang kepercayaan 95% bagi LC 20 =

9206.3977 - 4128.17 Sel/ml

2957.9 - 1328 Sel/ml

**PROBIT ANALISIS VIRULENSI BAKTERI SIMBION NEP Photorhabdus luminescens TERHADAP L. sigma L2/3 (Uji Dermal/Injeksi)**

Konsentrasi (sel/ml) m	log konsentrasi x	Jln serangga uji n	kematian r	% kematian Po	% kematian terkoreksi Pt	Probit empirik	Probit harapan Y	Probit penghitung y	Koefisien pembobot w	Bobot rw	nwx	nwy	nwx	nwy	nwx	nwy	Yz	Selisih (Yz-Y)
5000	3.699	30	16	53.33	53.33	5.08	4.96	5.067	0.636	19.07	70.55	97.03	260.98	293.55	260.98	358.89	5.03	0.07
16000	4.204	30	22	73.33	73.33	5.62	5.68	5.617	0.537	16.12	67.75	90.53	284.84	508.53	284.84	380.59	5.65	-0.03
27000	4.431	30	23	76.67	76.67	5.73	5.95	5.693	0.452	13.55	60.06	77.16	266.16	299.27	266.16	341.93	5.92	-0.04
38000	4.580	30	26	86.67	86.67	6.11	6.12	6.107	0.398	11.94	54.68	72.92	250.43	245.32	250.43	333.95	6.10	-0.02
49000	4.690	30	28	93.33	93.33	6.50	6.34	6.466	0.322	9.67	45.36	62.74	212.76	206.92	212.76	294.24	6.23	-0.11
0	-	30	0	0	0				Jumlah	70.36	298.42	400.37	1275.18	2293.58	1275.18	1709.61		

Rerata x = 4.24152  
Rerata y = 5.69062

$Y = 0.55 + 1.211 x$

$b = 1.21$   
 $a = 0.55286$   
 $Y_{50} = 5.0$   
 $LC_{50} = 3.67138$   
Antilog 3.67138  
 $LC_{50} = 4692.2$  Sel/ml  
 $d = 5$

Homogenitas (KHi Kuadrat)  
 $\chi^2 = 1.36531$   
 $\chi^2 (3; 0.05) = 7.82$  (tabel)

$\chi^2_{hit} < \chi^2_{tabel}$  (data homogen)  
 $f_{0.025} = Z_{0.025} = 1.96$   
 $h = 1$   
 $S_{xx} = 9.43894$

$g = 0.27739$  ( $g > 1 =$  nilai y (probit) dan x (log dosis) tidak dapat dinyatakan dengan pers. regresi linier)

Selang Kepercayaan 95% bagi LC 50      Selang kepercayaan 95% bagi LC 20 =  
9908      -      3074.39      Sel/ml      1997.1      -      622.1      Sel/ml

PROBIT ANALISIS VIRULENSI BAKTERI SIMBION NEP P. lumnescens TERHADAP L. stigma L2/3 (UJI ORAL/PAKAN)

Konsentrasi (sel/ml) m	log konsentrasi x	Jlh serangga uji n	kematian r	% kematian Po	% kematian terkoreksi Pt	Probit empirik y	Probit harapan y	Probit penghitung y	Koefisien pembobot w	Bobot mw	∑kx	∑wy	∑wxx	∑wxy	∑wyy	Selish (Yz-Y)
5000	3.699	30	11	36.67	34.48	4.60	4.04	4.741	0.452	13.55	53.14	64.26	185.45	237.70	304.67	4.24
16000	4.204	30	8	26.67	24.14	4.30	4.88	4.346	0.633	18.98	79.79	82.48	335.43	346.77	358.49	4.93
27000	4.431	30	14	46.67	44.83	4.87	5.20	4.894	0.627	18.81	83.55	92.07	369.37	407.97	450.61	5.25
36000	4.580	30	23	76.67	75.86	5.73	5.36	5.677	0.607	18.21	83.40	103.38	381.94	473.46	586.90	5.45
49000	4.690	30	26	86.67	86.21	6.09	5.68	6.024	0.537	16.12	75.59	97.09	354.52	455.35	584.85	0.09
0	-	30	1	3.33					Jumlah	85.67	372.26	439.27	1626.71	1921.25	2265.52	-0.08

Rerata x = 4.34539  
Rerata y = 5.12763

b = 1.37  
a = -0.61002

Y50 = 5.0  
LC50 = 4.25199

Antilog 4.25199  
LC50 = 17864 Sel/ml  
d = 5

Homogenitas (Khi Kuadrat)

x2 = 16.0997  
x2(3;0.05) = 7.82 (tabel)

x2 hit < x2 tabel (data homogen)

t0.025 = Z0.025 = 1.96

h = 1

Sxx = 9.09796

g = 0.22615 (g > 1 = nilai y (probit) dan x (log dosis)

tidak dapat dinyatakan dengan pers. regresi linier)

Selang Kepercayaan 95% bagi LC50

34058.9 - 12108 Sel/ml

8244.4 -

2933 Sel/ml

Selang Kepercayaan 95% bagi LC20 =

$$Y = -0.61 + 1.366 x$$

Y20 = 4.1584

LC20 = 3.636072

LC20 = Antilog 3.63607

4325.835 Sel/ml