



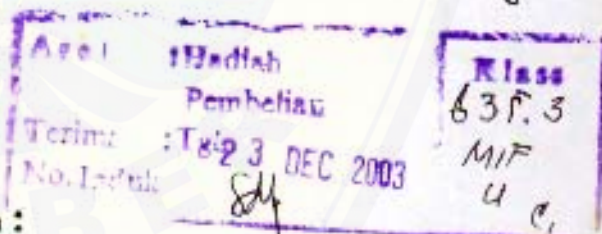
**UJI VIRULENSI DAN PEMBIAKAN MASSAL BAKTERI SIMBION**  
**(*Photorhabdus luminescens*) TERHADAP HAMA ULAT KOBIS**  
**(*Crociodolomia binotalis* Zell.)**

**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 :

**Handy Miftachuddin**  
NIM : 9615101208



**DEPARTEMEN PENDIDIKAN NASIONAL**  
**UNIVERSITAS JEMBER**  
**FAKULTAS PERTANIAN**  
**OKTOBER 2003**

KARYA ILMIAH TERTULIS BERJUDUL

UJI VIRULENSI DAN PEMBIAKAN MASSAL BAKTERI SIMBION  
(*Photorhabdus luminescens*) TERHADAP HAMA ULAT KOBIS (*Crociodolomia  
binotalis* Zell.)

Dipersiapkan dan disusun Oleh :

Handy Miftachuddin

NIM. 961510401208

Telah Diuji pada Tanggal  
17 Oktober 2003

Dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

TIM PENGUJI

Ketua

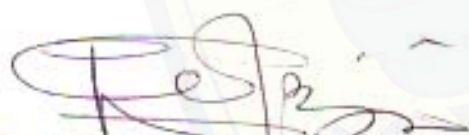


Ir. Rachmi Masnilah, Msi.

NIP. 131 759 539

Anggota I

Anggota II



Ir. Paniman Ashna Mihardja, MP.

NIP. 130 812 643



Ir. Mohammad Wildan Djatmiko, MP.

NIP. 131 916 889

MENGESAHKAN

Dekan



Ir. Mujiharjati, MS.

NIP. 130 609 808

KARYA ILMIAH TERTULIS BERJUDUL

Uji Virulensi dan pembiakan Massal Bakteri Simbion (*Photobacterium luminescens*) terhadap Hama Ulat Kobis (*Crociodolomia binotalis* Zell.)

Oleh :

Handy Miftachuddin  
NIM. 961510401208

Dipersiapkan dan disusun dibawah bimbingan

Pembimbing Utama : Ir. Rachmi Masnilah, Msi  
NIP. 131 759 539

Pembimbing Anggota : Ir. Paniman Ashna Miharjaja, MP.  
NIP. 130 812 643

**Karya kecil ini kupersembahkan kepada :**

Mommy dan Papi ku yang tercinta,  
Terima kasih atas kasih sayang dan do'anya selama ini.

Kakakku Wenny, Reza dan saudara kembarku Hendy,  
Terima kasih atas perhatian dan dukungannya.

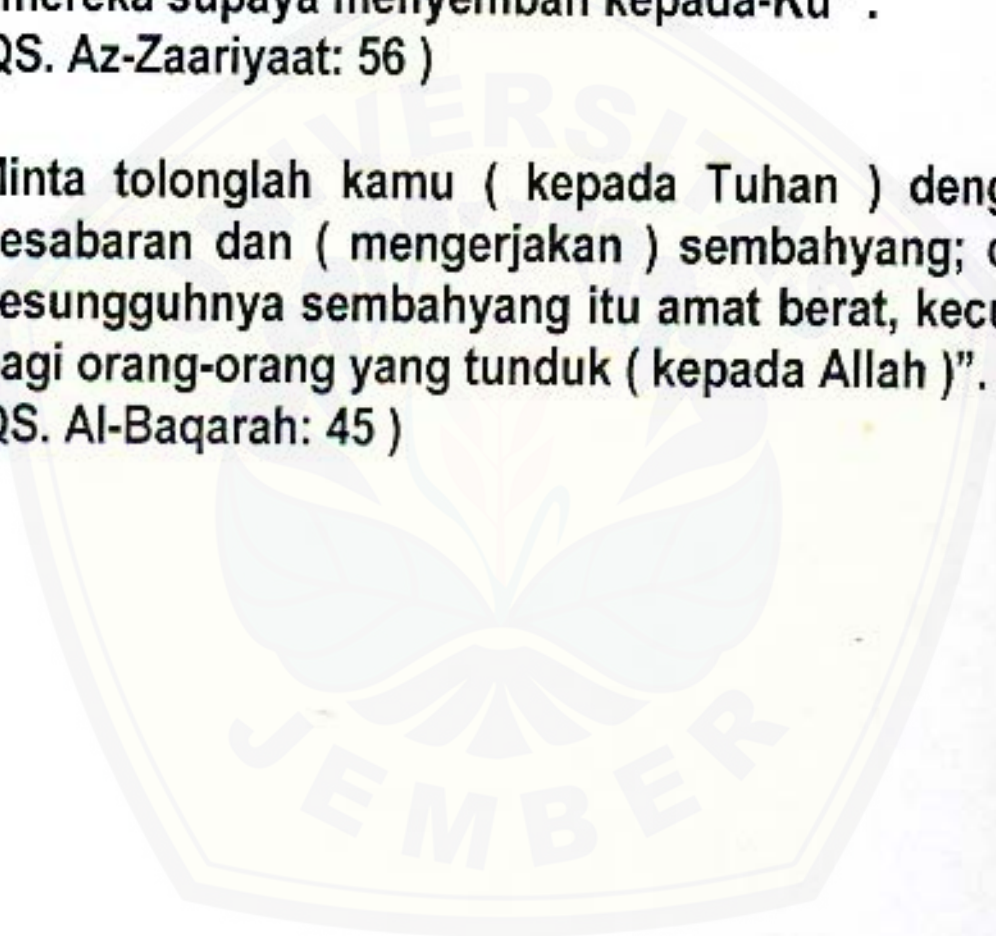
Sahabat karibku Slamet, Yusuf dan Rizal,  
Terima kasih atas dukungan dan kebersamaan kita.

Rekan seperjuanganku di Himpunan Mahasiswa Islam  
Komisariat Pertanian,  
Yang telah mendewasakanku dan mengantarkan dunia  
kemahasiswaanku.

*Motto :*

“ Tiadalah Aku jadikan jin dan manusia, melainkan mereka supaya menyembah kepada-Ku” .  
( QS. Az-Zaariyaat: 56 )

“Minta tolonglah kamu ( kepada Tuhan ) dengan kesabaran dan ( mengerjakan ) sembahyang; dan sesungguhnya sembahyang itu amat berat, kecuali bagi orang-orang yang tunduk ( kepada Allah )” .  
( QS. Al-Baqarah: 45 )



## KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT, sehingga Karya Ilmiah Tertulis dengan judul **Uji Virulensi dan Pemiakan Massal Bakteri Symbion (*Photorhabdus luminescens*) Terhadap Hama Ulat Kobis (*Crociodolomia binotalis* Zell.)** dapat terselesaikan.

Penulisan Karya Ilmiah ini disusun guna memenuhi salah satu syarat dalam menyelesaikan program Sarjana Strata Satu Jurusan Ilmu Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Jember.

Dengan selesainya penulisan Karya Ilmiah ini, penulis mengucapkan terima kasih kepada yang terhormat,

1. Dekan Fakultas Pertanian Universitas Jember yang telah memberi ijin dan kesempatan kepada penulis untuk melakukan penelitian dan menyusun Karya Ilmiah Tertulis ini.
2. Ketua Jurusan Ilmu Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Jember.
3. Ir. Rachmi Masnilah, Msi., Ir. Paniman Ashna Mihadja, MP. dan Ir. Mochammad Wildan Djatmiko, MP. sebagai Dosen Pembimbing dan Penguji yang telah memberikan bimbingan, saran dan nasihat hingga penelitian dan karya tertulis ilmiah ini dapat terselesaikan.
4. Semua pihak yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan karya ilmiah tertulis ini.

Penulis menyadari bahwa penulisan Karya Tulis Ilmiah ini masih jauh dari sempurna, maka dari itu penulis membuka diri untuk menerima masukan dan saran yang dapat dijadikan bahan pertimbangan dalam penulisan selanjutnya.

Akhir kata penulis berharap semoga Karya Ilmiah Tertulis ini bisa bermanfaat bagi kita semua, Amin.

Jember, September 2003

Penulis

ABSTRAK

Penelitian tentang efektifitas penggunaan nematoda entomopatogen dari famili Heterorhabditidae untuk pengendalian hama kobis telah banyak dilaporkan, akan tetapi uji coba dengan menggunakan bakteri simbiannya secara terpisah masih sedikit sekali dilaporkan. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui tingkat virulensi bakteri simbion nematoda entomopatogen *Photorhabdus luminescens* isolat Ngadas, Panti, Ijen dan Sumberejo terhadap hama ulat kobis *Crocidolomia binotalis* Zell. Pada tanaman kobis. Pengujian virulensi bakteri simbion nematoda entomopatogen *Photorhabdus luminescens* dilakukan dengan RAL faktorial dan uji Duncan. Untuk mengetahui nilai  $LC_{50}$  dan  $LT_{50}$  dilakukan analisa Probit. Berdasarkan hasil penelitian disimpulkan bahwa bakteri simbion nematoda entomopatogen *Photorhabdus luminescens* isolat Sumberejo adalah yang paling virulen dengan nilai  $LC_{50}$  pada perlakuan oral sebesar  $9,30 \times 10^5$  sel/ml dan pada perlakuan dermal sebesar  $2,63 \times 10^{18}$  sel/ml dan perlakuan yang paling baik adalah dengan menggunakan metode dermal, akan tetapi karena metode dermal tidak aplikatif untuk diaplikasikan di lapang maka perlakuan oral adalah yang paling sesuai untuk pengendalian dilapang. Media untuk pembiakan massal bakteri yang paling sesuai adalah dengan menggunakan media YS.

Kata Kunci : *Photorhabdus luminescens*, *Crocidolomia binotalis*

## Ringkasan

**Handy Miftachuddin**, NIM. 961510401208, **Uji Virulensi dan Pemiakan Massal Bakteri Symbion (*Photorhabdus luminescens*) Terhadap Hama Ulat Kobis (*Crocidolomia binotalis* Zell.)**, Dosen Pembimbing Utama (DPU) Ir. Rachmi Masnilah, M.Si dan Dosen Pembimbing Anggota (DPA) Ir. Paniman Ashna M, MP.

Salah satu yang menjadi permasalahan bagi petani dalam budidaya di Indonesia adalah rendahnya tingkat produktivitas tanaman kobis. Hal ini disebabkan karena adanya gangguan hama dilapang. Serangga yang biasa menyerang kobis salah satu diantaranya adalah *C. binotalis* Zell. Hama ini merupakan salah satu hama penting yang banyak ditemukan menyerang tanaman kobis pada awal pembentukan krop.

Upaya pengendalian yang sering dilakukan terhadap hama ini adalah dengan menggunakan insektisida sintetik, karena cara ini dirasa paling mudah dan hasilnya cepat dilihat. Penggunaan insektisida sintetik yang bersepektrum luas disamping dapat membunuh hama sasaran, juga dapat membinasakan parasitoid, predator dan hama bukan sasaran, maka diperlukan suatu alternatif pengendalian yang berwawasan lingkungan, efektif dan efisien. Salah satu alternatif pengendalian tersebut dengan menggunakan agensia hayati berupa bakteri symbion NEP *Photorhabdus luminescens*.

Penelitian ini dilakukan di laboratorium Perlindungan Tanaman Program Studi Ilmu Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Jember. Metode penelitian meliputi isolasi dan pemiakan massal bakteri *Photorhabdus luminescens* serta uji virulensi dengan menggunakan metode oral dan dermal. Konsentrasi yang digunakan adalah  $10^1$  sel/ml sampai  $10^8$  sel/ml. Mortalitas larva dianalisa varian dan uji Duncan taraf 5%. Sedangkan untuk mengetahui nilai  $LC_{50}$  dan  $LT_{50}$  dilakukan analisa probit.

Hasil uji virulensi menunjukkan bahwa bakteri *Photorhabdus luminescens* bersifat virulen terhadap *Crocidolomia binotalis*. Berdasarkan nilai  $LC_{50}$  isolat yang virulen adalah isolat Sumberejo dengan nilai sebesar  $9,30 \times 10^5$  (metode oral) dan



$2,63 \times 10^{-18}$  (metode dermal). Untuk nilai  $LT_{50}$  yang paling efektif adalah isolat Sumberejo dengan nilai sebesar 79,7 jam (metode oral) dan 21,3 jam (metode dermal). Pada pembiakan massal media yang paling baik untuk pertumbuhan bakteri adalah media yeast salt dan konsentrasi yang paling efektif adalah  $10^8$ .

---



DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR .....	iv
ABSTRAK.....	v
RINGKASAN .....	vi
DAFTAR ISI .....	viii
DAFTAR TABEL .....	x
DAFTAR GAMBAR .....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
I. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang Permasalahan .....	1
1.2 Tujuan Penelitian .....	2
1.3 Kegunaan Penelitian .....	2
II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Biologi Serangga <i>C. binotalis</i> Zell .....	3
2.1.1 Daur Hidup .....	3
2.1.2 Pupa .....	4
2.1.3 Imago .....	4
2.2 Biologi <i>Heterorhabditis spp</i> .....	5
2.3 Karakteristik Bakteri Symbion <i>P. luminescens</i> .....	6
2.4 Hubungan Bakteri dengan Nematoda .....	8
2.5 Hipotesis .....	8
III. METODOLOGI PENELITIAN	
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian .....	9
3.2 Bahan dan Alat .....	9
3.3 Metode Penelitian .....	9
3.3.1 Isolasi dan Perbanyakkan Bakteri Symbion NEP <i>P.luminescens</i> .....	9
3.3.2 Uji Virulensi Bakteri .....	9

3.3.3	Pembiakan Massal Bakteri Simbion NFP <i>P. luminescens</i> pada Beberapa Media Secara In vitro .....	11
IV.	HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1	Uji Virulensi Bakteri <i>P. luminescens</i> Terhadap Larva <i>C. binotata</i> Zell .....	12
4.1.1	Metode Oral .....	14
4.1.2	Metode Dermal .....	18
4.2	Pembiakan Bakteri Simbion <i>P. luminescens</i> Isolat Sumberjo pada Beberapa Media Secara In vitro .....	23
V.	SIMPULAN DAN SARAN	
5.1	Simpulan .....	25
5.2	Saran .....	25
	DAFTAR PUSTAKA .....	26
	LAMPIRAN .....	29

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Virulensi bakteri simbion NEP <i>Photorhabdus luminescens</i> terhadap larva <i>Crocidolomia binotalis</i> pada perlakuan oral.....	14
2. Nilai LC <sub>50</sub> <i>Photorhabdus luminescens</i> terhadap larva <i>Crocidolomia binotalis</i> untuk perlakuan oral setelah 96 jam pengamatan .....	15
3. Nilai LT <sub>50</sub> <i>Photorhabdus luminescens</i> terhadap larva <i>Crocidolomia binotalis</i> untuk perlakuan oral setelah 96 jam pengamatan .....	17
4. Virulensi bakteri simbion NEP <i>Photorhabdus luminescens</i> terhadap larva <i>Crocidolomia binotalis</i> pada perlakuan dermal.....	19
5. Nilai LC <sub>50</sub> <i>Photorhabdus luminescens</i> terhadap larva <i>Crocidolomia binotalis</i> untuk perlakuan dermal setelah 96 jam pengamatan .....	20
6. Nilai LT <sub>50</sub> <i>Photorhabdus luminescens</i> terhadap larva <i>Crocidolomia binotalis</i> untuk perlakuan dermal setelah 96 jam pengamatan .....	22
7. Pertumbuhan bakteri simbion NEP <i>Photorhabdus luminescens</i> isolat Sumberejo pada beberapa media buatan .....	23
8. Prosentase mortalitas bakteri simbion NEP <i>Photorhabdus luminescens</i> isolat Sumberejo dengan konsentrasi 10 <sup>5</sup> sel/ml terhadap larva <i>Crocidolomia binotalis</i> pada beberapa media buatan.....	24

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Hasil isolasi bakteri simbion <i>Photorhabdus luminescens</i> pada media NA neutral red .....	10
2. Hasil pembiakan massal bakteri <i>Photorhabdus luminescens</i> dalam eppendorf tube .....	10
3. Gejala serangan <i>Photorhabdus luminescens</i> terhadap larva <i>Crocidolomia binotalis</i> .....	13
4. Grafik LC <sub>50</sub> mortalitas larva <i>Crocidolomia binotalis</i> pada beberapa isolat lokal dengan perlakuan oral .....	16
5. Grafik LC <sub>50</sub> mortalitas larva <i>Crocidolomia binotalis</i> pada beberapa isolat lokal dengan perlakuan dermal .....	18
6. Grafik LT <sub>50</sub> mortalitas larva <i>Crocidolomia binotalis</i> pada beberapa isolat lokal dengan perlakuan oral .....	21
7. Grafik LT <sub>50</sub> mortalitas larva <i>Crocidolomia binotalis</i> pada beberapa isolat lokal dengan perlakuan dermal .....	22

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Komposisi Media Yeast Salt .....	29
2. Komposisi Media Pepton Sukrose .....	29
3. Komposisi Media Potato Sukrose .....	29
4. Analisa sidik ragam perlakuan oral pengamatan 24 jam .....	30
5. Analisa sidik ragam perlakuan oral pengamatan 48 jam .....	31
6. Analisa sidik ragam perlakuan oral pengamatan 72 jam .....	32
7. Analisa sidik ragam perlakuan oral pengamatan 96 jam .....	33
8. Analisa sidik ragam perlakuan dermal pengamatan 24 jam .....	34
9. Analisa sidik ragam perlakuan dermal pengamatan 48 jam .....	35
10. Analisa sidik ragam perlakuan dermal pengamatan 72 jam .....	36

## I. PENDAHULUAN



REKOR UPT Perpustakaan  
UNIVERSITAS JEMBER

### 1.1 Latar Belakang

Salah satu yang menjadi permasalahan bagi petani dalam budidaya kubis di Indonesia adalah rendahnya tingkat produktivitas tanaman kubis. Rata-rata produksi kubis di Indonesia baru mencapai 18,5 ton/ha (Anonim 1991). Hasil tersebut jauh lebih rendah jika dibandingkan dengan hasil di lapang yang diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Hortikultura Lembang yaitu 40 ton/ha (Tohidin, 1990). Hal tersebut dikarenakan adanya gangguan hama di lapang.

Serangga hama yang biasa menyerang kubis salah satu diantaranya adalah *Crociodomia binotalis* Zeller. Hama ini sangat ganas karena menyerang secara serempak pada awal pembentukan krop terutama daun yang masih muda. (Matnawy, 1994)

Sudarwohadi (1975) menyatakan jika pada musim panas tidak dilakukan pengendalian yang baik pada hama ini, maka kehilangan hasil dapat mencapai 100%. Menurut Kalshoven (1981) pertanaman kubis didataran tinggi dan dataran rendah memiliki tingkat kerusakan yang sama. Hingga saat ini upaya pengendalian hama yang sering dilakukan di Indonesia masih menggunakan insektisida sintetis atau kimiawi, karena cara ini dirasa paling mudah dan hasilnya cepat dilihat (Sulistiyanto dan Ehlers, 1996).

Penggunaan insektisida sintetis pada serangan hama yang tinggi, dilakukan dengan penambahan dosis serta frekuensi penyemprotan yang lebih tinggi juga tanpa melihat akibat lebih lanjut khususnya dampak negatif yang ditimbulkan dari penggunaan insektisida kimiawi atau sintetis. Tanpa disadari ketergantungan penggunaan insektisida tersebut telah mengancam kesehatan manusia dan lingkungan (Kurniati et al., 1993). Insektisida kimiawi yang bersepektrum luas disamping dapat membunuh hama sasaran, juga dapat membinasakan parasitoid, predator, hiperparasit dan makhluk bukan sasaran seperti serangga penyerbuk, serangga pemakan bangkai dan sebagainya. Formulasi insektisida yang persisten sebagian besar tidak dapat terurai (Oka, 1995).

Mengingat dampak negatif yang ditimbulkan akibat pemakaian pestisida sintesis dalam pengendalian hama, maka diperlukan suatu alternatif pengendalian yang berwawasan lingkungan, efektif dan efisien. Menurut Gaugler (1981), nematoda entomopatogen sebagai agensia hayati berpotensi dalam mengatasi masalah hama. Pemanfaatan *Steinernema spp* dan *Heterorhabditis spp* sebagai pengendali serangga telah banyak dikembangkan. Hal ini berkaitan dengan adanya resistensi, resurgensi dan pencemaran lingkungan oleh pestisida kimiawi (Sulistiyanto, 1998).

Nematoda entomopatogen dari jenis *Steinernema spp* dan *Heterorhabditis spp* keduanya mempunyai bakteri simbiosis yaitu *Xenorhabdus spp* dan *Photorhabdus luminescens* (Boemare et al., 1996). Menurut Simoes (1996) terdapat interaksi mutualistik antara nematoda entomopatogen dengan *Xenorhabdus spp* dan *Photorhabdus luminescens*. Bakteri simbiosis tersebut dapat memproduksi toksin dengan aktivitas insektisida yang sangat berperan dalam kematian serangga. Mengingat pentingnya bakteri simbiosis pada proses kematian serangga hama, maka penelitian ini perlu dilakukan untuk mengetahui virulensi bakteri simbiosis *Photorhabdus luminescens* terhadap hama krop kubis *Crocidolomia binotalis*.

## 1.2 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui

1. Virulensi bakteri simbiosis *Photorhabdus luminescens* berdasarkan nilai  $LC_{50}$  dan  $LT_{50}$  terhadap larva *Crocidolomia binotalis*.
2. Media yang paling cocok untuk pembiakan massal bakteri simbiosis *Photorhabdus luminescens*.

## 1.3 Kegunaan Penelitian

Dari hasil penelitian diharapkan dapat diketahui virulensi bakteri *Photorhabdus luminescens* dari beberapa isolat yang diuji dan mengetahui media yang paling cocok untuk mengembangbiakan bakteri *Photorhabdus luminescens* sehingga dapat digunakan sebagai bioinsektisida sebagai usaha pengendalian hama krop kubis *Crocidolomia binotalis*.





## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Biologi Serangga *Crocidolomia binotalis*

Ulat *Crocidolomia binotalis* banyak menyerang tanaman dari keluarga Brassicaceae (Cruciferae) seperti kol, sawi, lobak dan radish (Sudarwohadi dan Permadi, 1992). Bagian tanaman yang diserang adalah bagian dalam yang terlindung daun hingga mencapai titik tumbuh. Jika serangan ini ditambah lagi dengan serangan penyakit, tanaman bisa mati karena bagian dalamnya menjadi busuk, meskipun dari luar kelihatan masih sehat. Warna tubuh ulat ini hijau, pada punggung terdapat garis yang warnanya hijau muda, pada sisi kiri dan kanannya lebih tua dan terdapat rambut dari chitine yang warnanya hitam. Bagian sisi perut berwarna kuning, ada juga warna kuning disertai dengan rambut hijau. Panjang tubuh larva sekitar 18 mm.

#### 2.1.1 Daur Hidup

Serangga ini mengalami metamorfosis sempurna (holometabola) dan termasuk binatang malam, tetapi tidak tertarik cahaya. Bertelur dibalik daun dalam kelompok yang terdiri dari 30-80 butir. Jumlah tiap kelompok yang dihasilkan rata-rata 11 sampai dengan 18 buah (Rismunandar, 1986). Lama stadia telur 4 sampai dengan 8 hari (bervariasi tergantung kondisi tempat). Sedangkan presentase telur menetas adalah 92,4 % (Sudarwohadi dan Permadi, 1992). Telur yang menetas mula-mula berwarna hijau muda, jernih mengkilat dan pada saat akan menetas warna berubah menjadi coklat muda dengan bintik hitam di tengah (Suyanto, 1994).

Menurut Pracaya (1992) setelah telur menetas, ulat akan segera makan daun dengan lahapnya, terutama bagian dalam yang tertutup oleh daun luar karena mereka takut sinar matahari. Jika serangan menghebat ulat akan mencapai titik tumbuh. Fase larva antara 7 sampai dengan 14 hari dengan melewati empat instar, yaitu instar pertama adalah 2 sampai dengan 3 hari, instar kedua adalah 1 sampai dengan 3 hari, instar ketiga adalah 1 sampai dengan 3 hari dan instar keempat adalah 3 sampai dengan 6 hari. Larva instar I yang baru menetas hidup di bawah

daun dengan kepala berwarna hitam dan badan berwarna hijau terang serta mempunyai bercak hitam. Larva instar II berwarna hijau terang dengan panjang tubuh 5,5 sampai dengan 6,1 mm. Larva instar III berwarna hijau dengan panjang tubuh 11 sampai dengan 13 mm. Larva instar empat warna tubuh mulai jelas, dimana terdapat garis memanjang berwarna keputihan, yaitu tiga pada dorsal dan satu masing-masing pada lateral. Pada umumnya setelah pergantian kulit warna bagian dorsal berubah menjadi coklat. Perubahan ini dilanjutkan dengan perubahan tingkah laku menjadi pasif, suatu tanda awal dimana larva akan menjadi pupa (Priyono dan Hassan, 1992).

### 2.1.2 Pupa

Menurut Pracaya (1992) ulat berkepompompong di dalam tanah dengan kokon yang diselimuti butiran tanah. Kokon yang terbentuk tipis berwarna coklat kekuningan dan akan menjadi gelap pada akhir stadia pupa. Panjang pupa mencapai 10,5 mm, lebar 2 sampai 3 mm dan lamanya stadia 10 sampai dengan 14 hari (Priyono dan Hassan, 1992).

### 2.1.3 Imago

Menurut Kalshoven (1981) serangga betina mempunyai warna kelabu kecoklatan dan sepanjang pinggiran sayap depan berwarna sedikit lebih gelap. Rentangan sayap mencapai 20 sampai dengan 25 mm, sayap tertutup oleh warna coklat yang ditandai oleh garis melintang dengan bagian tepi berbintik putih kelabu. Sayap belakang kekuningan agak transparan dengan pinggiran luar lebih gelap (Othman, 1982 dalam Priyono dan Hassan, 1992).

Imago jantan dan betina dapat dibedakan dengan adanya seberkas rambut berwarna hitam pada tepi anterior dekat pangkal sayap depan (Sudarwohadi dan Setiawati, 1990). Ukuran tubuh serangga jantan adalah 11-14 mm dan serangga betina 8-11 mm. Rentang sayap serangga jantan adalah 22-25 mm dan serangga betina 24-26 mm (Priyono dan Hassan, 1992).

## 2.2 Biologi *Heterorhabditis spp*

Menurut Nguyen dan Smart(1996), famili Heterorhabditidae hanya terdiri dari satu genus *Heterorhabditis* yang terbagi dalam tujuh spesies *Heterorhabditis*. Nematoda golongan *Heterorhabditis* menurut Maggenti (1991) diklasifikasikan, sebagai berikut :

Phylum	: Nematelminthes
Kelas	: Secernentea
Ordo	: Rhabditida
Sub Ordo	: Rhabditina
Famili	: Heterorhabditidae
Genus	: <i>Heterorhabditis</i>
Spesies	: <i>Heterorhabditis spp</i>

Nematoda *Heterorhabditis spp* pada umumnya memiliki ciri-ciri yang membedakan dengan genus lainnya. Karakteristik yang dimiliki antara lain adalah tidak memiliki stylet, bentuk kepala ramping membulat, bagian mulut terdiri dari enam bibir yang sebagian menyatu dengan bagian dasar serta masing-masing bibir mempunyai sebuah labial papila dan dua papila tambahan. Bagian posterior dari stoma hilang dan menyatu dengan bagian dimana menyatunya bagian pro-, meso- dan metarhabdion. Procorpus dari bagian esophagus berbentuk lebar dan silindris. Pada bagian basal bulbus terdapat katub yang mereduksi. Pada nematoda betina cincin syaraf terletak pada bagian pertengahan isthmus, sedangkan pada nematoda jantan terletak pada bagian basal bulbus (Poinar, 1979 dalam Kaya dan Stock, 1989).

Pada tubuh juvenil infeksi selalu diselubungi sarung atau pembalut dengan bentuk panjang menonjol. Kutikula terdapat garis tepi seperti pita halus dengan tonjolan di bidang badan samping. Kepala dan gigi dorsal yang menonjol mulut dan anus tertutup, stoma kelihatan tertutup ruang dinding paralel. Esophagus dan intestine melipat, batas lubang ekskretori pada posterior sampai nerve ring. Bakteri simbiotik *Photorhabdus luminescens* terdapat pada bagian intestine.

Terdapat hubungan simbiosis mutualisme antara nematoda *Heterorhabditis spp* dengan bakteri simbiotiknya. Hubungan saling menguntungkan antara lain adalah

nematoda mendapatkan nutrisi dari bakteri simbiannya, tanpa bakteri simbiotik nematoda tidak dapat berkembang biak dengan baik, nematoda berperan sebagai pelindung sekaligus vektor bagi bakteri dari inang satu ke inang yang lain dan nematoda dapat mematahkan mekanisme pertahanan serangga inang terhadap infeksi dan toksin yang dihasilkan (Chaerani, 1996).

### 2.3 Karakteristik Bakteri Simbion *Photorhabdus luminescens*

Nematoda entomopatogen bersimbiosis dengan bakteri dari famili Enterobacteriaceae yaitu dari genus *Xenorhabdus* (Thomas dan Poinar, 1966 dalam Boemare et al., 1993). Spesies bakteri yang telah diidentifikasi adalah *Xenorhabdus beddingii*, *X. pomarii*, *X. nematophilus* dan *Photorhabdus luminescens* (Woodring dan Kaya, 1988). Terdapat kekhususan asosiasi antara spesies nematoda entomopatogen dengan spesies bakteri simbiannya *Steinernema carpocapsae* dengan *X. nematophilus* dimana juvenil infeksius tidak dapat bersimbiosis dengan bakteri lain selain bakteri *X. nematophilus*. *Photorhabdus luminescens* merupakan bakteri yang diproduksi sebagai makanan penting bagi *Heterorhabditis spp.* Semua *Photorhabdus luminescens* dikulturkan secara invitro hanya untuk strain dari *Heterorhabditis spp.* (Akhrust dan Boemare, 1990).

Menurut Boemare et al. (1993) bakteri nematoda entomopatogen selalu membunuh inang dengan memproduksi toksin dan menunjukkan gejala septicemia. Toksin yang diproduksi oleh bakteri yang bersimbiosis dengan nematoda entomopatogen pada juvenil infeksius merupakan hal penting pada proses patogenik nematoda (Simoes, 1996). *Xenorhabdus spp.* dan *Photorhabdus luminescens* merupakan bakteri gram negatif, anaerob fakultatif dan berbentuk batang dengan flagela yang peritrik (Boemare et al., 1996). Dalam mekanisme kematian serangga bakteri dilepaskan oleh nematoda dalam haemolymph setelah nematoda masuk ke dalam tubuh serangga melalui lubang alami seperti mulut, anus, spirakel atau langsung menembus kutikula serangga. Di dalam tubuh serangga bakteri bereproduksi atau berkembang biak dan menghasilkan kondisi yang sesuai untuk pertumbuhan dan perkembangan nematoda. Nematoda memakan sel bakteri dan jaringan inangnya (Ehlers, 1996).

Bakteri *Photorhabdus luminescens* mempunyai dua fase perkembangan morfologi yang berbeda, yaitu fase primer dan sekunder. Karena itulah yang menyebabkan adanya perbedaan diantara 2 bentuk fase bakteri ini terutama pada pengamatan morfologi bakteri (Woodring dan Kaya, 1988). Karakteristik morfologi dari bakteri *Photorhabdus luminescens* sangat bervariasi pada fase primer dan fase sekunder. Fase primer dapat diperoleh dari larva serangga yang terinfeksi yang dikembangkan pada media buatan yang berumur 24 jam dan selalu diikuti oleh fase sekunder. Bakteri fase primer akan menghasilkan senyawa abiotik lipase, protease dan pigmen yang terlihat pada media yang disebut luminescens. Fase sekunder telah kehilangan dari kemampuan yang dimiliki oleh fase primer diatas dan tidak dapat mendukung pertumbuhan nematoda sebaik fase primer (Gerritsen et al., 1994).

Menurut Boemare et al. (1996) bakteri fase pertama terdapat dalam bentuk yang tidak stabil dengan bentuk batang pendek dan batang panjang, selain itu dalam bentuk primer bakteri simbiosis menghasilkan senyawa antibiotik lecitinase dan bioluminescens (Woodring dan Kaya, 1988), serta menyerap bahan tertentu dari media pertumbuhan. Oleh karena itu karakteristik ini dapat membedakan diantara dua bentuk yang berbeda dari morfologi koloni. Selain itu menurut Krasomil dan Osterfeld (1994) terdapat perbedaan morfologi koloni bakteri dimana pada fase primer koloni bakteri berbentuk granuler, konvek, sirkuler dengan tepi agak rata dan ukurannya lebih kecil dibandingkan dengan fase sekunder, dan pada fase sekunder koloni bakteri berbentuk flat, translucent dengan tepi rata. Fase 1 tidak akan dapat bertahan lama dan akan segera berubah ke fase 2 yang mempunyai kecenderungan stabil dan sel bakterinya berbentuk batang panjang (Krasomil-Osterfeld, 1994).

Menurut Woodring dan Kaya (1988) karakteristik morfologi dari bakteri simbiosis *Photorhabdus luminescens* dapat dilihat dengan menumbuhkan pada berbagai media diantaranya NA red. Pada media NA red terjadi penyerapan neutral red. Morfologi koloni pada fase primer secara umum adalah granuler, konvek, sirkuler dengan tepi agak rata dan ukuran koloni lebih kecil daripada fase

sekunder. Sedangkan karakteristik fisiologi antara lain gram negatif, anaerob dan memproduksi antibiotik yang antagonis terhadap bakteri tertentu.

#### 2.4 Hubungan Bakteri dengan Nematoda

Asosiasi antara bakteri dengan nematoda diketahui banyak keuntungannya. Pada saat bakteri menuju inang yang baru, nematoda akan melindungi bakteri dari mekanisme ketahanan inang. Sedangkan nematoda mendapatkan makanannya dari bakteri (Akhurst dan Boemare, 1990).

Tanpa adanya bakteri simbion nematoda tidak dapat berkembang biak dengan baik, disisi lain bakteri simbion tak dapat bertahan lama tanpa nematoda. Fungsi nematoda bagi bakteri adalah melindungi bakteri dari lingkungan yang ekstrem dan dari kemungkinan adanya protein anti bakteri yang dikeluarkan oleh serangga inang (Ehlers dan Peters, 1995).

#### 2.5 Hipotesis

1. *Potorhabdus luminescens* virulen terhadap hama *Crocidolomia binotalis*.
2. Perbanyakkan bakteri simbion *Photorhabdus luminescens* secara in vitro dapat dilakukan pada beberapa media buatan.



### III METODOLOGI PENELITIAN

#### 3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di laboratorium Perlindungan Tanaman, Program Studi Ilmu Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian Universitas Jember mulai Maret sampai dengan Agustus 2002.

#### 3.2 Bahan dan Alat

Bahan dan alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri Symbion NEP *Photorhabdus luminiscens*, larva *Crocidolomia binotalis*, air steril, gliserin, Nutrien Agar, YS medium, Pepton sukrosa medium, Potato sukrosa medium, Laminar air flow, lampu bunsen, jarum ose, petridish, kertas saring, Alkohol 70% dan 90%, haemocytometer, mikroskop.

#### 3.3 Metode Penelitian

##### 3.3.1 Isolasi dan Perbanyakan Bakteri Symbion NEP *Photorhabdus luminiscens*

Isolat bakteri yang digunakan untuk pembiakan massal antara lain isolat isolat yang berasal dari Ngadas, Panti, Ijen dan Sumberejo. Isolasi bakteri dilakukan pada media NA neutral red dengan cara menggoreskan isolat bakteri yang tersedia, kemudian digoreskan pada media NA neutral red. Setelah diinkubasikan selama 24 jam, maka fase primer bakteri dibiakan pada media YS dan digojok dengan shaker selama 24 jam dan disimpan pada eppendorf tube yang sebelumnya ditambahkan gliserin 15 % dan disimpan pada freezer dengan suhu -25°C. Sehingga dapat digunakan untuk pengujian selanjutnya.

##### 3.3.2 Uji Virulensi Bakteri

Pengujian virulensi *Photorhabdus luminiscens* dilakukan dengan rancangan acak lengkap faktorial (RAL) yang terdiri atas 2 faktor, yaitu :

1. Faktor konsentrasi bakteri yang terdiri atas konsentrasi  $10^1$ ,  $10^2$ ,  $10^3$ ,  $10^4$ ,  $10^5$ ,  $10^6$ ,  $10^7$  dan  $10^8$  sel/ml dengan uji pendahuluan konsentrasi  $10^1$  sampai dengan  $10^5$  sel/ml.
2. Faktor isolat yaitu isolat yang berasal dari Ngadas, Ijen, Panti dan Sumberejo.

Perlakuan menggunakan 3 kali ulangan dan setiap ulangan terdiri atas 10 larva. Metode yang digunakan ada 2 yaitu, metode oral dan metode dermal.

**A. Metode oral.** Pada pengujian ini, bakteri ditumbuhkan pada media NA neutral red, setelah itu fase primer yang terbentuk ditumbuhkan pada media YS dan digojok selama 24 jam pada keadaan gelap. Lalu dilakukan penghitungan jumlah sel bakteri di bawah mikroskop dengan haemocytometer. Dengan konsentrasi  $10^1$  sampai dengan  $10^8$  daun kobis dengan ukuran 5x5 cm yang telah dilukai dimasukan dan direndam selama 5 menit kemudian dikeringanginkan. Lalu larva dimasukan bersama daun yang telah dikeringkan ke dalam petridish yang telah dilapisi kertas saring. Pengamatan mortalitas larva dilakukan selama 24, 48, 72 dan 96 jam.

**B. Metode dermal.** Pada pengujian ini bakteri fase primer dari biakan murni juga ditumbuhkan pada media YS dan digojok selama 24 jam pada keadaan gelap. Lalu dilakukan penghitungan jumlah sel bakteri di bawah mikroskop dengan haemocytometer. Setelah itu menginjektikan isolat bakteri pada bagian abdomen larva (tiga segmen dari belakang) sebanyak kurang lebih 2  $\mu$ l dengan konsentrasi  $10^1$  sampai dengan  $10^8$  sel/ml. Lalu dimasukan pada petridish yang telah dilapisi kertas saring dan daun kobis dengan ukuran 5x5 cm untuk pakannya. Pengamatan mortalitas larva dilakukan selama 24, 48, 72 dan 96 jam.

Parameter yang diamati pada penelitian ini adalah :

1. Mortalitas larva *Crocidolomia binotalis* dengan menghitung prosentase kematian larva berdasarkan rumus Abbot (1925), yaitu :

$$\% \text{ kematian} = \frac{A - B}{100 - B} \times 100\%$$

A = % kematian larva pada perlakuan



B = % kematian larva pada kontrol

Data dianalisa dengan uji Duncan

2. Nilai  $LC_{50}$  dan  $LT_{50}$  dihitung dengan analisa probit (Finney, 1971).

### 3.3.3 Pembiakan Massal Simbion NEP *Photorhabdus luminiscens* pada Beberapa Media Secara In vitro

Pembiakan massal bakteri *Photorhabdus luminiscens* secara in vitro pada beberapa media yaitu, YS medium, Pepton sukrosa medium dan Potato sukrosa medium. Isolat yang paling virulen diisolasi dengan cara menggosokkan pada media NA neutral red dan diinkubasikan selama 24 jam. Setelah itu dipindahkan pada media YS, Pepton Sukrosa serta Potato Sukrosa dan digojok dengan shaker selama 24 jam. Parameter yang diamati adalah jumlah sel/ml dan prosentase mortalitas larva.

## V. SIMPULAN DAN SARAN

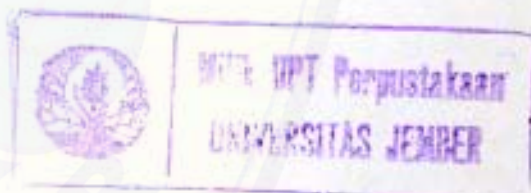
### 5.1 Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa :

1. Isolat Sumberejo adalah yang paling virulen dibanding isolat lainnya, dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar  $9,30 \times 10^5$  dan nilai  $LT_{50}$  sebesar 21,3.
2. Media yang paling sesuai untuk pembiakan massal bakteri *P. luminescens* adalah YS-medium dengan angka pertumbuhan  $50 \times 10^7$  sel/ml dan angka mortalitasnya 64,17%.

### 5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian tersebut maka perlakuan dengan metode oral adalah yang paling tepat untuk diaplikasikan di lapang sebagai pengendalian dan pembiakan massal dengan media yang paling tepat adalah media YS.



DAFTAR PUSTAKA

- 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. p75-90.
- Anonim. 1991. *Produksi Tanaman Sayuran di Indonesia*. Survey Pertanian, Biro Statistik, Jakarta.
- Boemare, N. E., C. Loumond dan H. Mauleon. 1996. The Entomopathogenic Nematodes-Bacterium Complex: biology, Life Cycle and Vertebrate Safety. *Biocontrol Science and Technology*. 6: 333-346p.
- \_\_\_\_\_, M. H. B. Giglio, J. O. Thaler and R. J. Akhurst. 1993. *The Phage and Bacteriocin of Xenorhabdus spp, symbiont of the nematodes Steinernema spp. And Heterorhabditis spp. Nematode and biological control of pest*. 16p.
- Chaerani, M., 1996, Nematoda Patogen Serangga, Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan Bogor, Bogor.
- Ehlers, R. U. and A. Petres. 1995. Entomopathogenic nematodes in biological control feasibility, prespectives and possible risks. *In Biological Control Benefit and Risks*. Cambridge University Press. Cambridge.
- Ehlers. 1996, Current and future use of nematodes in biocontrol: Practise and commercial aspects with regard to regulator policy issues. *Biocontrol, Sci. Tecnol.* 6(3): 304-315p.
- Gaugler, R. 1981. Biological Control Potential of Neoplectana Nematodes. *J. Nematol.* 13 (3): 713-720p.
- Gerritsen L. M. J., J. M. Van der Wolf, J. W. L. Van Vuurde, R. U. Ehlers, K. C. Krasomil-Osterferld, and P. H. Smits. 1994. *Polyclonal Antisera to Distinguish Strains and from Variants of Photorhabdus luminescens (Xenorhabdus luminescens)*. Research Institute for Plant Protection (IPO-DLO) Bienenhoven 12. Cristian-Albrechts-University of Kiel. Klausdonfer Raisdorf. Germany. p28-36.
- Glazer, I. 1992. Biological Control Potential of Neoplectana Nematode. *J. Nematol.* 13(3): 713-720p.
- Jutono, J, J. S. Soedarsono, S. Hartadi, S. Kabirun dan Sutanto. 1972. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Fakultas Pertanian Universitas Gajah Mada. Yogyakarta. p28-30.

- Kalshoven, L. G. F. 1981. *Pest of Crop in Indonesia*. Revised and translated by van der Laan. PT Ichtiar Baru-Van Hoeve. Jakarta. 71p.
- Kaya, H. K. and S. P. Stock. 1989. *Techniques in Insect Nematology*. **Biol. Control Agri**. IPM Sysd. Academic Press. San Diego.
- Krasomil-Osterfeld, K. C. 1994. Phase Variation in *Photorhabdus*, *Xenorhabdus* and other bacteria a review. *Biotechnol. : Genetics of Entomopathogenic Nematode-Bacterium Complex*. European Commission . p. 194-203.
- Kumiati, S., M. Iskandar dan Taryono. 1993. Plasma Nutfah Tanaman Berkadar Racun Hama dalam Suharjan dkk. (eds). *Prosiding Seminar Hasil Penelitian dalam Rangka Pemanfaatan Pestisida Nabati*. Balitro. Bogor. 241-246p.
- Matnawy, H. 1994. *Perlindungan Tanaman*. Kanisius. Yogyakarta. 66-67p.
- Maggenti, A. R. 1991. Nematoda : Higher Classification. In. *Manual of agricultural nematology* (ed. W. R. Nickle). p. 147-187.
- Oka, L. N. 1995. *Pengendalian Hama Terpadu*. Gajah Mada University Press. Yogyakarta. p28 (1-255).
- Othman, N. 1982. *Biology of Crocidolomia binotalis Zell. (Lepidoptera; Pyralidae) and Its Parasites from Cipanas Area (West Java)*. Seameo regional Centre for Tropical Biology. Bogor. 1-17p.
- Pracaya. 1992. *Hama dan Penyakit Tumbuhan*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Prijono, D. dan E. Hassan. 1992. Life Cycle and Demografi of *Crocidolomia binotalis* Zell. (Lepidoptera: Pyralidae) on Broccoli in Laboratory. *Indon. J. Trop. Agriculture*. 4 (1): 18-24p.
- Rismunandar. 1986. *Hama Tanaman Pangan dan Pembasmiannya*. Sinar Baru. Bandung. 92p.
- Simoës N. 1996. Pathogenicity of The Complex *Steinernema carpocapsae* *Xenorhabdus nematophilus*; Molekuler aspect related with virulence. *Bio. Sci. Technol.* 6: 73-83p.
- \_\_\_\_\_ and J. S. Rosa. 1996. Pathogenicity and Host Specificity of Entomopathogenic Nematodes. *Biocontrol Science and Technology*. 6: 403-412p.
- Sudarwohadi, S., 1975, Hubungan Antar Waktu Tanaman Kubis Dengan Dinamika Populasi *Plutella maculipennis* Curt. dan *Crocidolomia binotalis* Zell. *Bull. Hortikultura*. 3(4) : 1-14p.
- \_\_\_\_\_, dan Permadi. 1992. Kubis. Balai Penelitian dan Pengembangan Pertanian Balai Hortikultura. Lembang. 12p.

- , dan W. Setiawati. 1990. Biology and Control of *Crocidolomia binotalis* in Indonesia. In N. S. Takelas eds. **Diamond Back Moth and Other Crucifer Pest**. Prac. Of Second Workshop. Tainan Taiwan. 10-14 December AVPD. Publication.
- Sulistiyanto, D dan R. U. Ehlers. 1996. Efficacy of The Entomopatogenis Nematodes *Heterorhabditis megidis* and *H. bacteriophora* for The Control of Grubs (*P. horticola* and *A. contaminatus*) in Golf-Course Turf. *Biocontrol Science and Technology*. 6: 247-250p.
- Sulistiyanto, D. 1998. Entomotoksin Kompleks Nematoda Entomopatogen. Workshop Nol. Dasar-Dasar Mikrobiologi Molekuler. Puslit Biologi Molekuler Universitas Jember. Jember. 27 Juli-1 Agustus 1998. 3p.
- Suyanto. 1994. *Hama dan Penyakit Tanaman Sayuran*. Penebar Swadaya. Jakarta
- Tohidin. 1990. Kajian pada Sebaran Populasi *Plutella xylostella* L (Lepidoptera: Yponomeutidae) dan *Crocidolomia binotalis* Zell. (Lepidoptera: Pyralidae) Stadia Pradewasa untuk menentukan Ukuran Sampel Optimum pada Tanaman Kobis. Tesis, Pasca Sarjana. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Woodring, J.L. and H.K. Kaya. 1988. Steinernematode and Heterorhabditid Nematodes: a handbook of biology and techniques. Southern Cooperative Series. Bul. 331, Arkansas Agriculture Experiment Station. Fayetteville. Arkansas Agriculture Experiment Station Fayetteville. Arkansas. p132-205.

## Lampiran 1. Komposisi Media Yeast Salt

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

## Lampiran 2. Komposisi Media Pepton Sukrose

No	Jenis Bahan	Jumlah
1.	Pepton	10 gr
2.	Sukrose	10 gr
3.	$\text{H}_2\text{O}$	1000 ml

## Lampiran 3. Komposisi Media Potato Sukrose

No	Jenis Bahan	Jumlah
1.	Kentang	200 gr
2.	Sukrose	20 gr
3.	$\text{H}_2\text{O}$	1000 ml

Lampiran 4. Analisa Sidik Ragam Perlakuan Oral Pengamatan 24 Jam

Sidik Ragam Sumber Keragaman	Pengamatan 24 jam setelah pertakuan					
	dB	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F-hitung	F-tabel 5%    1%	
Perlakuan	31	50.29167	1.622311828	9.733870968 **	1.7050	2.0800
Faktor I	3	15.20833	5.069444444	30.41666667 **	2.7550	4.1050
Faktor K	7	9.12500	1.303571429	7.821428571 **	2.1650	2.9350
Int. IK	21	25.95833	1.236111111	7.416666667 **	1.7050	2.0800
Galat	64	10.86667	0.166666667			
Total	95	576.96745				

Keterangan : \*\* Berbeda sangat nyata  
 \* Berbeda nyata  
 ns Berbeda tidak nyata  
 cv 1.074%

I = Isolat Bakteri

P = Perlakuan

K = Konsentrasi

Lampiran 5. Analisa Sidik Ragam Perlakuan Oral Pengamatan 48 Jam

Sidik Ragam Pengamatan 48 jam setelah perlakuan

Sumber Keragaman	dB	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F-hitung	F-label	
					5%	1%
Perlakuan	31	154.66667	4.989247312	9.210918114 **	1.7050	2.0800
Faktor I	3	58.58333	19.52777778	36.05128205 **	2.7550	4.1050
Faktor K	7	43.83333	6.261904762	11.56043956 **	2.1650	2.9350
Int. IK	21	52.25000	2.488095238	4.593406593 **	1.7050	2.0800
Galat	64	34.66667	0.541666667			
Total	95	9161.01628				

Keterangan : \*\* Berbeda sangat nyata  
 \* Berbeda nyata  
 ns Berbeda tidak nyata  
 cv 0.460%

I = Isolat Bakteri  
 P = Perlakuan  
 K = Konsentrasi



Lampiran 6. Analisa Sidik Ragam Perlakuan Oral Pengamatan 72 Jam

Sidik Ragam Pengamatan 72 jam setelah perlakuan

Sumber Keragaman	dB	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F-hitung	F-tabel	
					5%	1%
Perlakuan	31	198.50000	6.403225806	12.80645161 **	1.7050	2.0800
Faktor I	3	116.58333	38.861111111	77.72222 **	2.7550	4.1050
Faktor K	7	64.33333	9.19047619	18.38095238 **	2.1650	2.9350
Int. IK	21	17.58333	0.837301587	1.674603175 ns	1.7050	2.0800
Galat	64	32.00000	0.5			
Total	95	28613.04883				

Keterangan : \*\* Berbeda sangat nyata  
 \* Berbeda nyata  
 ns Berbeda tidak nyata  
 cv 0.256%

I = Isolat Bakteri  
 P = Perlakuan  
 K = Konsentrasi

Lampiran 7. Analisa Sidik Ragam Perlakuan Oral Pengamatan 96 Jam

Sidik Ragam Pengamatan 96 jam setelah perlakuan

Sumber Keragaman	dB	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F-hitung	F-tabel	
					5%	1%
Perlakuan	31	223.65625	7.214717742	12.82616487 **	1.7050	2.0800
Faktor I	3	71.53125	23.84375	42.38888889 **	2.7550	4.1050
Faktor K	7	124.07282	17.72470238	31.51058201 **	2.1650	2.9350
Int. IK	21	28.05208	1.335813492	2.374779541 **	1.7050	2.0800
Galat	64	36.00000	0.5625			
Total	95	83220.98730				

Keterangan : \*\* Berbeda sangat nyata  
 \* Berbeda nyata  
 ns Berbeda tidak nyata  
 cv 0.180%

I = Isolat Bakteri  
 P = Perlakuan  
 K = Konsentrasi

## Lampiran 8. Analisa Sidik Ragam Perlakuan Dermal Pengamatan 24 jam

Sumber Keragaman	Pengamatan 24 jam setelah perlakuan					F-label	
	dB	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F-hitung	5%	1%	
Perlakuan	31	76.40625	2.464717742	4.38172043 **	1.7050	2.0800	
Faktor I	3	10.53125	3.510416667	6.240740741 **	2.7550	4.1050	
Faktor K	7	58.65625	8.379464286	14.8968254 **	2.1650	2.9350	
Int. IK	21	7.21875	0.34375	0.611111111 ns	1.7050	2.0800	
Galat	64	36.00000	0.5625				
Total	95	104499.97949					

Keterangan :  
 \*\* Berbeda sangat nyata  
 \* Berbeda nyata  
 ns Berbeda tidak nyata  
 cv 0.135%

I = Isolat Bakteri  
 P = Perlakuan  
 K = Konsentrasi

Lampiran 9. Analisa Sidik Ragam Perlakuan Dermal Pengamatan 48 Jam

Sumber Keragaman	dB	Pengamatan 48 jam setelah perlakuan		F-hitung	F-tabel	
		Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah		5%	1%
Perlakuan	31	110.29167	3.557795699	9.231037489 **	1.7050	2.0500
Faktor I	3	7.20833	2.402777778	6.234234234 **	2.7550	4.1050
Faktor K	7	82.62500	11.80357143	30.62548263 **	2.1650	2.9350
Int. IK	21	20.45833	0.974206349	2.527670528 **	1.7050	2.0800
Galat	64	24.66667	0.385416667			
Total	95	188724.64128				

Keterangan :

- \*\* Berbeda sangat nyata
- \* Berbeda nyata
- ns Berbeda tidak nyata
- cv 0.003%
- I = Isolat Bakteri
- P = Perlakuan
- K = Konsentrasi

Lampiran 10. Analisa Sidik Ragam Perlakuan dermal Pengamatan 72 Jam

Sumber Keragaman	dB	Pengamatan 72 jam setelah perlakuan		F-hitung	F-tabel	
		Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah		5%	1%
Perlakuan	31	48.50000	1.564516129	12.51612903 **	1.7050	2.0800
Faktor I	3	1.41667	0.472222222	3.777777778 *	2.7550	4.1050
Faktor K	7	43.83333	6.261904762	50.0952381 **	2.1650	2.9350
Int. IK	21	3.25000	0.154761905	1.238095238 ns	1.7050	2.0800
Galat	64	8.00000	0.125			
Total	95	274544.92773				

Keterangan :

- \*\* Berbeda sangat nyata
- \* Berbeda nyata
- ns Berbeda tidak nyata
- cv 0.039%
- I = Isolat Bakteri
- P = Perlakuan
- K = Konsentrasi

