

KARAKTERISTIK MORFOLOGI, FISILOGI BEBERAPA ISOLAT
LOKAL BAKTERI SIMBIOSE NEMATODA ENTOMOPATOGEN
KOMPLEKS SERTA UJI VIRULENSI PADA LARVA
Plutella xylostella

KARYA ILMIAH TERTULIS
(SKRIPSI)



MILIK PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS JEMBER

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

Oleh:

Mardianto Harahap

NIM. FIE195246

Asal : ; Hadiah
Pembelian
Terima Tgl: 19 MAY 2000
No, Induk : PTL. 2000. 10.174

Klass
576.1
HAR
R

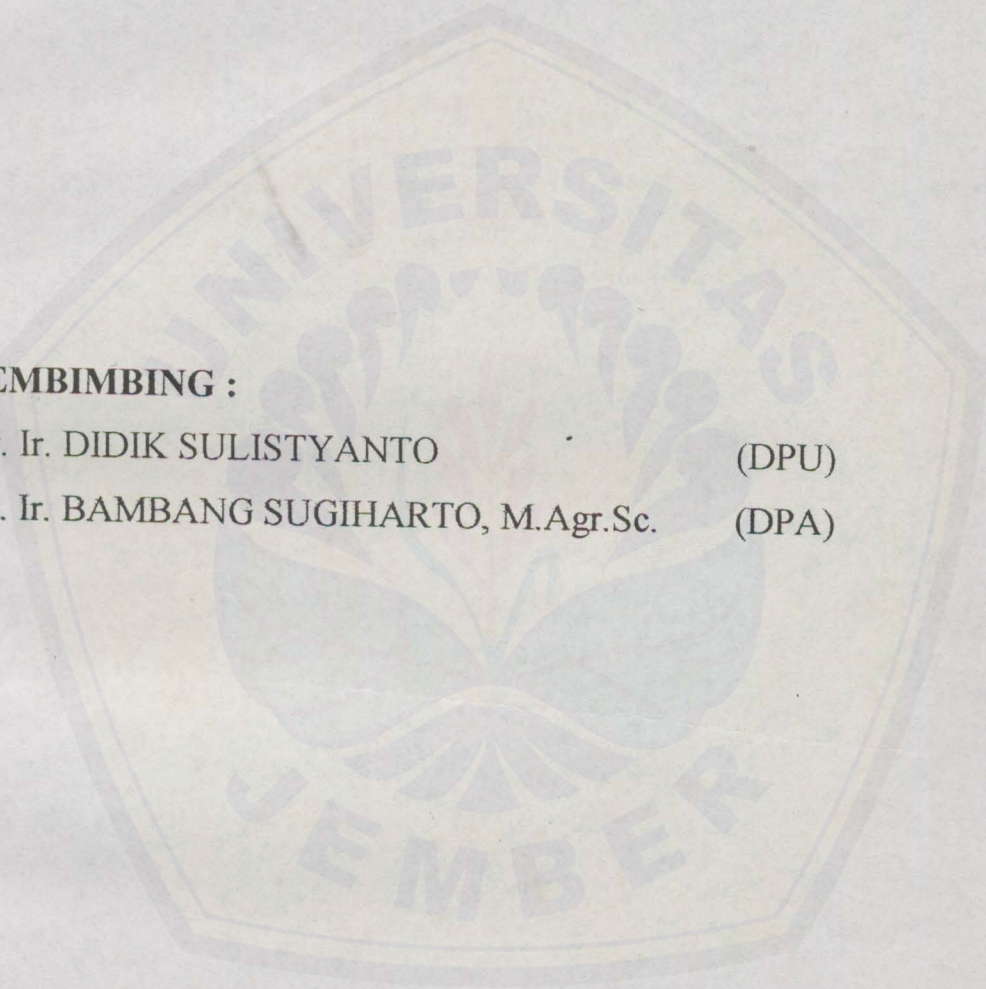
FAKULTAS PERTANIAN UNIVERSITAS JEMBER

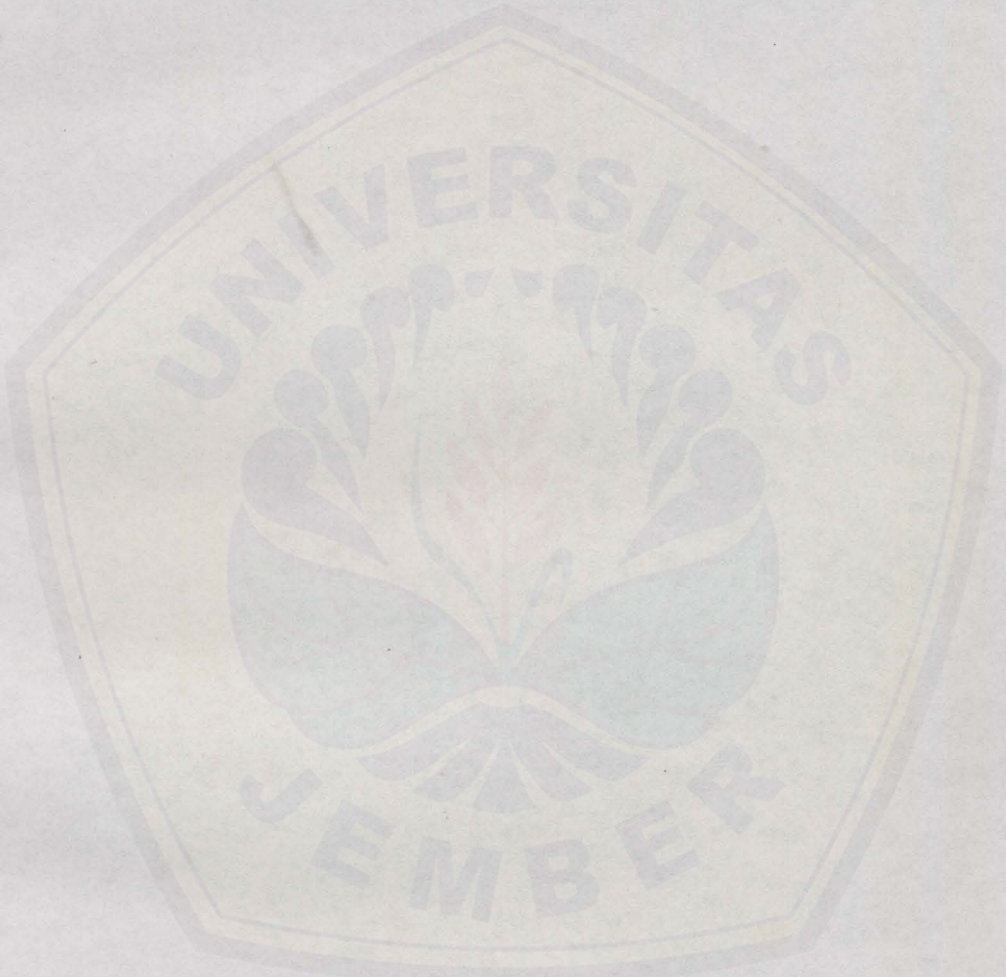
MARET, 2000

PEMBIMBING :

Dr. Ir. DIDIK SULISTYANTO (DPU)

Dr. Ir. BAMBANG SUGIHARTO, M.Agr.Sc. (DPA)





*“Takut akan TUHAN adalah permulaan pengetahuan,-
tetapi orang bodoh menghina hikmat dan didikan.” (Amsal 1:7)*

*“Siapa senantiasa memperhatikan angin tidak akan menabur;
dan siapa senantiasa melihat awan tidak akan menuai.”
(Pengkhotbah 11:4)*



*Kepada :
Mama,
Kakak Dyah,
Abang Ferdinand, Adikku Ana dan Ebdy,
Dany E.S.
Almamaterku "Universitas Jember"*

Diterima Oleh :

FAKULTAS PERTANIAN UNIVERSITAS JEMBER

Sebagai Karya Ilmiah Tertulis (Skripsi)

Dipertahankan pada :

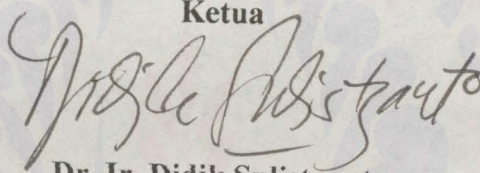
Hari : Jumat

Tanggal : 3 Maret 2000

Tempat : Fakultas Pertanian
Universitas Jember

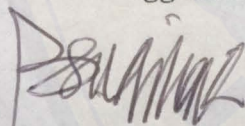
Tim Penguji,

Ketua



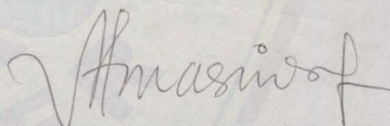
Dr. Ir. Didik Sulistyanto
NIP. 131 792 232

Anggota I



Dr. Ir. Bambang Sugiharto, M.Agr.Sc.
NIP. 131 131 021

Anggota II



Ir. Rachmi Masnilah, MS.
NIP. 131 759 539

Mengetahui,

Dekan



Ir. Sati Hartanti, MS
NIP. 130 350 763

KATA PENGANTAR

Dengan segenap hati penulis mengucapkan puji syukur kehadirat Allah Yang Maha Kuasa atas segala Kasih Karunia sehingga Karya Ilmiah Tertulis yang berjudul **“Karakteristik Morfologi, Fisiologi Beberapa Isolat Lokal Bakteri Simbiose Nematoda Entomopatogen Kompleks *Xenorhabdus* spp. Serta Uji Virulensi Pada Larva *Plutella xylostella*”** ini dapat terselesaikan.

Karya Ilmiah Tulis ini disusun berdasarkan hasil penelitian yang dilaksanakan sejak Januari 1999 sampai dengan Desember 1999 guna melengkapi persyaratan dalam menyelesaikan studi program Strata 1 (S1) pada Program Studi Ilmu Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Jember.

Keberhasilan penelitian ini tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak, maka penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Dr. Ir. Didik Sulistyanto selaku Dosen Pembimbing Utama; Dr. Ir. Bambang Sugiharto, M. Agr. Sc. selaku Dosen Pembimbing Anggota I dan Ir. Rachmi Masnilah, MS. Selaku Dosen Pembimbing Anggota II yang telah memberikan bimbingan, dorongan dan koreksi sejak awal penelitian hingga terselesaikannya penulisan Karya Ilmiah Tertulis ini.
2. Orang tua (Ibu), kakak dan adik penulis yang telah memberikan dorongan baik materiil, moril dan doa selama studi.
3. Dekan Fakultas Pertanian Universitas Jember.
4. Ketua Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian UNEJ.
5. Mahasiswa angkatan 1995 (Dany, Ernest, Ambar, Dyah, Mery, Ismed, dll), rekan-rekan sepelayanan di Perkantas Jember, KSR PMI Unit Unej dan semua pihak yang telah memberikan saran, motivasi dan doa dari awal hingga terselesaikannya penulisan Karya Ilmiah Tertulis ini.

Penulis berharap semoga Karya Ilmiah Tertulis ini dapat memberikan pengetahuan dan bermanfaat bagi semua pihak yang membutuhkan.

Jember, Maret 2000

Penulis

DAFTAR ISI

	halaman
HALAMAN JUDUL	i
PENGESAHAN	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR LAMPIRAN.....	x
ABSTRAK.....	xi
RINGKASAN.....	xii
I. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Tujuan	2
1.3 Kegunaan.....	2
II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Nematoda Entomopatogen.....	3
2.1.1 Patogenisitas Nematoda Entomopatogen	3
2.1.2 Potensi Nematoda Entomopatogen.....	4
2.2 Bakteri Simbiose Nematoda Entomopatogen <i>Xenorhabdus</i> spp....	5
2.2.1 Biologi Bakteri Simbiose Nematoda Entomopatogen.....	5
2.2.2 Karakteristik Morfologi dan Fisiologi Bakteri Simbiose Nematoda Entomopatogen	7
2.2.3 Patogenisitas Bakteri simbiose nematoda entomopatogen.....	9
2.3 Hama Daun Kubis <i>Plutella xylostella</i>	9
2.3.1 Biologi dan Gejala Serangan Hama <i>Plutella xylostella</i>	9
2.3.2 Pengendalian Hama Kubis <i>P.xylostella</i>	11
2.4 Hipotesis.....	11
III. METODOLOGI	
3.1 Tempat Penelitian.....	12

3.2 Metodologi Penelitian.....	12
3.2.1 Isolat Nematoda Entomopatogen	12
3.2.2 Isolasi Bakteri Simbiose Nematoda Entomopatoen	12
3.2.3 Identifikasi Bakteri Dengan Uji Karakteristik Morfologi.....	13
3.2.4 Identifikasi Bakteri Dengan Uji Fisiologis.....	13
3.2.5 Uji Aktivitas Antibiotik (Akhurst, 1982, modifikasi) terhadap <i>Bacillus pumilus</i>	15
3.2.6 Uji Virulensi Bakteri Simbiose Nematoda Entomopatogen terhadap Larva <i>Plutella xylostella</i> dan <i>Tenebrio molitor</i>	15
3.3 Analisa Data.....	16
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Identifikasi Karakteristik Bakteri Nematoda Entomopatogen Isolat Lokal	17
4.1.1 Karakteristik Morfologi	17
4.1.2 Karakteristik Fisiologi.....	22
4.2 Uji Virulensi Bakteri Simbiose Nematoda Entomopatogen	26
V. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan	35
5.2 Saran.....	35
DAFTAR PUSTAKA	36
LAMPIRAN	40

DAFTAR TABEL

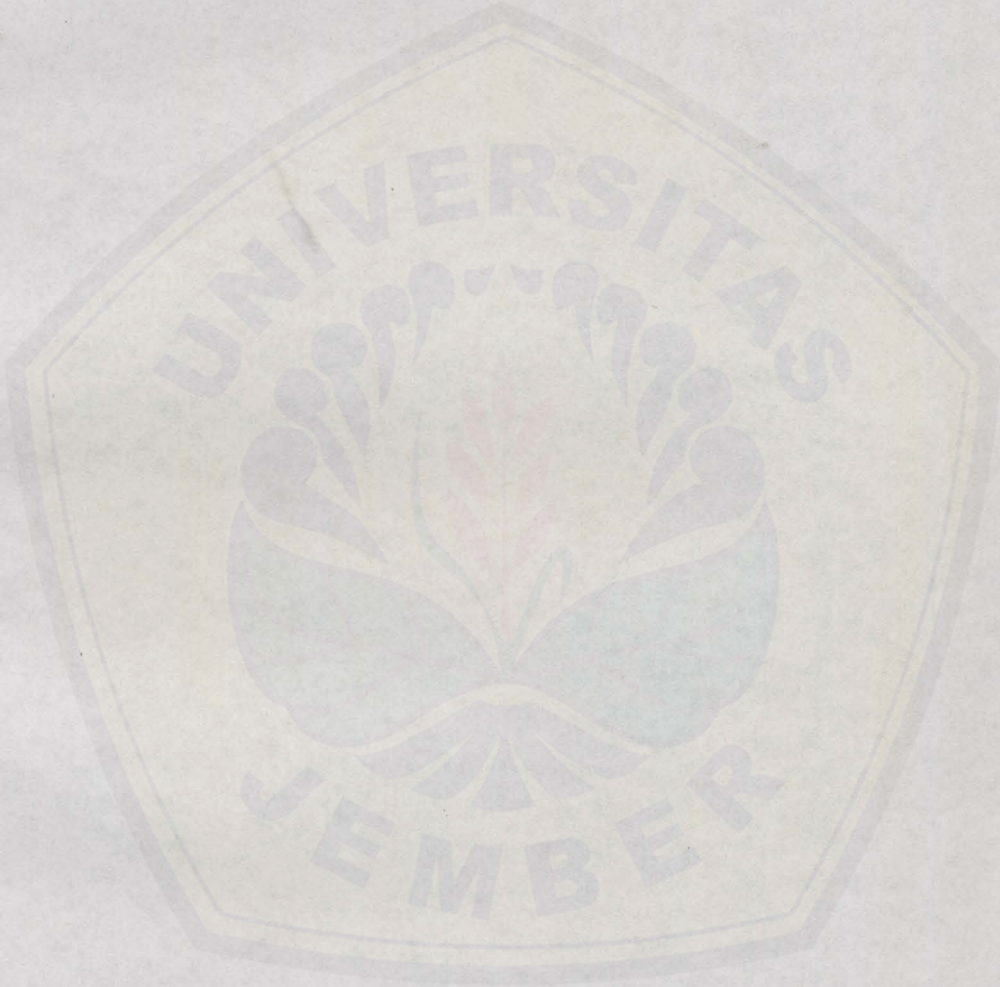
	halaman
1. Hasil pengamatan karakteristik morfologi koloni bakteri nematoda entomopatogen isolat lokal pada beberapa media.....	18
2. Hasil pengamatan bentuk dan ukuran bakteri nematoda entomopatogen isolat lokal	21
3. Hasil pengujian sifat-sifat fisiologis bakteri simbiose nematoda entomopatogen isolat lokal	22
4. Virulensi bakteri simbiose nematoda entomopatogen dengan metode injeksi	28
5. Virulensi bakteri simbiose nematoda entomopatogen dengan metode oral	32

DAFTAR GAMBAR

	halaman
6. Karakteristik morfologi bakteri <i>Xenorhabdus</i> spp. dan <i>Photorhabdus luminescens</i> isolat lokal pada berbagai media	17
7. Bentuk koloni bakteri simbiose nematoda entomopatogen	19
8. Bentuk sel fase primer bakteri simbiose nematoda entomopatogen pada pembesaran 1000 kali dengan mikroskop cahaya	20
9. Zona penghambatan bakteri simbiose nematoda entomopatogen melawan <i>Bacillus pumilus</i>	25
10. Serangga yang terinfeksi bakteri simbiose nematoda entomopatogen ..	27
11. Grafik persen kematian serangga <i>Plutella xylostella</i> dan <i>Tenebrio molitor</i> akibat bakteri <i>P. luminescens</i> (isolat Ngadas) dan <i>X. nematophilus</i> dengan metode injeksi pada hari ke-3	29
12. Grafik persen kematian serangga <i>Plutella xylostella</i> akibat bakteri <i>P. luminescens</i> (isolat lokal) dan <i>X. nematophilus</i> dengan metode oral pada hari ke-3	33

DAFTAR LAMPIRAN

	halaman
13. Komposisi Bahan Pertumbuhan dan Uji Bakteri	40
14. Analisa Probit.....	41
15. Rancangan Acak Lengkap dan Uji Jarak Berganda Duncan	48



ABSTRAK

Nematoda entomopatogen isolat lokal bersimbiose dengan bakteri *Xenorhabdus* spp. atau *Photorhabdus* spp. Bakteri simbiose yang diisolasi dari nematoda entomopatogen isolat lokal Pujon, Cemoro Lawang dan *X. nematophilus* identik dengan *Xenorhabdus* spp. dan isolat Ngadas identik dengan *Photorhabdus luminescens*. Beberapa isolat seperti *Xenorhabdus* sp. (isolat Pujon) dan *P. luminescens* (isolat Ngadas) mempunyai kemampuan menghasilkan antibiotik menekan *Bacillus pumilus* dan hasil uji virulensi dua jenis bakteri (*X. nematophilus* dan *P. luminescens* (isolat Ngadas)) terhadap *Plutella xylostella* dan serangga pembanding *Tenebrio molitor* menunjukkan virulensi yang besar untuk *P. luminescens* (isolat Ngadas) apabila bakteri diinjeksikan kedalam tubuh serangga. Sedangkan dengan mencampurkan bakteri ke dalam kubis, virulensi yang besar ditunjukkan oleh *X. nematophilus*.

ABSTRACT

Local isolates of entomopathogenic nematode is symbiotic bacteria of *Xenorhabdus* spp. or *Photorhabdus* spp. symbionts bacteria which isolated from local isolate of entomopathogenic nematode of Pujon, Cemoro Lawang and *X. nematophilus* identically with *Xenorhabdus* spp and isolat of Ngadas identically with *Photorhabdus luminescens*. Some isolates, such as *Xenorhabdus* (Isolat of Pujon) and *P. luminescens* (isolate of Ngadas) have capability in producing antibiotic suppress to *Bacillus pumillus*. And the result of virulence test from two kinds of bacteria (*X. nematophilus* and *P. luminescens* (isolate of Ngadas)) to *Plutella xylostella* and another insect *Tenebrio molitor* indicates high virulence for *P. luminescens* (isolate of Ngadas) when the bacteria is injected into haemolymph of insect. While, by mixing up the bacteria into cabbage, high virulence indicated by *Xenorhabdus nematophilus*.

RINGKASAN

Mardianto Harahap, F1E195246, Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan pada Fakultas Pertanian Universitas Jember, “Karakteristik Morfologi, Fisiologi Beberapa Isolat Lokal Bakteri Simbiose Nematoda Entomopatogen Kompleks Serta Uji Virulensi Pada Larva *Plutella xylostella*”, dibawah bimbingan Dr. Ir. Didik Sulistyanto dan Dr. Ir. Bambang Sugiharto, M.Agr.Sc.

Di Indonesia telah ditemukan Nematoda entomopatogen dari berbagai daerah. Sebagai bagian dari asosiasi dengan Nematoda, bakteri *Xenorhabdus* dan *Photorhabdus* spp. mempunyai peranan penting dalam membunuh serangga dan memiliki prospek sebagai bioinsektisida dimasa datang. Sebagai isolat lokal yang baru perlu diidentifikasi lebih lanjut dan diteliti kemampuannya dalam membunuh serangga terutama pada hama daun kubis *Plutella xylostella*.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mempelajari karakteristik beberapa bakteri simbiose nematoda entomopatogen isolat lokal (*Xenorhabdus* spp. dan *Photorhabdus* spp.) dan menguji virulensi beberapa bakteri simbiose nematoda entomopatogen kompleks (*Xenorhabdus* spp. dan *Photorhabdus* spp.) isolat lokal pada larva *Plutella xylostella*.

Karakteristik yang diamati adalah karakteristik morfologi bakteri (*Xenorhabdus* sp. (isolat Pujon), *Xenorhabdus* sp. (isolat Cemoro Lawang), *Xenorhabdus nematophilus* dan *Photorhabdus luminescens* (isolat Ngadas)) pada media pertumbuhan Nutrient Agar, Mc. Conkey dan NBTA, karakteristik fisiologis dengan beberapa uji seperti gram, katalase, flourensens, antibiotik melawan *Bacillus pumulus* serta bioluminenscens. Sedangkan pada uji virulensi, bakteri *Xenorhabdus nematophilus* dan *Photorhabdus luminescens* di uji kemampuannya dalam membunuh serangga *Plutella xylostella* dan *Tenebrio molitor* dengan menggunakan metode oral dan metode injeksi.

Berdasarkan hasil penelitian maka dapat diperoleh beberapa kesimpulan sebagai berikut :

1. Bakteri nematoda entomopatogen isolat lokal (isolat Pujon dan Cemoro Lawang) diidentifikasi sebagai *Xenorhabdus* spp. yang bersimbiose dengan

nematoda *Steinernema* spp. dan bakteri isolat lokal Ngadas sebagai *Photorhabdus luminescens* yang bersimbiose dengan nematoda *Heterorhabditis indicus*.

2. Virulensi yang tinggi dalam mengendalikan *Plutella xylostella* dengan metode oral ditunjukkan oleh bakteri *Xenorhabdus nematophilus* dengan LC_{50} 695171,57 sel/ml
3. Virulensi yang tinggi dalam mengendalikan *Plutella xylostella* dengan metode injeksi ditunjukkan oleh bakteri *P. luminescens* (isolat Ngadas) dengan LC_{50} masing-masing $1,9 \times 10^{-7}$
4. Kemampuan bakteri dalam membunuh serangga dapat dipengaruhi oleh senyawa antibiotik yang dihasilkan bakteri, faktor lingkungan, serta persistensi bakteri pada pakan diluar simbiose dengan nematoda.

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Xenorhabdus spp. dan *Photorhabdus* spp. merupakan bakteri yang berasosiasi secara spesifik dengan nematoda jenis *Steinernema* spp. dan *Heterorhabditis* spp. famili Enterobacteriaceae (Ehlers, 1996). Bakteri simbiose tersebut terdapat dalam intestine nematoda *Steinernema* yang kemudian akan dilepaskan di dalam tubuh serangga, berperan dalam proses terbunuhnya serangga inang dengan memproduksi toksin dan menyebabkan *fatal septicemia* (Jarosz, 1996).

Nematoda entomopatogen dan asosiasinya dengan bakteri aman bagi binatang berdarah panas dari vertebrata, dan manusia. Bakteri simbiosis *Xenorhabdus* dan *Photorhabdus* diketahui mengekskresikan beberapa senyawa metabolisme didalam medium broth. Penelitian lebih jauh melaporkan bahwa bakteri simbiosis tidak bersifat toksik dan berisiko rendah bagi manusia terhadap alergi akibat reaksi melawan protein spesifik dari kompleksitas nematoda-bakteri (Boemare *et al.*, 1996).

Spesies-spesies bakteri simbiosis nematoda entomopatogen kompleks yang ditemukan diberbagai belahan dunia berbeda satu sama lain sesuai dengan strain *Steinernema*. Menurut Boemare *et al.*(1996) *X. nematophilus* bersimbiosis dengan *S. carpocapsae*; *X. poinarii* dengan *S. glaseri*; *X. bovienii* dengan *S. feltiae*, *S. afinis*, *S. kraussei* dan *S. intermedia*, sedangkan *S. scapterisci* bersimbiosis dengan bakteri *Xenorhabdus* spp. dan *Photorhabdus luminescens* bersimbiosis dengan *Heterorhabditis bacteriophora*.

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). Pestisida kimia telah banyak dilaporkan tahan terhadap serangga hama terutama terhadap *Plutella xylostella* seperti golongan Carbamat, organophosphorus, pyrethroid, piperonyl butoxide (PB), benzoyl phenyl urea



(BPU) dan abamectin (Sun, 1992). Selain itu adanya ketahanan *P. xylostella* terhadap *Bacillus thuringiensis* seperti yang dilaporkan Tabashnik *et al.* (1992) di Hawaii menyebabkan penggunaan agensia pengendali serangga yang lain mulai dikembangkan.

Di Indonesia telah ditemukan Nematoda entomopatogen dari berbagai daerah. sebagai bagian dari asosiasi dengan Nematoda, bakteri *Xenorhabdus* dan *Photorhabdus* mempunyai peranan penting dalam membunuh serangga. Beberapa penelitian telah mengetahui kemampuan bakteri simbiosis *X. nematophilus* dan *Photorhabdus* dalam mengendalikan beberapa serangga seperti *Galleria mellonella*, *Popilia japonica* dengan persentase kematian rata-rata diatas 60 % (Yeh & Alm, 1992), tetapi untuk serangga *Plutella xylostella* belum ada laporan lebih lanjut. Untuk itu perlu diuji kemampuan bakteri simbiosis tersebut dalam membunuh serangga terutama hama *P. xylostella* terlepas dari simbiosisnya terhadap nematoda entomopatogen sehingga dapat diketahui potensinya sebagai bioinsektisida.

1.2 Tujuan

1. Mempelajari karakteristik beberapa bakteri simbiosis nematoda entomopatogen isolat lokal.
2. Menguji virulensi beberapa bakteri simbiosis nematoda entomopatogen kompleks isolat lokal pada larva *Plutella xylostella*

1.3 Kegunaan

Hasil penelitian dapat digunakan sebagai informasi mengenai beberapa jenis bakteri simbiosis nematoda entomopatogen kompleks isolat lokal baik morfologi, fisiologi maupun virulensinya pada larva serangga uji *Plutella xylostella*, sehingga diketahui potensinya sebagai bioinsektisida di masa depan.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Nematoda Entomopatogen

2.1.1 Patogenisitas Nematoda Entomopatogen

Nematoda patogen serangga dari famili Rhabditidae terdapat dua genus antara lain *Steinernematidae* dan *Heterorhabditidis*. Nematoda entomopatogen ini mempunyai perilaku bermacam-macam, seperti perilaku penyerang “hunters” karena mempunyai kemampuan mencari serangga inang yang tinggi, contohnya *Steinernema glaseri* dan *Heterorhabditis* sp., sedangkan perilaku diam “ambusher” dan menunggu inang sampai berada didekatnya terdapat pada *S. carpocapsae* (Gaugler, 1993 dalam Ehlers, 1996).

Nematoda entomopatogen menembus ke dalam tubuh serangga melalui lubang alami seperti mulut, anus, trakhea, stigma dan atau langsung menembus kutikula yang didukung oleh aktivitas enzim protease yang dihasilkannya (Simões, 1998). Di dalam proses infeksi nematoda patogen serangga terhadap inangnya terdapat adanya interaksi mutualisme antara nematoda patogen serangga dengan bakteri simbion. Setiap nematoda patogen serangga mempunyai interaksi yang sangat spesifik hanya dengan satu spesies *Xenorhabdus* atau *Photorhabdus*, akan tetapi interaksi bakteri simbion dapat terjadi dengan lebih dari satu nematoda patogen serangga (Akhurst & Boemare, 1990). Di dalam tubuh serangga nematoda melepaskan bakteri dari intestine ke dalam haemolimpa dan menyebabkan *fatal septicemia*. Sel-sel bakteri bermultiplikasi dan menjadi makanan nematoda sambil bereproduksi (Jarosz, 1996).

Dalam hal ini nematoda yang melepaskan bakteri ke dalam tubuh inang memperoleh keuntungan antara lain (1) membunuh inang dengan cepat, 24-48 jam, (2) memproduksi antibiotik agar lingkungan cocok bagi perkembangan bakteri dan menghambat invasi dari mikroorganisme sekunder dan (3) menyediakan nutrisi bagi nematoda sedangkan nematoda membutuhkan bakteri sebagai pelindung dari kondisi yang tidak sesuai serta melindungi bakteri dari

kemungkinan adanya protein anti bakteri yang dikeluarkan serangga inang (Ehlers, 1996; Jarosz, 1996).

Gejala yang dialami oleh serangga inang antara lain perubahan warna, tubuh menjadi lembek, bila dibedah konstitusi jaringan menjadi cair dan tidak berbau busuk (Simões & Rosa, 1996).

Dari karakteristik tersebut maka nematoda *Steinernema* spp. dan *Heterorhabditis* spp. mempunyai potensi yang besar sebagai agens pengendali hayati serangga hama yang berwawasan lingkungan. Nematoda entomopatogen telah banyak dipergunakan untuk mengendalikan serangga hama baik pada tanaman pangan, perkebunan, rumput lapangan golf serta hortikultura (Sulistyanto, 1998).

2.1.2 Potensi Nematoda Entomopatogen

Nematoda entomopatogen telah banyak dipergunakan untuk mengendalikan serangga hama baik pada tanaman pangan, perkebunan, rumput lapangan golf serta tanaman hortikultura (Sulistyanto, 1998). Selain dapat diisolasi dari berbagai tempat diseluruh belahan dunia, nematoda Steinernematidae dapat dengan baik mengendalikan hama-hama golongan Lepidoptera seperti *Galleria mellonella*, *Spodoptera exigua*, *Agrotis ipsilon* mencapai 100 % kematian, *Ostrinia nubilalis* mencapai 72 -100% (Caroli *et al.*, 1996); golongan Coleoptera seperti *Tenebrio molitor* mencapai 20 - 100 % kematian (Caroli *et al.*, 1996), *P. japonica* mencapai 17,8 - 99,4 % (Yeh & Alm, 1992) dan golongan Diptera seperti *Liriomyza trifolii* mengalami kematian mencapai 48 - 98 %.

Nematoda entomopatogen Steinernematidae maupun Heterorhabditidae juga merupakan agens pengendali yang baik bagi hama kubis *P. xylostella* yang dikenal secara luas dengan sebutan *Diamond Back Moth* (DBM). DBM yang relatif mampu membentuk sistem kekebalan terhadap insektisida maupun terhadap *Bacillus thuringiensis* ternyata dapat dikendalikan oleh nematoda *Steinernema carpocapsae* (All strain) sebesar 68 %, *S. glaseri* 62 % dan isolat

lokal (Bumiaji) sebesar 48 % dengan nilai LC_{50} semakin besar seiring besarnya instar larva *P. xylostella* (Zuroidah, 1999).

Karena asosiasinya dengan bakteri yang menyebabkan serangga hama mati, maka beberapa penelitian mencoba menggunakan bakteri secara terpisah dengan nematoda. Menurut Yeh & Alm (1992) melalui injeksi sel bakteri terhadap *P. japonica* dan *G. melonella*, *Xenorhabdus poinarii* menunjukkan suatu fenomena bahwa semakin besar konsentrasi sel bakteri (2 - 20.000) maka kematian kedua serangga tersebut cenderung menurun, sedangkan bakteri *X. nematophilus* dan *X. luminescens* menunjukkan kematian yang semakin besar hingga mencapai 100 %.

Untuk itu perlu diteliti lebih lanjut kemungkinan bakteri nematoda entomopatogen digunakan secara terpisah dalam mengendalikan serangga hama terutama *P. xylostella* dan *T. molitor* yang belum banyak dipublikasikan.

2.2 Bakteri Simbiose Nematoda Entomopatogen

2.2.1 Biologi Bakteri Simbiose Nematoda Entomopatogen

Steinernema spp. dan *Heterorhabditis* spp. masing-masing bersimbiose dengan bakteri genus *Xenorhabdus* dan *Photorhabdus* famili Enterobacteriaceae (Ehlers & Hokkanen, 1996). *Xenorhabdus* spp. dan *Photorhabdus* spp. merupakan bakteri Gram negatif, anaerob fakultatif dan berbentuk batang dengan flagela yang peritrik (Boemare *et al.*, 1996). Hanya dua spesies bakteri yang diketahui, yaitu *X. nematophilus* dan *Photorhabdus luminescens*. Akhurst (1983) membagi *X. nematophilus* menjadi empat subspecies antara lain *X. nematophilus*, *X. bovienii*, *X. poinarii*, dan *X. beddingii*. Semua strain tumbuh pada suhu 28°C tetapi tidak semua dapat tumbuh pada suhu 37 °C.

Nematoda *dauer juveniles* (DJs) dapat membawa 0 - 250 sel bakteri simbiosis pada bagian anterior usus yang disebut vesikula. Di dalam DJs, bakteri dilindungi dengan baik dari kondisi yang mengganggu di dalam tanah, sehingga bakteri simbiosis tidak pernah diisolasi dari lingkungan tanah (Ehlers, 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 inang. Tanpa bakteri simbiosis dalam serangga inang, nematoda tidak bisa bereproduksi (Ehlers, 1996).

Menurut Jarosz (1996) dan Ehlers (1996), dalam *haemolymph* serangga bakteri menghasilkan toksin yang dapat menyebabkan *fatal septicemia* pada serangga setelah 2 – 4 hari jika mekanisme pertahanan tubuh serangga tidak sukses dalam mengatasi kompleksitas simbiosis nematoda – bakteri. Serangga inang yang terbunuh tidak mengalami pembusukan sampai timbul generasi selanjutnya dari nematoda *infektive juveniles* (IJs). Hal ini berkaitan dengan senyawa yang dihasilkan oleh bakteri simbiosis (Jarosz, 1996).

Menurut penelitian Simões (1998), entomotoksin yang dihasilkan oleh kompleksitas simbiosis nematoda *S. carpocapsae* dengan bakteri *X. nematophilus* berupa EtScXn pada media biakan serta Entomotoksin B pada larutan garam yang diberi *haemolymph* *Galleria melonella*. Toksin-toksin tersebut dilepaskan pada saat nematoda memasuki tubuh serangga, tetapi *mode of action* dari toksin-toksin tersebut tidak diketahui secara pasti sinkronisasi antara aktifitas toksin dengan kematian serangga. Penyuntikan dengan dosis lethal (LD) menyebabkan serangga berperilaku yang progresif, berlanjut dengan kelumpuhan dan kejang-kejang otot selama tujuh menit sebelum serangga mati. Dalam hal ini patut dipertimbangkan enzim-enzim yang dilepaskan bakteri simbiosis seperti protease, lipase, lecithinase, DNAase dan phosphatase dalam membunuh serangga inang.

Bakteri *Xenorhabdus* maupun *Photorhabdus* cenderung menghasilkan dua bentuk fase berbeda yang disebut dengan bentuk primer (fase I) dan bentuk sekunder (fase II) (Ehlers *et al*, 1990). Fase primer selalu dapat diisolasi dari nematoda DJs (Akhurst, 1980).

Menurut Boemare *et al.* (1996), bakteri fase I terdapat dalam bentuk yang tidak stabil dengan bentuk batang pendek sebesar 80 – 90 % dan batang panjang (*pleomorphic*). Selain itu dalam bentuk primer, bakteri simbion menghasilkan senyawa antibiotik, lecithinase, bioluminescens (Woodring & Kaya, 1988), serta menyerap bahan tertentu dari media pertumbuhan. Sebaliknya, bentuk sekunder kurang baik dalam karakteristik ini. Oleh karena itu menurut Krasomil-Osterfeld (1994), karakteristik ini memungkinkan membedakan diantara dua bentuk yang berbeda dari morfologi koloni. Fase I tidak dapat bertahan lama dan akan segera berubah ke fase II yang mempunyai kecenderungan stabil dan sel bakteri berbentuk batang panjang.

2.2.2 Karakteristik Morfologi dan Fisiologi Bakteri Simbiote Nematoda Entomopatogen

Dalam mengidentifikasi suatu isolat baru perlu diketahui karakteristik bakteri tersebut, baik morfologi maupun fisiologi. *Xenorhabdus* maupun *Photorhabdus* mempunyai dua fase berbeda sehingga menurut Krasomil-Osterfeld (1994), karakteristik ini memungkinkan membedakan diantara dua bentuk yang berbeda dari morfologi koloni.

Menurut Poinar *et al.* (1989) dalam Kaya & Koppenhöfer (1996) yang meneliti aktifitas lytic, aktifitas ini hanya dijumpai pada fase I dan tidak dijumpai pada fase II. Hal ini menunjukkan, fenomena fase yang berbeda dalam morfologi dan fisiologi bakteri dipengaruhi oleh aktifitas lytic.

Karakteristik morfologi dari bakteri simbion *Xenorhabdus* spp. dan *Photorhabdus* spp. dapat dilihat dengan menumbuhkan pada beberapa media agar diantaranya McConkey, NBTA, dan NA (Krasomil-Osterfeld, 1994). Pada media McConkey terjadi penyerapan *neutral red*, sedangkan pada NBTA menyerap *BTB*. Morfologi koloni primer secara umum adalah *granuler, convex, opaque, circular* dengan tepi agak rata dan ukuran lebih kecil dibandingkan dengan koloni sekunder yang berbentuk *flat, translucent* dengan tepi rata (Woodring & Kaya, 1988; Krasomil-Osterfeld, 1994, modifikasi Akhurst, 1980).

Bakteri *Xenorhabdus* spp. mempunyai karakteristik fisiologi antara lain Gram negatif, katalase negatif, bioluminenscens negatif kecuali jenis *Photorhabdus*, memfermentasi laktosa, pencairan gelatin positif, mempunyai aktifitas antibiotik terhadap bakteri tertentu (Woodring & Kaya, 1988), anaerob fakultatif, dan non fluourent (Aguillera, *et al.*, 1993).

Bakteri *Xenorhabdus* dan *Photorhabdus* menghasilkan enzim lekitinase, protease serta entomotoksin (eksotoksin dan endotoksin) yang mempengaruhi proses kematian pada serangga (Boemare *et al.*, 1996) dan warna kemerahan yang disebabkan bakteri *Photorhabdus* dikarenakan bakteri ini menghasilkan bioluminescens (Woodring & Kaya, 1988). Bioluminescens merupakan proses biooksidasi yang merubah energi kimia menjadi energi sinar akibat pengambilan elektron-elektron substrat yang diteruskan secara langsung dari NADH₂ kepada FMN (flavin mononukleotide) dimana elektron tersebut dipindahkan ke molekul-molekul oksigen melalui reaksi enzimatik khusus yang dapat menghasilkan cahaya dan dalam pengangkutan elektron tersebut tidak terbentuk ATP (Jutono *et al.*, 1972).

Senyawa antibiotik yang dihasilkan oleh bakteri yang berupa hydrocyl- dan acetoxyl- yang merupakan turunan senyawa indol, 4-ethyl- dan 4-isophrophyl-3,5-dihydroxy-transitive stilbenes (Paul *et al.*, 1981 dalam Jarosz, 1996), molekul organik (xenocoumarins dan xenorhabdins) dan bakteriosin seperti xenorhabdisin menciptakan suasana yang ideal bagi pertumbuhan dan perkembangan bakteri dan menghambat bakteri sekunder lain di dalam tubuh serangga (Boemare *et al.*, 1996).

Menurut Jarosz (1996), fase I *X. nematophilus* dapat menghambat beberapa bakteri *Bacillus* spp. (*B. cereus*, *B. brevis*, *B. subtilis*, dan *B. alvei*), *Escherichia coli*, *Micrococcus luteus*, dan *Enterobacter cloacae*, tapi fase II tidak. Selain itu Kaya & Koppenhöfer (1996) mengemukakan bahwa antibiotik yang dikeluarkan bakteri simbion juga dapat menghambat pertumbuhan fungi *Beauveria bassiana*. Lebih jauh Jarosz (1996) mengemukakan bahwa aktivitas

antibiotik dapat menghambat bakteri sekunder dalam proses infeksi tetapi hal itu bukan merupakan mekanisme yang pasti.

2.2.3 Patogenisitas Bakteri Simbiose Nematoda Entomopatogen

Menurut Boemare & Givaudan (1998), beberapa *Xenorhabdus* spp. kecuali *X. poinarii* dan beberapa *Photorhabdus* sedikitnya bersifat patogenik terhadap *Galleria melonella* tetapi sebagian besar patogenik terhadap serangga pertanian yang dapat mempertinggi keberadaan pengendalian hayati. Mereka mengemukakan nilai LD_{50} bakteri *X. nematophilus* terhadap *G. melonella* sebesar $1-10^5$ sel hidup dengan metode injeksi dan *X. poinarii* $10^5 - 10^6$ sel hidup. Sedangkan menurut Yeh & Alm (1992), bakteri simbiosis *X. nematophilus* dan *Photorhabdus luminescens* dalam mengendalikan serangga *Galleria mellonella* dan *Popilia japonica* memperoleh persentase kematian rata-rata diatas 60 %. Tapi untuk *Plutella xylostella* belum ada penelitian yang lebih lanjut terhadap kemampuan bakteri dalam membunuh serangga.

Dalam kemampuan membunuh serangga tidak terlepas dari substrat-substrat yang dikeluarkan oleh bakteri seperti protease, lipase, lecithinase, DNAase dan phosphatase. Selain itu adanya entomotoksin (eksotoksin dan endotoksin) mempengaruhi proses kematian pada serangga (Boemare *et al.*, 1996), menghasilkan perilaku yang progresif dan berlanjut dengan kelumpuhan dan kejang-kejang otot selama tujuh menit sebelum serangga mati (Simões, 1998).

2.3 Hama Daun Kubis *Plutella xylostella*

2.3.1 Biologi dan Gejala Serangan Hama *Plutella xylostella*

Plutella xylostella merupakan hama penting pada sayur-sayuran seperti kubis, sawi, kol, petsai dan lobak. Hama ini terkenal dengan sebutan ulat kubis karena selalu dijumpai pada pertanaman kubis. Kadang-kadang disebut juga sebagai hama putih karena kubis yang telah diserangnya menjadi putih akibat tinggal epidermisnya yang tertinggal (Tjahjadi, 1993).



Hama ini mempunyai siklus hidup *holometabola* (sempurna) mulai telur-larva-pupa-imago. Telur berbentuk bulat panjang, lebarnya $\pm 0,26$ mm dan panjangnya 0,49 mm yang diletakkan dibalik daun satu per satu kadang-kadang dua-dua atau tiga-tiga. Telur mengelompok dalam satu daun atau daun yang berlainan tanaman. Stadium telur 3-4 hari untuk ketinggian 1100 - 1200 m dpl dan 2 hari dibawah 250 m dpl (Pracaya, 1993).

Larva *P. xylostella* berukuran kecil $\pm 9-10$ mm dan larva yang baru menetas berwarna hijau pucat sedangkan yang telah dewasa lebih tua dengan warna kepala lebih pucat dengan bintik-bintik atau garis-garis coklat. Ulat bersembunyi dibalik daun sambil makan dan apabila terganggu maka larva akan menjatuhkan diri dengan mengeluarkan benang untuk menyelamatkan diri. Larva terdiri dari empat instar dengan stadia larva 12 hari untuk 1100-1200 m dpl dan sembilan hari pada ketinggian dibawah 250 m dpl (Kalshoven, 1981).

Menurut Pracaya, (1993) larva instar pertama memakan daun kubis dengan jalan membuat lubang galian kedalam permukaan bawah daun, kemudian larva membuat liang-liang korokan kedalam jaringan parenkim sambil makan daun. Larva instar kedua keluar dari liang-liang korok yang transparan dan makan jaringan daun pada permukaan bawah daun. Demikian juga larva ketiga dan keempat. Larva ketiga dan keempat makan bagian daun lebih banyak sehingga meninggalkan ciri yang khas, bekas gigitan larva akan pecah dan menimbulkan lubang besar pada daun kubis.

Setelah cukup umur larva mulai membuat kepompong dari bahan seperti benang sutera abu-abu putih dibalik permukaan daun untuk menghindari panasnya sinar matahari (Tjahjadi, 1993). Pembentukan kepompong mula-mula dibuat dasarnya, sisi, kemudian tutupnya yang masih terbuka pada pagian ujung untuk keperluan pernapasan. Pembuatan kepompong diselesaikan dalam 24 jam (Pracaya, 1993). Setelah selesai ulat berubah menjadi pupa. Mula-mula pupa berwarna hijau muda kemudian menjadi hijau tua dan akhirnya menjadi ngengat (Kalshoven, 1981).

2.3.2 Pengendalian Hama Kubis *P. xylostella*

Pestisida kimia telah banyak dilaporkan tahan terhadap serangga *Plutella xylostella* seperti golongan Carbamat, organophosphorus, pyrethroid, piperonyl butoxide (PB), benzoyl phenyl urea (BPU) dan abamectin (Sun, 1992). Selain itu adanya ketahanan *P. xylostella* terhadap *Bacillus thuringiensis* seperti yang dilaporkan Tabashnik *et al.* (1992) di Hawaii menyebabkan penggunaan agensia pengendali serangga yang lain mulai dikembangkan.

Di Indonesia telah ditemukan Nematoda entomopatogen dari berbagai daerah. *Plutella xylostella* yang dikenal secara luas dengan sebutan *Diamond Back Moth* (DBM) yang relatif mampu membentuk sistem kekebalan terhadap insektisida maupun terhadap *Bacillus thuringiensis* ternyata dapat dikendalikan oleh nematoda *Steinernema carpocapsae* (All strain) sebesar 68 %, *S. glaseri* 62 % dan isolat lokal (Bumiaji) sebesar 48 % dengan nilai LC_{50} semakin besar seiring besarnya instar larva *P. xylostella* (Zuroidah, 1999).

Sebagai bagian dari asosiasi dengan Nematoda, bakteri *Xenorhabdus* mempunyai peranan penting dalam membunuh serangga. Tapi untuk *Plutella xylostella* belum ada penelitian yang lebih lanjut terhadap kemampuan bakteri dalam membunuh serangga. Untuk itu perlu diuji kemampuan bakteri simbiosis tersebut dalam membunuh serangga terutama hama *P. xylostella* terlepas dari simbiosisnya terhadap nematoda entomopatogen sehingga dapat diketahui potensinya sebagai bioinsektisida.

2.4 Hipotesis

1. Ada perbedaan morfologi dan fisiologi dari beberapa bakteri simbiosis nematoda entomopatogen kompleks isolat lokal pada berbagai media.
2. Ada perbedaan virulensi beberapa bakteri simbiosis nematoda entomopatogen kompleks isolat lokal pada uji oral dan dermal dengan menggunakan larva *P. xylostella*.

III. METODOLOGI

3.1 Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan di laboratorium Perlindungan Tanaman Program Studi Ilmu Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Jember.

3.2 Metodologi Penelitian.

3.2.1 Isolat Nematoda Entomopatogen

Nematoda entomopatogen yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah isolat lokal Pujon, Ngadas, Cemoro Lawang dan *Steinernema carpocapsae* (All strain) yang diperoleh dari koleksi yang ada di laboratorium Perlindungan Tanaman Program Studi Ilmu Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Jember.

3.2.2 Isolasi Bakteri Simbiose Nematoda Entomopatogen

Bakteri yang berada dalam intestine nematoda di isolasi dengan cara menginokulasi larva *T. molitor* dalam Petridish dengan nematoda entomopatogen dan diinkubasi selama 24 - 48 jam. Serangga yang mati atau hampir mati disterilkan dengan alkohol 70 % selama 2 - 3 menit, setelah itu dibilas dengan air steril tiga kali dan dikeringkan. *Haemolymph* serangga diambil dengan memotong bagian tertentu pada tubuh serangga dan digoreskan pada media Mc. Conkey. Hasil goresan di inkubasi selama 24 jam untuk mendapatkan bakteri bentuk primer. Koloni merah yang muncul diambil dengan jarum ose dan dibiakkan pada media YS selama 24 jam yang digoyang 400-500 rpm dalam gelap. Setelah itu bakteri diberi glycerol 15 % dan dimasukkan dengan mikropipet Eppendorf dalam caps berukuran 2 ml serta disimpan pada suhu -20°C .

3.2.3 Identifikasi Bakteri Dengan Uji Karakteristik Morfologi

Identifikasi bakteri nematoda entomopatogen isolat lokal dilakukan dengan melihat karakteristik morfologi bakteri yang ditumbuhkan pada beberapa media yang berbeda antara lain NA, McConkey, dan NBTA (Gerritsen & Krasomil-Osterfeld, 1994) dan mengamati penyerapan warna, besar koloni serta bentuk koloni dari masing-masing isolat. Untuk pengamatan secara mikroskopis digunakan pewarnaan negatif dengan menggunakan tinta cina (Lay, 1994). Gelas obyek yang telah dibersihkan dengan alkohol 70 % ditetesi satu tetes tinta cina, bakteri yang telah ditumbuhkan 24 jam diambil sebanyak satu mata ose, diletakkan pada tinta cina dan dicampur. Dengan gelas obyek yang lain campuran tersebut digesekkan kesisi lain dari gelas obyek kemudian dikeringanginkan. Hasil ulasan tersebut diamati dengan mikroskop pada pembesaran 1000x untuk membandingkan besar dan bentuk sel masing-masing bakteri.

3.2.4 Identifikasi Bakteri Dengan Uji Fisiologis

Selain menguji dengan memperhatikan karakteristik morfologi, identifikasi bakteri nematoda entomopatogen isolat lokal juga di uji dengan beberapa pengujian fisiologis seperti uji Gram, uji katalase, dan uji flouresence.

A. Identifikasi Bakteri Dengan Uji Gram

Uji Gram dengan menggunakan KOH 3% bertujuan untuk membedakan sifat reaksi gram bakteri. Pada pengujian ini digunakan biakan bakteri yang berumur 24 jam. Gelas obyek dibersihkan dengan 70% alkohol untuk menghilangkan kotoran atau lemak yang ada. Kemudian gelas obyek dikeringanginkan dengan cara memanaskan diatas api bunsen. Pada gelas obyek tersebut ditetaskan satu tetes KOH 3%, kemudian diletakkan satu ose isolat bakteri yang akan diuji, dicampur dan diaduk sampai merata. Setelah kurang lebih 10 detik, campuran isolat bakteri dengan KOH 3% tadi diangkat perlahan-lahan dengan menggunakan jarum ose. Jika campuran

bersifat lengket setelah diangkat sekitar 1 cm, maka bakteri tersebut bersifat gram negatif dan reaksi tersebut merupakan reaksi positif (Fahy & Hayward, 1983).

B. Identifikasi Bakteri Dengan Uji Katalase

Pada pengujian ini digunakan biakan bakteri yang berumur 24 jam dalam. Gelas obyek yang telah bersih ditetesi dengan satu tetes H_2O_2 3%, kemudian satu "ose" bakteri yang digoreskan dalam NA diambil dan diletakkan di atasnya, dicampur dan diaduk sampai merata. Reaksi positif ditandai dengan terdapatnya gelembung-gelembung udara, karena bakteri menghasilkan enzim Katalase yang menghidrolisis H_2O_2 3% menjadi air dan oksigen. Sedangkan reaksi negatif ditandai dengan tidak terbentuknya gelembung-gelembung udara.

C. Identifikasi Bakteri Dengan Uji Fluorescens

Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui fluoresensi, pijaran warna hijau atau biru. Bakteri yang akan diuji ditumbuhkan pada medium King's B dan diinkubasi selama tiga hari pada suhu kamar. Bila dibawah sinar ultra violet bakteri berpendar hijau kebiruan, maka bakteri menghasilkan senyawa fluorescens dan uji bersifat positif (Lelliot & Stead, 1987).

D. Identifikasi Bakteri Dengan Uji Bioluminenscens

Pengujian ini bertujuan untuk membedakan jenis bakteri dari golongan *Xenorhabdus* dan *Photorhabdus*. Nematoda entomopatogen dari golongan *Heterorhabditis* bersimbiose dengan bakteri *Photorhabdus* yang menghasilkan bioluminescens (Boemare *et al*, 1996). Bakteri yang diuji disuntikkan kedalam tubuh serangga *Tenebrio molitor*, dan serangga yang mati diamati perubahan warna tubuh serangga. Warna kemerahan pada tubuh serangga yang mati menunjukkan bakteri positif dari golongan *Photorhabdus*. Sedangkan warna coklat karamel pada tubuh serangga menunjukkan bakteri tersebut berasal dari golongan *Xenorhabdus*.

3.2.5 Uji Aktifitas Antibiotik (Akhurst, 1982, modifikasi) terhadap *Bacillus pumilus*

Uji aktifitas antibiotik bertujuan untuk mengetahui kemampuan antibiotik dari bakteri simbiose nematoda entomopatogen melawan *Bacillus pumilus*. Bakteri dititikkan pada media NA sebanyak 4 titik dan diinkubasi selama 48 jam. Bakteri *B. pumilus* dibiakkan dalam media YS dan diinkubasi selama 24 jam dalam *shaker* 400-500 rpm. Setelah diinkubasi, biakan *B. pumilus* diberi 40 % NA bersuhu ± 50 °C dan dituang kepermukaan biakan bakteri 48 jam membentuk lapisan diatas bakteri simbiose nematoda entomopatogen. Dua lapis agar tersebut di inkubasi selama 24 – 48 jam dan diamati zona penghambatan disekitar bakteri nematoda entomopatogen.

3.2.6 Uji Virulensi Bakteri Simbiose Nematoda Entomopatogen Terhadap Larva *Plutella xylostella* dan *Tenebrio molitor*

Bakteri yang diuji karakteristiknya dipilih dua isolat yaitu *Xenorhabdus nematophilus* dan *Photorhabdus luminescens* (isolat Ngadas) untuk diuji virulensinya terhadap dua jenis larva yaitu *Plutella xylostella* dan *Tenebrio molitor* dengan menggunakan dua metode uji yaitu metode injeksi dan metode oral. Bakteri yang diuji virulensinya berada pada fase primer sedangkan larva *Plutella xylostella* yang digunakan untuk perlakuan injeksi adalah instar empat dan untuk metode oral menggunakan larva instar tiga. Serangga yang diuji sebanyak 10 larva untuk masing-masing perlakuan konsentrasi dan diulang sebanyak 3 kali.

A. Metode Injeksi

Dalam pengujian ini bakteri fase primer disuntikkan kedalam tubuh serangga dengan menggunakan *mikroshyringe* sebanyak 5 μ l dan 2 μ l masing-masing untuk larva *T. molitor* dan *P. xylostella*. Dalam metode ini dilakukan uji pendahuluan dengan menyuntikkan 0 (Kontrol), 86, 860, 8.600, 86.000, 860.000 sel/ml bakteri *X. nematophilus* dan 0 (Kontrol), 12,

120, 1.200, 12.000, 120.000 sel/ml bakteri *Photobacterium luminescens* (isolat Ngadas) ke masing-masing serangga. Melalui regresi sederhana untuk mencari 50% kematian, diperoleh konsentrasi untuk pengujian bakteri *X. nematophilus* sebesar 0 (Kontrol), 500, 1500, 2500, 3500, dan 4500 sel/ml untuk *P. xylostella* dan 0 (Kontrol), 100, 318, 537, 755, dan 1000 sel/ml untuk *T. molitor*. Sedangkan untuk bakteri *P. luminescens* (isolat Nadas) diperoleh konsentrasi sebesar 0 (Kontrol), 20, 70, 120, 170, dan 220 sel/ml untuk *P. xylostella* dan 0 (Kontrol), 10, 40, 60, 100, dan 130 sel/ml untuk *T. molitor*. Kematian serangga diamati selama 24 – 72 jam.

B. Metode Oral

Bakteri fase primer yang diuji diambil dari caps, ditumbuhkan dalam medium YS selama 24 jam dan dilakukan seri pengenceran dari 10^{-1} s/d 10^{-6} dengan diketahui jumlah konsentrasi bakteri yang ada dalam medium. Kubis sebagai pakan dipotong-potong sebesar 3 x 3 cm, digores dan direndam dalam masing-masing seri pengenceran selama 5 menit kemudian diberikan pada masing-masing serangga sebagai pakan. Kematian serangga diamati 24 – 72 jam.

3.3 Analisa Data

Uji Pendahuluan dari penelitian dianalisa dengan menggunakan analisa regresi sederhana untuk menemukan konsentrasi bakteri yang menyebabkan kematian serangga mencapai 50 %. Data yang diperoleh dari hasil penelitian dianalisa ANOVA (RAL), untuk membedakan antar rerata perlakuan digunakan uji kisaran jarak berganda Duncan (DMRT) pada taraf 5%, dan analisa Probit untuk mendapatkan nilai LC_{50} (Priyono, 1988).

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Identifikasi Karakteristik Bakteri Nematoda Entomopatogen Isolat Lokal

4.1.1 Karakteristik Morfologi

Xenorhabdus spp. merupakan bakteri berbentuk batang yang bersimbiose mutualistik dengan nematoda *Steinernema* spp. didalam *vesikel intestine* nematoda (Boemare *et al.*, 1996). Bakteri simbiose nematoda entomopatogen yang diisolasi dan diuji dalam penelitian ini antara lain *X. nematophilus* yang bersimbiose dengan nematoda *S. carpocapsae* (Akhurst & Boemare, 1988), *Xenorhabdus* spp. (isolat Pujon dan Cemoro Lawang) yang bersimbiose dengan *Steinernema* spp. serta bakteri *Photorhabdus luminescens* (isolat Ngadas) yang bersimbiose dengan nematoda *Heterorhabditis indicus* (isolat Ngadas) (Bahari, 1999).

Hasil isolasi keempat isolat bakteri pada media Nutrient Agar (NA), McConkey dan NBTA menunjukkan karakteristik morfologi yang secara umum sulit dibedakan (gambar 1).



Gambar 1. Karakteristik morfologi bakteri *Xenorhabdus* spp. dan *Photorhabdus luminescens* isolat lokal pada berbagai media (a) McConkey; (b) Nutrient Agar; (c) NBTA

Karakteristik keempat bakteri pada media NA, McConkey dan NBTA (tabel 1) merupakan karakteristik morfologi yang umum ditunjukkan oleh golongan *Xenorhabdus* spp. maupun *Photorhabdus* spp. jika ditumbuhkan pada masing-masing media tersebut (Wooding & Kaya, 1988; Akhurst, 1980 dalam Gerritsen & Krasomil-Osterfeld, 1994).

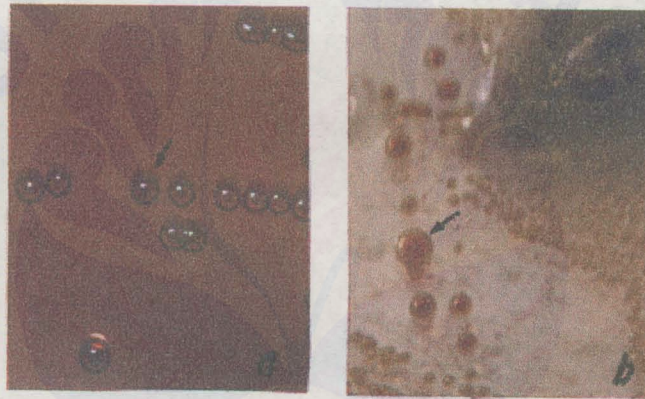
Tabel 1. Hasil Pengamatan Karakteristik Morfologi Koloni Bakteri Nematoda Entomopatogen Isolat Lokal Pada Beberapa Media

Karakteristik Morfologi	Bakteri Simbiose Nematoda Entomopatogen Isolat Lokal			
	<i>P. luminescens</i> (isolat Ngadas)	<i>Xenorhabdus</i> sp. (isolat Pujon)	<i>Xenorhabdus</i> sp. (Isolat C. Lawang)	<i>Xenorhabdus</i> <i>nematophilus</i>
Koloni pd media Nutrient Agar				
Primer	Bulat mengkilat menyerupai lendir, cembung, tepi agak rata dengan struktur dalam meneruskan cahaya, warna koloni putih susu			
Sekunder	Bulat, agak cembung, tepi agak rata, struktur dalam menyerupai pasir dengan warna koloni putih susu kekuningan.			
Koloni pd media McConkey				
Primer	Bulat mengkilat menyerupai lendir, cembung, tepi agak rata dengan struktur dalam meneruskan cahaya, warna koloni merah jernih, terjadi penyerapan <i>neutral red</i> dengan memperlihatkan zona jernih pada media.			
Sekunder	Bulat, agak cembung, tepi agak rata, struktur dalam menyerupai pasir halus dengan meneruskan sinar meskipun benda dibawahnya tidak semua terlihat dengan jelas, warna koloni bagian tengah merah dengan bagian tepi berwarna lebih muda, tidak terjadi penyerapan <i>neutral red</i> dengan tidak adanya zona jernih pada media			
Koloni pd media NBTA				
Primer	Bulat, cembung, tepi agak rata, struktur dalam meneruskan cahaya, warna biru jernih, terjadi penyerapan <i>BTB</i> dengan memperlihatkan zona jernih pada media.			
Sekunder	Bulat, cembung, tepi agak rata, struktur dalam menyerupai pasir halus dan meneruskan sinar meskipun benda dibawahnya tidak semua terlihat dengan jelas, warna koloni bagian tengah merah dengan bagian tepi berwarna lebih muda, tidak terjadi penyerapan <i>BTB</i> dengan tidak adanya zona jernih pada media			

Bakteri *Xenorhabdus* maupun *Photorhabdus* cenderung menghasilkan dua bentuk fase berbeda yang disebut dengan bentuk primer (fase I) dan bentuk sekunder (fase II) (Ehlers *et al*, 1990).

Dalam bentuk primer, bakteri simbiosis menyerap bahan tertentu dari media pertumbuhan. Sebaliknya, bentuk sekunder kurang baik dalam karakteristik ini. Oleh karena itu menurut Krasomil-Osterfeld (1994), karakteristik ini memungkinkan membedakan diantara dua bentuk yang berbeda dari morfologi koloni.

Bentuk morfologi secara umum dari tiga jenis bakteri isolat lokal dan *Xenorhabdus nematophilus* koloni berbentuk bulat mengkilat menyerupai lendir, cembung, tepi agak rata dengan struktur dalam meneruskan cahaya, sedangkan fase sekunder menunjukkan karakteristik koloni berbentuk bulat, agak cembung, tepi agak rata, struktur dalam menyerupai pasir halus dengan meneruskan sinar meskipun benda dibawahnya tidak semua terlihat dengan jelas (gambar 2) (Woodring & Kaya, 1988).

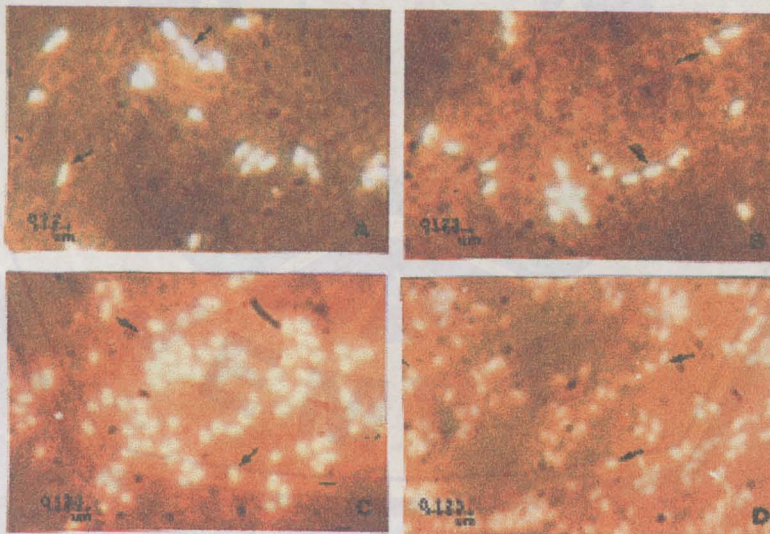


Gambar 2. Bentuk koloni bakteri simbiosis nematoda entomopatogen
a. bentuk koloni primer pada media McConkey;
b. bentuk koloni sekunder pada media NBTA

Pada media McConcey koloni fase primer berwarna merah jernih, terjadi penyerapan *neutral red* dengan memperlihatkan zona jernih pada media. Sedangkan koloni fase sekunder mempunyai karakteristik bagian tengah merah dengan bagian tepi berwarna lebih muda, tidak terjadi penyerapan *neutral red* dengan tidak adanya zona jernih pada media. Pada media NBTA fase primer keempat bakteri tersebut menunjukkan warna biru jernih, terjadi penyerapan *BTB* dengan memperlihatkan zona jernih pada media. Sedangkan fase sekunder menunjukkan warna koloni bagian tengah merah dengan bagian tepi berwarna

lebih muda, tidak terjadi penyerapan *BTB* dengan tidak adanya zona jernih pada media (Woodring dan Kaya, 1988; Krasomil-Osterfeld, 1994, *modifikasi* Akhurst, 1980).

Perbedaan yang jelas terlihat pada morfologi koloni antara lain fase primer cenderung dan bahkan lebih kecil dari pada fase sekunder. Dari hasil pengukuran terhadap fase primer dan sekunder terlihat bahwa koloni bakteri isolat Ngadas yang merupakan *Photorhabdus luminescens* lebih besar dibandingkan koloni isolat lainnya (tabel 2). Koloni primer bakteri *Photorhabdus luminescens* (isolat Ngadas) berdiameter rata-rata 1,72 mm (1,3 – 2 mm), diikuti *Xenorhabdus sp.* (isolat Pujon) 1,66 mm (1,3 – 2 mm), *X. nematophilus* 1,53 mm (1,3 – 1,7 mm) dan *Xenorhabdus sp.* (isolat Cemoro Lawang) 1,26 mm (1 – 1,8 mm), sedangkan diameter koloni sekunder berturut-turut *Photorhabdus luminescens* (isolat Ngadas) 3,1 mm (2 – 4 mm), *Xenorhabdus sp.* (isolat Pujon) 2,38 mm, *Xenorhabdus sp.* (isolat Cemoro Lawang) 1,86 mm dan *X. nematophilus* 1,625 mm.



Gambar 3. Bentuk sel fase primer bakteri simbiosis nematoda entomopatogen pada pembesaran 1000 kali dengan mikroskop cahaya
a) *P. luminescens* (isolat Ngadas); b) *X. nematophilus*;
c) *Xenorhabdus* (isolat Pujon); d) *Xenorhabdus* (isolat C. Lawang)

Dari bentuk sel secara morfologi, keempat bakteri mempunyai bentuk batang pendek untuk fase primer kecuali *Photorhabdus luminescens* (isolat Ngadas) yang tidak tetap (gambar 3).

Dalam hal ini Boemare *et al.* (1996) mengemukakan bahwa bakteri fase I terdapat dalam bentuk yang tidak stabil dengan bentuk batang pendek sebesar 80 – 90 % dan batang panjang (*pleomorphic*). Fenomena fase yang berbeda dalam morfologi dan fisiologi bakteri menurut Poinar *et al.* (1989) dalam Kaya & Koppenhöfer (1996) dipengaruhi oleh aktifitas lytic yang hanya dijumpai pada fase I dan tidak dijumpai pada fase II.

Tabel 2. Hasil Pengamatan Bentuk dan Ukuran Bakteri Nematoda Entomopatogen Isolat Lokal

Karakteristik morfologi	Bakteri Simbiosis Nematoda Entomopatogen Isolat Lokal			
	<i>P. luminescens</i> (isolat Ngadas)	<i>Xenorhabdus sp.</i> (isolat Pujon)	<i>Xenorhabdus sp.</i> (Isolat C. Lawang)	<i>Xenorhabdus nematophilus</i>
Diameter koloni				
Primer	1,3 – 2 mm	1,3 – 2 mm	1 – 1,8 mm	1,3 – 1,7 mm
Rata-rata	1,72 mm	1,66 mm	1,26 mm	1,53 mm
Sekunder	2 – 4 mm	2 – 3 mm	1,2 – 2,5 mm	1,2 – 2,1 mm
Rata-rata	3,1 mm	2,38 mm	1,86 mm	1,625 mm
Morfologi Sel				
Bentuk Sel				
Primer	batang pendek dan ada yang agak panjang	Batang pendek	Batang pendek	Batang pendek
Panjang Sel				
Primer	1,69 – 5,2 μm	1,82 μm	1,56 μm	1,95 – 2,6 μm
Rata-rata	2,99 μm			2,1 μm
Lebar Sel				
Primer	1,04 μm	1,04 μm	1,04 μm	1,04 μm

Dalam tabel 2 terlihat bahwa *Xenorhabdus sp.* (isolat Cemoro Lawang) berukuran lebih kecil dan *P. luminescens* (isolat Ngadas) yang paling besar. Ukuran sel dalam pembesaran 1000 x tersebut berturut-turut *P. luminescens* (isolat Ngadas) berkisar 1,69 – 5,2 x 1,04 μm , *X. nematophilus* berkisar 1,95 – 2,6 x 1,04 μm , *Xenorhabdus sp.* (isolat Pujon) berkisar 1,82 x 1,04 μm dan *Xenorhabdus sp.* (isolat Cemoro Lawang) berukuran 1,56 x 1,04 μm .

4.1.2 Karakteristik Fisologis

Identifikasi secara fisiologis terhadap keempat bakteri yang diuji menunjukkan persamaan fisiologis dari bakteri jenis *Xenorhabdus* atau *Photorhabdus* yang telah diteliti sebelumnya. Hasil pengamatan dapat dilihat pada tabel 3 beserta uji fisiologis yang pernah dilakukan.

Tabel 3. Hasil Pengujian Sifat-sifat Fisiologis Bakteri Simbiose Nematoda Entomopatogen Isolat Lokal

No	Jenis Pengujian	Hasil uji fisiologis isolat				<i>Xenorhabdus</i> menurut	
		NG	P	CL	Xn	Woodring & Kaya (1988)	Aguillera <i>et al.</i> (1993)
1.	Gram	-	-	-	-	-	-
2.	Katalase	-	-	-	-	-	-
3.	Fluorescens	-	-	-	-	-	-
4.	Fermentasi Laktosa (Mc. Conkey)	+	+	+	+	+	-
5.	Pigmentasi pada serangga (Bioluminescens)	+	-	-	-	(+) pada <i>Photorhabdus luminescens</i>	
6.	Aktifitas antibiotik Melawan <i>Bacillus pumilus</i>	+	+	-	-		
	Diameter zona penghambatan (mm)						
	a. 24 jam	-	2,5	-	-		
	b. 48 jam	1,5	2,5	-	-		

Keterangan :

NG = Bakteri *Photorhabdus luminescens* (isolat Ngadas)

CL = Bakteri *Xenorhabdus sp.* (isolat Cemoro Lawang)

P = Bakteri *Xenorhabdus sp.* (isolat Pujon)

Xn = Bakteri *Xenorhabdus nematophilus* (All strain)

Dari hasil pengujian, terlihat bahwa bakteri *P. luminescens* (isolat Ngadas) merupakan bakteri gram negatif karena bereaksi positif dengan KOH 3% yang ditandai dengan terbentuknya lendir yang ikut terangkat oleh jarum ose. Demikian juga dengan bakteri *Xenorhabdus sp.* (isolat Pujon), *Xenorhabdus sp.* (isolat Cemoro Lawang) dan *X. nematophilus* menunjukkan reaksi positif yang mengidentifikasi mereka kedalam gram negatif.

Hasil pengujian katalase terhadap *P. luminescens* (isolat Ngadas), *Xenorhabdus sp.* (isolat Pujon), *Xenorhabdus sp.* (isolat Cemoro Lawang) dan *X.*

nematophilus menunjukkan reaksi negatif yang ditandai dengan tidak terbentuknya gelembung-gelembung udara karena bakteri jenis *Xenorhabdus* atau *Photorhabdus* merupakan bakteri fakultatif anaerob (Woodring & Kaya, 1988) dan tidak terdapat enzim katalase yang dapat mengubah H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2 seperti pada bakteri yang tumbuh pada lingkungan aerob (Lay, 1994).

Hasil pengujian fluorescens terhadap keempat bakteri uji 72 jam yang disinari dengan ultra violet menunjukkan reaksi negatif yang mengindikasikan keempat bakteri uji tidak mengandung Fluor yang dapat berpendar bila terkena ultraviolet. Dalam hal ini Aguillera *et al.* (1993) menemukan fenomena yang sama pada *Xenorhabdus* spp. yang bersimbiose dengan *Steinernema scapterisci*.

Hasil uji terhadap pertumbuhan di McConkey menunjukkan reaksi positif dimana keempat bakteri dapat memfermentasikan laktosa dan uji ini positif terhadap jenis *Xenorhabdus* dan *Photorhabdus* spp. (Wooding & Kaya, 1988).

Bioluminescens dilihat dari gejala serangan pada serangga *Plutella xylostella* dan *Tenebrio molitor* yang mati terinfeksi oleh bakteri uji. Serangga yang terinfeksi *P. luminescens* (isolat Ngadas) menunjukkan gejala coklat agak kemerahan yang identik dengan *P. luminescens* dikarenakan bakteri ini menghasilkan bioluminescens (Woodring & Kaya, 1988). Bioluminescens merupakan proses biooksidasi yang merubah energi kimia menjadi energi sinar akibat pengambilan elektron-elektron substrat yang diteruskan secara langsung dari $NADH_2$ kepada FMN (flavin mononukleotide) dimana elektron tersebut dipindahkan ke molekul-molekul oksigen melalui reaksi enzimatik khusus yang dapat menghasilkan cahaya dan dalam pengangkutan elektron tersebut tidak terbentuk ATP (Jutono *et al.*, 1972). Sedangkan serangga yang terinfeksi *Xenorhabdus* sp. (isolat Cemoro Lawang), *Xenorhabdus* sp. (isolat Pujon) dan *X. nematophilus* berwarna coklat kehitaman yang menunjukkan terinfeksi bakteri *Xenorhabdus* spp. (Bahari, 1999).

Ketika serangga dibunuh oleh bakteri, ada kemungkinan bakteri-bakteri sekunder maupun mikroorganisme sekunder masuk ke dalam jaringan tubuh serangga. Tetapi dari gejala kematian serangga yang terinfeksi *Xenorhabdus* spp. maupun *Photorhabdus* spp. tidak mengalami pembusukan. Fenomena ini menurut

Jarosz (1996) diduga karena adanya aktifitas antibiotik yang dihasilkan bakteri *Xenorhabdus* dan *Photorhabdus* spp. fase primer yang dapat menghambat aktifitas bakteri atau mikroorganisme sekunder walaupun ternyata dari uji yang dilakukannya hal tersebut tidak berkorelasi langsung. Tetapi secara umum bakteri *Xenorhabdus* ini mempunyai aktifitas antibiotik (Woodring & Kaya, 1988) yang menyebabkan adanya zona jernih pada permukaan agar yang dapat menghambat *Bacillus cereus*, *B. subtilis*, *E. coli*, dll. (Jarosz, 1996).

Dari pengujian aktifitas antibiotik bakteri simbiose nematoda entomopatogen *P. luminescens* (isolat Ngadas), *Xenorhabdus* sp. (isolat Pujon), *Xenorhabdus* sp. (isolat Cemoro Lawang) dan *X. nematophilus* melawan *B. pumilus* terlihat adanya aktifitas yang berbeda seperti yang ditunjukkan pada tabel 3.

Hasil Pengujian terhadap *X. nematophilus* dan *Xenorhabdus* sp. (isolat Cemoro Lawang) menunjukkan tidak terdapat aktifitas antibiotik melawan *B. pumilus* atau bisa dikategorikan sangat lemah. Hal ini ditunjukkan dengan tidak terlihat adanya zona penghambatan pada lapisan agar. Sedangkan hasil uji terhadap *Xenorhabdus* sp. (isolat Pujon) dan *P. luminescens* (isolat Ngadas) menunjukkan adanya aktifitas antibiotik melawan *B. pumilus* setelah 24 jam dengan diameter zona yang berbeda pada masing-masing bakteri (gambar 4).

Dengan adanya aktifitas antibiotik tersebut dapat disimpulkan bahwa *Xenorhabdus* sp. (isolat Pujon) dan *P. luminescens* isolat Ngadas mempunyai virulensi dan aktifitas menghambat mikroorganisme sekunder yang cukup besar. Senyawa antibiotik yang dihasilkan oleh bakteri berupa hydrocyl- dan acetoxyl- yang merupakan turunan senyawa indol, 4-ethyl- dan 4-isoprophyl-3,5-dihydroxy-transitive stilbenes (Paul *et al.*, 1981 dalam Jarosz, 1996), molekul organik (xenocoumarins dan xenorhabdins) dan bakteriosin seperti xenorhabdisin menciptakan suasana yang ideal bagi pertumbuhan dan perkembangan bakteri dan menghambat bakteri sekunder lain di dalam tubuh serangga (Boemare *et al.*, 1996).



Gambar 4. Zona penghambatan bakteri simbiose nematoda entomopatogen melawan *Bacillus pumilus*.

Perkembangan penghambatan yang berbeda dari *P. luminescens* (isolat Ngadas) dengan *Xenorhabdus sp.* (isolat Pujon) dapat dipengaruhi oleh dua faktor. Pertama, adanya perubahan bentuk fase bakteri dari primer ke sekunder yang cepat. Bakteri fase primer mempunyai aktifitas antibiotik yang baik dibandingkan fase sekunder (Jarosz, 1996). Selain itu adanya aktifitas lytic pada bakteri fase primer yang tidak dapat dijumpai pada bakteri fase sekunder dapat mempengaruhi aktifitas bakteri dalam menghasilkan senyawa antibiotik (Poinar *et al.*, 1989 dalam Kaya & Koppenhöfer, 1996). Kedua, besarnya populasi atau konsentrasi bakteri *B. pumilus* dan bakteri uji (*Xenorhabdus* atau *Photorhabdus*) yang hidup mempengaruhi kemampuan menghambat. Dalam hal ini penelitian yang dilakukan tidak melihat berapa besar konsentrasi bakteri *B. pumilus* yang akan diuji sehingga korelasi antara perkembangan bakteri dan aktifitas penghambatan oleh bakteri uji tidak bisa digambarkan. Hal ini perlu dilakukan penelitian lebih lanjut.

Adanya aktifitas menghambat bakteri lain seperti halnya *B. pumilus* dapat menyebabkan adanya kompetisi dengan mikroorganisme patogen serangga yang lain sehingga memungkinkan kompatibilitas pengendalian serangga berkurang terutama dengan agensia pengendali hayati yang menggunakan bakteri dan jamur.

Hal ini berkaitan dengan adanya laporan Kaya & Koppenhöfer (1996) yang mengemukakan bahwa antibiotik yang dikeluarkan bakteri simbiosis juga dapat menghambat pertumbuhan fungi *Beauveria bassiana*.

Dari perbedaan lemah dan kuatnya aktifitas bakteri ini juga menunjukkan adanya perbedaan jenis dari keempat isolat bakteri simbiosis nematoda entomopatogen isolat lokal terutama dalam tingkat sub spesies. Menurut Woodring dan Kaya (1988), aktifitas antibiotik yang lemah bahkan tidak ada identik dengan *Xenorhabdus nematophilus* subspecies *poinarii* seperti yang ditunjukkan *Xenorhabdus sp.* (isolat Cemoro Lawang) dan *X. nematophilus* sedangkan *P. luminescens* identik dengan *P. luminescens* (isolat Ngadas) dan *Xenorhabdus sp.* (isolat Pujon) identik dengan subspecies *nematophilus*, sub spesies *bovienii* atau subspecies *beddingii*.

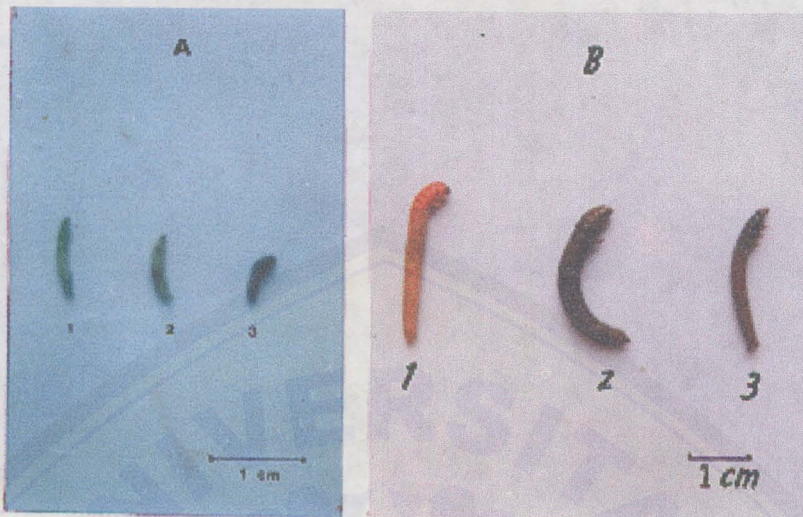
4.2 Uji Virulensi Bakteri simbiosis Nematoda Entomopatogen

Dari keempat isolat bakteri yang diuji karakteristiknya diambil dua isolat yaitu *X. nematophilus* dan *P. luminescens* (isolat Ngadas) untuk diuji virulensinya terhadap hama daun kubis *Plutella xylostella* dan dibandingkan dengan serangga lain yang lebih besar yaitu *Tenebrio molitor*.

Gejala serangan yang terlihat dari serangga *P. xylostella* dan *T. molitor* yang terinfeksi *X. nematophilus* adalah terjadinya perubahan warna tubuh yang semula hijau dan coklat muda untuk masing-masing serangga menjadi coklat karamel dan akhirnya coklat kehitaman, sedangkan untuk gejala yang disebabkan oleh *P. luminescens* (isolat Ngadas) menunjukkan perubahan warna menjadi coklat agak kemerahan (gambar 5).

Dalam kemampuan membunuh serangga tidak terlepas dari substrat-substrat yang dikeluarkan oleh bakteri seperti protease, lipase, lecithinase, DNAase dan phosphatase. Selain itu adanya entomotoksin (eksotoksin dan endotoksin) mempengaruhi proses kematian pada serangga (Boemare *et al.*, 1996), menghasilkan perilaku yang progresif dan berlanjut dengan kelumpuhan dan kejang-kejang otot selama tujuh menit sebelum serangga mati (Simões,

1998). Warna kemerahan yang disebabkan bakteri *Photorhabdus* dikarenakan bakteri ini menghasilkan bioluminescens (Woodring & Kaya, 1988).



Gambar 5. Serangga yang terinfeksi bakteri simbiose nematoda entomopatogen (A1) Larva *P. xylostella* sehat; (A2) Larva *P. xylostella* terinfeksi *X. nematophilus*; (A3) Larva *P. xylostella* terinfeksi *P. luminescens* (isolat Ngadas); (B1) Larva *T. molitor* sehat; (B2) Larva *T. molitor* terinfeksi *P. luminescens* (isolat Ngadas); (B3) Larva *T. molitor* terinfeksi *X. nematophilus*

Hasil pengujian virulensi bakteri *P. luminescens* (isolat Ngadas) terhadap *Plutella xylostella* metode injeksi dengan konsentrasi yang diuji sebesar 0, 20, 70, 120, 170, dan 220 menunjukkan kondisi yang berbeda sangat nyata pada persentase kematian seperti yang ditunjukkan pada tabel 4.

Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi bakteri mempengaruhi kematian dari serangga hama. Nilai LC_{50} yang diperoleh sebesar $1,9 \times 10^{-7}$ sel/ml dengan selang kepercayaan 95% (-12,01) – 29,11. Sedangkan LC_{90} yang diperoleh adalah 146 sel/ml.

Nilai LC_{50} yang diperoleh berada diluar range konsentrasi yang ada karena persentase kematian sampai pada hari ketiga lebih dari 50% bahkan mencapai 80% dengan persamaan regresi $y = 5,97 + 0,14x$.

Tabel 4. Virulensi Bakteri Simbiose Nematoda Entomopatogen dengan Metode Injeksi

Isolat Bakteri	Serangga Uji	Konsentrasi bakteri (sel/ml)	Persentase kematian serangga pada hari ke-				
			1	2	3		
<i>Xenorhabdus nematophilus</i>	<i>Plutella xylostella</i>	0 (Kontrol)	20.00 a	26.67 a	30.00 a		
		500	73.33 de	83.33 bcde	83.33 bcde		
		1500	70.00 bcde	76.67 bcde	76.67 bcde		
		2500	56.67 b	70.00 b	70.00 b		
		3500	63.33 bcd	73.33 bc	73.33 bc		
		4500	56.67 bc	73.33 bcd	73.33 bcd		
		0 (Kontrol)	0.00 a	0.00	0.00		
	<i>Tenebrio molitor</i>	100	3.33 abcd	20.00	23.33		
		318	0.00 ab	23.33	26.67		
		537	0.00 abc	23.33	26.67		
		755	6.67 de	16.67	23.33		
		1000	10.0 e	33.33	40.00		
		<i>Photorhabdus luminiscens</i> (isolat Ngadas)	<i>Plutella xylostella</i>	0 (Kontrol)	20.00 a	26.67 a	30.00 a
				20	90.00 bc	90.00 bc	90.00 bc
70	90.00 bcde			93.33 bcde	93.33 bcd		
120	90.00 bcd			90.00 bcd	93.33 bcde		
170	96.67 bcde			96.67 cde	100.0 bcde		
220	80.00 b			80.00 b	86.67 b		
<i>Tenebrio molitor</i>	0 (Kontrol)		0.00	0.00 a	0.0 a		
	10		0.00	23.33 b	30.00 b		
	40		3.33	43.33 bcde	43.33 bcde		
	68		0.00	23.33 bc	33.33 bcd		
	100	3.33	40.00 bcde	40.00 bcde			
	130	0.00	26.67 bcd	30.00 bc			

Keterangan: 1. Nilai pada baris yang diikuti huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata

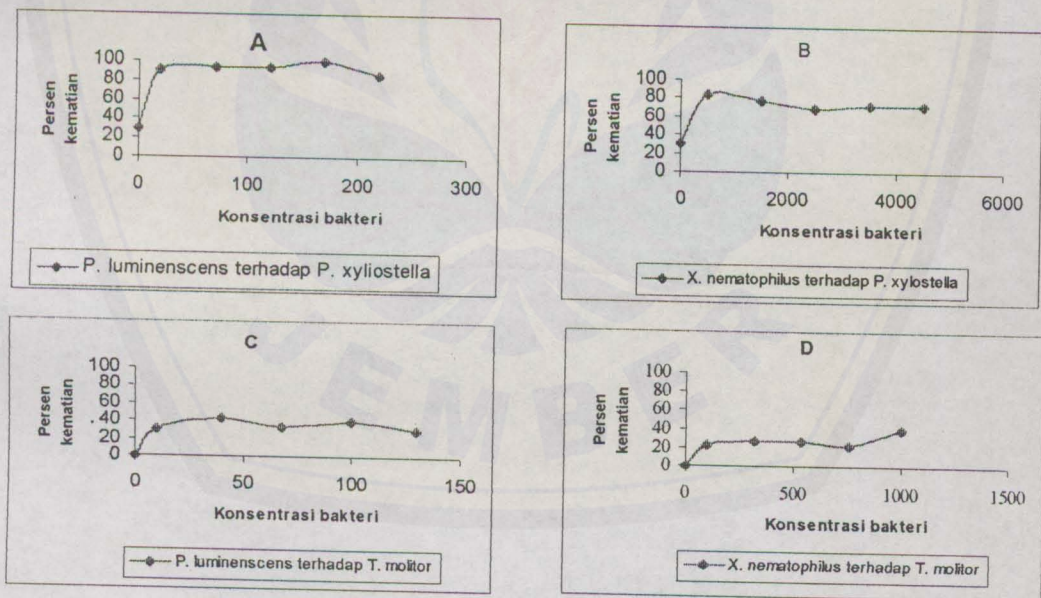
2. Angka yang tidak diikuti huruf menunjukkan berbeda tidak nyata

Hasil pengujian virulensi bakteri *X. nematophilus* terhadap *Plutella xylostella* metode injeksi dengan konsentrasi yang diuji sebesar 0, 500, 1.500, 2.500, 3.500, dan 4.500 menunjukkan kondisi yang berbeda sangat nyata pada persentase kematian seperti yang ditunjukkan pada tabel 4.

Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi bakteri mempengaruhi kematian dari serangga hama. Nilai LC_{50} yang diperoleh sebesar 4704,4 sel/ml dengan selang kepercayaan 95% (-0,57) – 1,42. Sedangkan LC_{75} yang diperoleh adalah 646 sel/ml.

Nilai LC_{50} yang diperoleh berada diluar range konsentrasi yang ada karena persentase kematian sampai pada hari ketiga lebih dari 50% dan terdapatnya fenomena semakin kecil konsentrasi menunjukkan persentase kematian yang besar dengan persamaan regresi $y = 7,85 - 0,77x$. Hal ini menunjukkan konsentrasi bakteri yang dapat membunuh serangga *Plutella xylostella* mencapai puncak maksimum (83,33%) pada konsentrasi 500 sel/ml (Gambar 6B) dan penambahan konsentrasi yang lebih besar mengakibatkan penurunan persentase kematian.

Dibandingkan dengan bakteri *P. luminescens* (isolat Ngadas) yang dapat membunuh serangga *Plutella xylostella* mencapai konsentrasi maksimum (100%) pada konsentrasi 170 sel/ml (Gambar 6A), konsentrasi ini lebih rendah dibandingkan konsentrasi tertinggi *X. nematophilus*. Hal tersebut menunjukkan bahwa bakteri isolat lokal (*P. luminescens*) lebih virulen dibandingkan isolat luar (*X. nematophilus*).



Gambar 6. Grafik persen kematian serangga *P. xylostella* dan *T. molitor* akibat bakteri *P. luminescens* (isolat Ngadas) dan *X. nematophilus* dengan metode injeksi pada hari ke-3

Sedangkan hasil pengujian virulensi bakteri *P. luminescens* (isolat Ngadas) terhadap *T. molitor* metode injeksi dengan konsentrasi yang diuji sebesar

0, 10, 40, 68, 100 dan 130 sel/ml menunjukkan kondisi yang berbeda tidak nyata pada hari pertama karena persentase kematian serangga sangat kecil akibat konsentrasi bakteri yang kecil sehingga membutuhkan waktu yang cukup lama untuk berkembang biak. Dan pada hari kedua dan ketiga hasil pengujian memperlihatkan hasil yang berbeda nyata seperti yang ditunjukkan pada tabel 4.

Hasil berbeda nyata menunjukkan terdapatnya pengaruh konsentrasi terhadap kematian serangga. Dari hasil uji diperoleh nilai LC_{50} sebesar 2×10^7 sel/ml dengan selang kepercayaan 95% 3,96 – 5,20. Sedangkan LC_{25} yang diperoleh adalah 34 sel/ml. Nilai LC_{50} yang diperoleh berada diluar range konsentrasi yang ada karena persentase kematian sampai pada hari ketiga kurang dari 50% dan dengan konsentrasi 34 sel/ml sudah dapat membunuh serangga sebesar 25 %, dengan persamaan regresi $y = 4,5 + 0,1x$.

Dilain pihak hasil pengujian virulensi bakteri *X. nematophilus* terhadap *T. molitor* metode injeksi dengan konsentrasi yang diuji sebesar 0, 100, 318, 537, 755, dan 1.000 menunjukkan kondisi yang berbeda nyata pada hari pertama karena tidak ada kematian pada konsentrasi 318 dan 537 akibat konsentrasi bakteri yang kecil sehingga membutuhkan waktu yang cukup lama untuk berkembang biak. Dan pada hari kedua dan ketiga hasil pengujian memperlihatkan hasil yang berbeda tidak nyata seperti yang ditunjukkan pada tabel 4.

Nilai LC_{50} yang diperoleh sebesar 37592 sel/ml dengan selang kepercayaan 95% 3,22 – 5,53. Sedangkan LC_{25} yang diperoleh adalah 220 sel/ml. Nilai LC_{50} yang diperoleh berada diluar range konsentrasi yang ada karena persentase kematian sampai pada hari ketiga kurang dari 50% dan fenomena yang muncul adalah semakin besar konsentrasi menunjukkan persentase kematian yang besar persamaan regresi $y = 3,63 + 0,3x$.

Gambar 6C menunjukkan konsentrasi bakteri *P. luminescens* (isolat Ngadas) yang dapat membunuh serangga *T. molitor* mencapai puncak maksimum (43,33%) pada konsentrasi 40 sel/ml dan penambahan konsentrasi yang lebih besar mengakibatkan fluktuasi persentase kematian tetapi berada dibawah nilai maksimum. Dibandingkan dengan bakteri *X. nematophilus* yang dapat membunuh

serangga *T. molitor* mencapai konsentrasi maksimum (40%) pada konsentrasi 1000 sel/ml (Gambar 6D), konsentrasi ini lebih tinggi dibandingkan konsentrasi tertinggi *P. luminescens* isolat Ngadas. Hal tersebut menunjukkan bahwa bakteri isolat lokal (*P. luminescens*) lebih virulen dibandingkan isolat luar (*X. nematophilus*).

Persentase kematian terbesar oleh *P. luminescens* (isolat Ngadas) terhadap *Plutella xylostella* maupun *T. molitor* dimungkinkan dengan keberadaan bakteri isolat lokal lebih mampu beradaptasi didalam tubuh serangga yang juga hidup didaerah tropis dengan mengeluarkan toksin dan senyawa antibiotik (Jarosz, 1996; Boemare, *et al.*, 1996). Senyawa antibiotik yang diuji pada *B. pumilus* memperlihatkan bahwa *P. luminescens* (isolat Ngadas) lebih mampu mengeluarkan substrat penghambatan dibandingkan *X. nematophilus* yang menurut Hominick, *et al.* (1996) berasal dari negara-negara subtropis. Hal inilah yang mendasari kemampuan aktifitas membunuh serangga lebih besar pada isolat lokal dari pada isolat luar.

Hasil pengujian virulensi bakteri *X. nematophilus* terhadap *Plutella xylostella* metode oral dengan konsentrasi pengenceran yang diuji sebesar 10^{-1} sampai dengan 10^{-6} menunjukkan kondisi yang berbeda tidak nyata seperti yang ditunjukkan pada tabel 5.

Sampai pada hari ketiga terlihat bahwa pengenceran 10^{-2} mempunyai kemampuan membunuh yang baik yaitu sebesar 67 %. Berbeda dengan metode injeksi yang konsentrasinya cenderung lebih kecil. Ini disebabkan karena dengan perlakuan pakan bakteri membutuhkan waktu yang lama untuk masuk kedalam tubuh serangga dan pengaruh faktor luar dapat mempengaruhi kematian bakteri sebelum termakan oleh serangga. Nilai LC_{50} yang diperoleh sebesar 695171,57 sel/ml dengan selang kepercayaan 95% 7,28 – 5,04. Sedangkan LC_{25} yang diperoleh adalah 1062,92 sel/ml dengan persamaan regresi $y = 3,61 + 0,24x$.

Hasil pengujian virulensi bakteri *P. luminescens* (isolat Ngadas) terhadap *Plutella xylostella* metode oral dengan konsentrasi pengenceran yang diuji sebesar 10^{-1} sampai dengan 10^{-6} menunjukkan kondisi yang berbeda nyata pada hari pertama dan kedua sedangkan hari ke tiga menunjukkan berbeda sangat nyata

seperti yang ditunjukkan pada tabel 5. Hal ini menunjukkan adanya pengaruh konsentrasi bakteri terhadap kematian serangga .

Tabel 5. Virulensi Bakteri Simbiose Nematoda Entomopatogen dengan Metode Oral

Isolat Bakteri	Serangga Uji	Konsentrasi bakteri (sel/ml) / pengenceran	Persentase kematian serangga pada hari ke-		
			1	2	3
<i>Xenorhabdus nematophilus</i>	<i>Plutella xylostella</i>	0 (Kontrol)	0.00	0.00	0.00
		160/10 ⁻⁶	10.0	26.67	26.67
		1.600/10 ⁻⁵	6.67	16.67	20.00
		16.000/10 ⁻⁴	3.33	13.33	20.00
		160.000/10 ⁻³	0.00	33.33	50.00
		1.600.000/10 ⁻²	0.00	43.33	66.67
		16.000.000/10 ⁻¹	4.33	36.67	56.67
	<i>Tenebrio molitor</i>	0 (Kontrol)	0.00	0.00	0.00
		160/10 ⁻⁶	0.00	0.00	0.00
		1.600/10 ⁻⁵	0.00	0.00	0.00
		16.000/10 ⁻⁴	0.00	0.00	0.00
		160.000/10 ⁻³	0.00	0.00	0.00
		1.600.000/10 ⁻²	0.00	0.00	0.00
		16.000.000/10 ⁻¹	0.00	0.00	0.00
<i>Photorhabdus Luminescens</i> (isolat Ngadas)	<i>Plutella xylostella</i>	0 (Kontrol)	0.00 a	0.00 a	0.00 a
		160/10 ⁻⁶	30.00 bcdef	30.00 abcdef	30.00 abcd
		1.600/10 ⁻⁵	16.67 abc	16.67 abc	20.00 ab
		16.000/10 ⁻⁴	23.33 abcd	26.67 abcd	30.00 abcde
		160.000/10 ⁻³	16.67 ab	16.67 ab	20.00 abc
		1.600.000/10 ⁻²	36.67 bcdef	53.33 def	56.67 def
		16.000.000/10 ⁻¹	23.33 abcde	26.67 abcde	30.00 abcdef
	<i>Tenebrio molitor</i>	0 (Kontrol)	0.00	0.00	0.00
		160/10 ⁻⁶	0.00	0.00	0.00
		1.600/10 ⁻⁵	0.00	0.00	0.00
		16.000/10 ⁻⁴	0.00	0.00	0.00
		160.000/10 ⁻³	0.00	0.00	0.00
		1.600.000/10 ⁻²	0.00	0.00	0.00
		16.000.000/10 ⁻¹	0.00	0.00	0.00

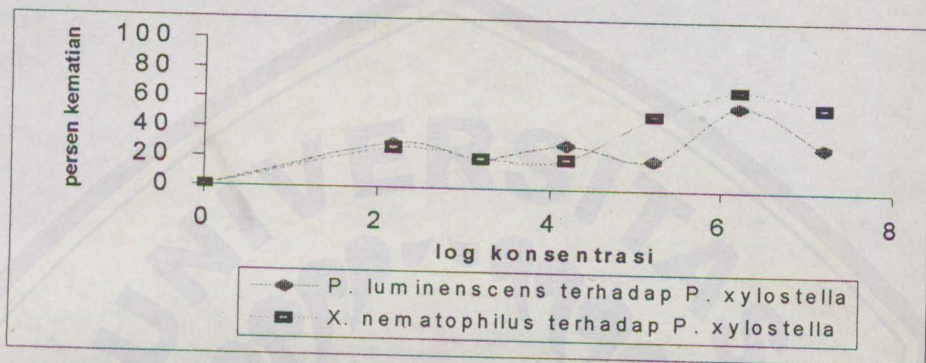
Keterangan: 1. Nilai pada baris yang diikuti huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata

2. Angka yang tidak diikuti huruf menunjukkan berbeda tidak nyata

Sampai pada hari ketiga terlihat bahwa pengenceran 10⁻² mempunyai kemampuan membunuh yang baik yaitu sebesar 56,67 % dan konsentrasi lainnya berkisar antara 20 – 30 %. Sama halnya seperti *X. nematophilus*, ternyata konsentrasi yang paling baik terletak pada pengenceran 10⁻². Nilai LC₅₀ yang diperoleh sebesar 5,8 x 10⁹ sel/ml dengan selang kepercayaan 95% (-55) – 4,85.

Sedangkan LC_{25} yang diperoleh adalah 2046,44 sel/ml dengan persamaan regresi $y = 3,99 + 0,1x$.

Pada pengujian toksisitas bakteri dalam membunuh *P. xylostella* dengan menggunakan pakan ternyata yang paling virulen adalah *X. nematophilus*. Gambar 7 menunjukkan konsentrasi bakteri *P. luminescens* (isolat Ngadas) yang dapat membunuh serangga *P. xylostella* mencapai puncak maksimum (56,67%) pada konsentrasi 1.600.000 sel/ml.



Gambar 7. Grafik persen kematian serangga *P. xylostella* akibat bakteri *P. luminescens* (isolat Ngadas) dan *X. nematophilus* dengan metode oral pada hari ke-3.

Dibandingkan dengan bakteri *X. nematophilus* yang dapat membunuh serangga *P. xylostella* mencapai konsentrasi maksimum (67%) pada konsentrasi yang sama (gambar 7), persentase kematian ini lebih tinggi dibandingkan persentase kematian tertinggi yang disebabkan *P. luminescens* (isolat Ngadas). Selain itu LC_{50} bakteri *X. nematophilus* lebih kecil daripada bakteri *P. luminescens* (isolat Ngadas).

Fenomena ini berbeda dengan metode injeksi dimana bakteri yang virulen pada metode injeksi adalah *P. luminescens* (isolat Ngadas). Hal ini kemungkinan besar disebabkan perbedaan persistensi pada permukaan daun dan faktor luar, yang dalam hal ini *X. nematophilus* lebih mampu mengatasinya dibandingkan *P. luminescens* (isolat Ngadas). Menurut Ehlers (1996) bakteri membutuhkan nematoda untuk melindungi dirinya dari kondisi luar yang dapat membunuhnya. sehingga kepekaan terhadap kondisi lingkungan sangat menentukan hidup atau matinya sel bakteri (Jutono *et al.*, 1972).



Pengaruh lingkungan seperti cahaya mempengaruhi pertumbuhan bakteri, selain itu suhu lingkungan yang tinggi seperti suhu kamar dapat mempercepat laju kerja enzim (Lay, 1994) sehingga dapat mempercepat perubahan bentuk dari primer ke bentuk sekunder. Kandungan air pada permukaan kubis dapat menyebabkan kondisi yang menyebabkan bakteri mengalami plasmolisis akibat lingkungan sekitar bakteri tidak mengandung cukup cairan (Lay, 1994). Hal tersebut dapat didukung dengan waktu yang dibutuhkan serangga untuk memakan kubis yang diberikan, karena pada saat pakan diberikan, serangga tidak akan langsung memakan pakan tersebut. Dalam kasus ini asumsi sementara bakteri *P. luminescens* (isolat Ngadas) lebih rentan dengan kondisi lingkungan dibandingkan *Xenorhabdus nematophilus*. Hal ini yang menyebabkan grafik kematian *P. xylostella* terhadap log konsentrasi mengalami fluktuasi.

Sedangkan hasil pengujian virulensi bakteri *Xenorhabdus nematophilus* dan *P. luminescens* (isolat Ngadas) terhadap *T. molitor* metode oral dengan konsentrasi pengenceran yang diuji sebesar 10^{-1} sampai dengan 10^{-6} tidak menghasilkan kematian pada serangga uji (tabel 5).

Hasil pengujian pakan terhadap *T. molitor* tidak menyebabkan kematian karena serangga kurang begitu suka terhadap kubis sehingga bakteri yang terdapat pada tanaman kubis tidak termakan dan faktor lingkungan menyebabkan bakteri dapat mati.

Dari kedua bakteri yang diuji baik dengan menyuntikkan sel bakteri kedalam tubuh serangga maupun dengan melalui pakan terlihat bahwa bakteri simbiose nematoda entomopatogen terutama isolat lokal mempunyai potensi yang baik sebagai agensia pengendali serangga hama terutama hama daun kubis *Plutella xylostella* dan hama gudang *Tenebrio molitor*, dan diharapkan dapat berperan serta dalam pertanian Indonesia yang berkelanjutan. Hanya yang perlu dipikirkan lebih lanjut adalah bagaimana memformulasikan dan bagaimana membuat bakteri mampu bertahan pada lingkungan terlepas dari simbiose dengan nematoda. Untuk beberapa tahun mendatang lebih baik memanfaatkan kompleksitas simbiose dari nematoda-bakteri karena *mode of entry* dari keduanya telah terbukti dan dapat bertahan lebih lama.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan maka dapat diperoleh beberapa kesimpulan sebagai berikut :

1. Bakteri nematoda entomopatogen isolat lokal (isolat Pujon dan Cemoro Lawang) diidentifikasi sebagai *Xenorhabdus* spp. yang bersimbiose dengan nematoda *Steinernema* spp. dan bakteri isolat lokal Ngadas sebagai *Photorhabdus luminescens* yang bersimbiose dengan nematoda *Heterorhabditis indicus*.
2. Virulensi yang tinggi dalam mengendalikan *Plutella xylostella* dengan metode oral ditunjukkan oleh bakteri *Xenorhabdus nematophilus* dengan LC_{50} 695171,57 sel/ml
3. Virulensi yang tinggi dalam mengendalikan *Plutella xylostella* dengan metode injeksi ditunjukkan oleh bakteri *P. luminescens* (isolat Ngadas) dengan LC_{50} masing-masing $1,9 \times 10^{-7}$
4. Kemampuan bakteri dalam membunuh serangga dapat dipengaruhi oleh senyawa antibiotik yang dihasilkan bakteri, faktor lingkungan, serta persistensi bakteri pada pakan diluar simbiose dengan nematoda.

4.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap bakteri simbiose nematoda entomopatogen isolat lokal dengan uji fisiologis yang lengkap, analisis DNA dan toksin yang dihasilkan melalui elektroforesis, serta kemampuan virulensi bakteri isolat lokal yang lain terhadap serangga hama kubis *Plutella xylostella*, sehingga diperoleh isolat lokal yang benar-benar mempunyai potensi yang besar dalam pengembangan bioinsektisida dimasa datang. Selain itu perlu bagaimana memformulasikan dan membuat bakteri mampu bertahan pada lingkungan terlepas dari simbiose dengan nematoda. Untuk beberapa tahun mendatang lebih baik memanfaatkan kompleksitas simbiose dari nematoda-bakteri karena *mode of entry* dari keduanya telah terbukti dan dapat bertahan dari kondisi lingkungan.

DAFTAR PUSTAKA

- Aguillera, M. M., N. C. Hodge, R. E. Stall & G. C. Smart, Jr., 1993, Bacterial symbionts of *Steinernema scapterisci*, *J. Invert. Pathol.* 62 : 68 – 72.
- Akhurst, R. J., 1980, Morphological and functional dimorphism in *Xenorhabdus* spp. Bacteria symbiotically associated with insect pathogenic nematodes *Neoaplectana* and *Heterorhabditis*, in The influence of phase variants of *Xenorhabdus* spp. And *Escherichia coli* (Enterobacteriaceae) on the propagation of entomopathogenic nematodes of the genera *Steinernema* and *Heterorhabditis* (Ehlers, R.U., S. Stoessel & V. Wyss, 1990), *Rev. Nematol.* 13 (4) : 417 – 424.
- _____, 1983, Taxonomic study of *Xenorhabdus*, a genus of bacteria symbiotically associated with insect pathogenic nematodes in *Xenorhabdus*-nematodes complex as bioinsecticides, <http://129.93.226.138/nematode/wormepns.htm>, Diakses pada tanggal 18 Oktober 1998.
- _____ & N. E. Boemare, 1988, A numerical taxonomic study of the genus *Xenorhabdus* (Enterobacteriaceae) and proposed elevation of the subspecies of *X. nematophilus* to species, *Abstrac dalam* <http://gmv.ifas.ufl.edu/~kbn/biology/XENOPHOT.htm>, Diakses pada tanggal 28 September 1999.
- _____ & N. E. Boemare, 1990. Biology and Taxonomy of *Xenorhabdus* in Entomopathogenic Nematodes in *Biological Control* (R. Gaugler & H.K Kaya. Eds.). CRC. Press. Boca Raton. Florida. 75-90.
- Bahari, R., 1999, Inventarisasi, isolasi dan identifikasi nematoda entomopatogen *Steinernema* spp. Dan *Heterorhabditis* spp. pada tanaman hortikultura di Jawa Timur, *Makalah seminar hasil penelitian untuk skripsi jurusan hama dan penyakit tumbuhan fakultas Pertanian Universitas Jember*, September 1999, Tidak dipublikasikan.
- Boemare, N. E., M. H. Boyer-Giglo, J. O. Thaler & 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 Pests*, 16 (3) : 137 - 145.

- _____, C. Laumond & H. Mauleon, 1996, The entomopatogenic nematode-bacterium complex, biology, life cycle and vertebrate safety, *Biocontr. Sci. Technol.* 6 (3) : 333 - 346.
- Caroli, L., I. Glazer & R. Gaugler, 1996, Entomopathogenic nematode infectivity assay : Comparison of penetration rate into different host, *Biocontr. Sci. Technol.* 6 : 227-233.
- Ehlers, R.U., S. Stoessel & V. Wyss, 1990, The influence of phase variants of *Xenorhabdus* spp. And *Escherichia coli* (Enterobacteriaceae) on the propagation of entomopathogenic nematodes of the genera *Steinernema* and *Heterorhabditis*,
- _____, 1996, Current and future use of nematodes in biocontrol: practise and commercial aspects with regard to regulator policy issues, *Biocontr. Sci. Technol.* 6 (3) : 304-315.
- _____, & H. M. T. Hokkanen, 1996, Insect biocontrol with non-endemic entomopathogenic nematodes (*Steinernema* and *Heterorhabditis* spp.) : conclusions and recommendation of a combined OECD and COST workshop on Scientific and regulatory policy issues, *Biocontr. Sci. Technol.* 6 (3) : 295-302.
- Fahy, P. C. & A. C. Hayward, 1983, Media and methods for isolation diagnostic test, Dalam P. C. Fahy & G. J. Persley (Eds.) *Plant Bacterial Diseases: A Diagnostic Guide*, Sidney : Academic Press. p. 337 - 378
- Gaugler, R., 1993, Ecological genetic of entomopathogenic nematodes, in Current and future use of nematodes in biocontrol: practise and commercial aspects with regard to regulator policy issues (Ehlers, R.U., 1996), *Biocontr. Sci. Technol.* 6 (3) : 304-315.
- Gerritsen, L. J. M & K. C. K. Osterfeld, 1994, Characterization of *Xenorhabdus* & *Photorhabdus* strain and form variants, Summary of a Practical Work Shop Session, *Biotechnol. : Genetics of Entomopatogenic Nematode-Bacterium Complex*, European Commission, p. 194 - 203.
- Hominick, W. M., A. P. Reid, D. A. Bohan & B. R. Biscoe, Entomopathogenic nematodes : Biodiversity, geographical distribution and the convention on biological diversity, *Biocontr. Sci. Technol.* 6 : 317 - 331

- Jarosz, J., 1996, Do antibiotic compound produced in vitro by *Xenorhabdus nematophilus* minimize the secondary invasion of insect carcasses by contaminating bacteria?, *Nematologyca* 42:367-377.
- Jutono, J. Soedarsono, S. Hartadi, S. Kabirun, Suhadi & Soesanto, 1972, *Dasar-dasar Mikrobiologi*, Departemen Mikrobiologi Fakultas Pertanian UGM, Yogyakarta.
- Kalshoven, L.G.E. 1981. *Pest of Crop in Indonesia*. Revised by Van der Laan. PT. Ichtiar Baru-Van Hoeve. Jakarta. 701p.
- Krasomil-Osterfeld, K. C. 1994, Phase variation in *Photorhabdus*, *Xenorhabdus* and other bacteria a review, *Biotechnol. : Genetics of Entomopatogenic Nematode-Bacterium Complex*, European Commission, p. 194 - 203.
- Lay, B. W., 1994, *Analisis Mikroba di Laboratorium*, RajaGrafindo Persada, Jakarta.
- Lelliot, R. A. & D. E. Stead, 1987, *Methods for diagnosis of bacterial diseases on plants*, Second edition, Oxford : Blackwell Scientific Publication, 216 p.
- Paul, V. J., S. Frautschy, W. Fenical & K. H. Nealson (1981), Antibiotics in microbial ecology isolation and structure assignment of several new antibacterial compounds from the insect-symbiotic bacteria *Xenorhabdus* spp, in Do antibiotic compound produced in vitro by *Xenorhabdus nematophilus* minimize the secondary invasion of insect carcasses by contaminating bacteria? (Jarosz, J., 1996), *Nematologyca* 42:367-377.
- Poinar, G. O., Jr, R. Hess, W. Lanier, S. Kinney & J. White, 1989, Preliminary observations of a bacteriophage infecting *Xenorhabdus luminescens* (Enterobacteriaceae) in Effects of microbial and others antagonistic organism and competition on entomopathogenic nematodes (Kaya, H. K. & A. M. Koppenhöfer, 1996), *Biocontr. Sci. Technol.* 6 : 351 – 371.
- Pracaya, 1993, *Hama dan Penyakit Tanaman*, Penebar Swadaya, Jakarta.
- Simões, N. & J. S. Rosa, 1996, Pathogenicity and Host Specificity of Entomopathogenic nematodes, *Biocotr. Sci. Technol.* 6: 403-411.

- _____, 1998, Pathogenicity of complex *Steinernema carpocapsae*-*Xenorhabdus nematophilus*: molekular aspects related with virulence, Entomopathogenic nematodes, Pathogenic of nematodes versus insect defence : impact on selection of virulent strains, *Proceedings of a workshop held at Universidade dos Acores 17 to 20 March 1996*, Ponta Delgada, Acores, Portugal, European Commission, p. 194 - 203.
- Sulistiyanto, D., 1998, Biopestisida Sebagai Alternatif Pengendali Serangga Hama yang Berwawasan Lingkungan, *Makalah Seminar Interdisipliner Universitas Jember 24 Agustus 1998*.
- Sun, C. N., 1992, Insecticide Resistance in Diamondback Moth, Diamondback Moth and other Crucifer pests: *Proceeding of the second international workshop Tainan*, Taiwan 10 -14 December 1990, Asian Vegetable Research and Development Centre.
- Tabashnik, B. E., N. Finson, J. M. Schwartz, M. A. Caprio & M. W. Johnson, Diamondback Moth Resistance to *Bacillus thuringiensis* in Hawaii, Diamondback Moth and other Crucifer pests: *Proceeding of the second international workshop Tainan*, Taiwan 10 -14 December 1990, Asian Vegetable Research and Development Centre.
- Tjahjadi, N., 1993, *Hama dan Penyakit Tanaman*, Kanisius, Yogyakarta.
- Woodring, J. L. and H. K. Kaya, 1988, Steinernematid and Heterorhabditid Nematodes: A Handbook of Biology and Techniques, *Southern Cooperative Series Bulletin 331*, Arkansas Agriculture Experiment Station. Fayetteville, Arkansas.
- Yeh, T. & S. R. Alm, 1992, Effects of entomopathogenic nematode spesies, rate, soil moisture, and bacteria on control of Japanese beetle (Coleoptera: Scarabaeidae) larvae in the laboratory, *J. Econ. Entomol.* 85 : 2144 - 2147.
- Zuroidah, E., 1999, Patogenisitas nematoda entomopatogen *Steinernema carpocapsae* All strain terhadap hama *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera : Plutellidae), *Makalah seminar hasil penelitian untuk skripsi jurusan hama dan penyakit tumbuhan fakultas Pertanian Universitas Jember*, Januari 1999, Tidak dipublikasikan.

Lampiran 1

KOMPOSISI BAHAN PERTUMBUHAN DAN UJI BAKTERI**1. Yeast Salt**

No.	Jenis Bahan	Jumlah
1.	$\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$	0.5 g
2.	K_2HPO_4	0.5 g
3.	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.2 g
4.	NaCl	5 g
5.	Ekstrak Yeast	5 g
6.	Aquadest	1000 ml

2. Nutrient Agar

No.	Jenis Bahan	Jumlah
1.	Standart-I-Nutrient Agar	37 g
2.	1000 ml	1000 ml

3. NBTA

No.	Jenis Bahan	Jumlah
1.	Standart-I-Nutrient Agar	37 g
2.	Bromthymol Blue (BTB)	0.025 g
3.	Aquadest	1000 ml
4.	pH $\geq 8,5$ setelah 50 °C ditambah TTC (tambahkan 2-3 ml aquadest dan sterilkan lewat millipore 0,2 μm)	0.04

4. McConkey

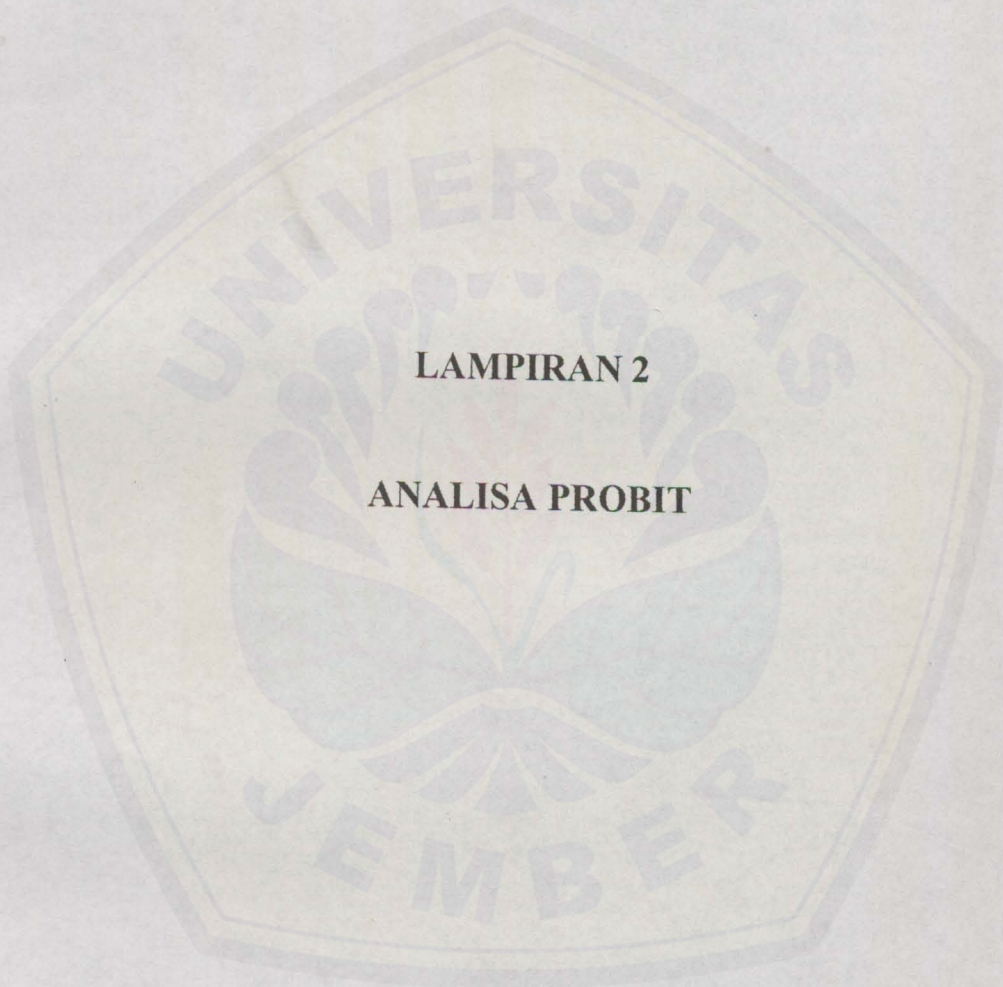
No.	Jenis Bahan	Jumlah
1.	McConkey	50 g
2.	Aquadest	1000 ml

5. King's B

No.	Jenis Bahan	Jumlah
1.	Protease Pepton	20 g
2.	K_2HPO_4	1.5 g
3.	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1.2 g
4.	Agar	15 g
5.	Gliserol	10 g
6.	Aquadest	1000 ml

LAMPIRAN 2

ANALISA PROBIT



PROBIT ANALISIS VIRULENSI BAKTERI *Photorhabdus luminiscens* (ISOLAT NGADAS) TERHADAP *Plutella xylostella*
 METODE INJEKSI

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 penghitungan y	Koefisien pembobot w	Bobot nw	nwx	nwy	nwx	nwy	nwx	nwy	nwx	nwy	Selisih (Yz-Y)
220	2.342	30	26	86.7	81.0	5.88	6.44	5.616	0.289	8.6640	20.2948	48.6603	47.5389	273.2949	113.9830	6.31	-0.13		
170	2.230	30	30	100.0	100.0	6.65	6.40	6.940	0.302	9.0600	20.2079	62.8764	45.0726	436.3622	140.2426	6.29	-0.11		
120	2.079	30	28	93.3	90.5	6.30	6.35	6.309	0.319	9.5700	19.8978	60.3753	41.3711	380.8963	125.5312	6.27	-0.08		
70	1.845	30	28	93.3	90.5	6.30	6.28	6.311	0.343	10.2840	18.9750	64.9018	35.0107	409.5924	119.7502	6.23	-0.05		
20	1.301	30	27	90.0	85.7	6.07	6.12	6.062	0.398	11.9400	15.5343	72.3837	20.2106	438.8106	94.1734	6.16	0.04		
0	-	30	9	30					Jumlah	49.5180	94.9097	309.1976	189.2039	1938.9565	593.6805				

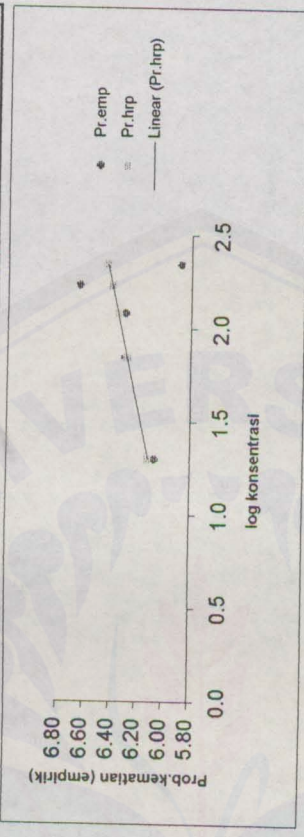
Rerata x = 1.91667
 Rerata y = 6.24414
 $Y = 0.14x + 5.97$

$b = 0.14$
 $a = 5.97$
 $Y_{50} = 5$
 $C_{50} = -6.71902$
 ANTILOG -6.71902
 LC 50 = 1.9E-07 Sel/ml
 $d = 5$

homogenitas (Khi Kuadrat)
 $\chi^2 = 8.13078$ (hitung)
 $\chi^2 (3; 0.05) = 7.82$ (tabel)
 $\chi^2 \text{ hit} > \chi^2 \text{ tabel}$
 (data tidak homogen)

faktor heterogenitas:
 alat baku nilai a : $s(a) = 0.234$
 nilai a = 5.97 (+/-) 0.234
 nilai a1 = 6.20
 nilai a2 = 5.73
 $S_{xx} = 7.29334$

Galat baku nilai b : $s(b) = 0.6095963$
 nilai b = 0.14 (+/-) 0.61
 nilai b1 = 0.75
 nilai b2 = -0.47



$t(3; 0.025) = 3.182$
 $g = 181.2749$
 $g1 = 6.624098$
 $g2 = 17.36187$

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

Selang kepercayaan 95% bagi LC 50
 -12.0092 - 29.107403 sel/ml (g1)

PROBIT ANALISIS VIRULENSI BAKTERI *Photorhabdus luminiscens* (ISOLAT NGADAS) TERHADAP *Tenebrio molitor*
 METODE INJEKSI

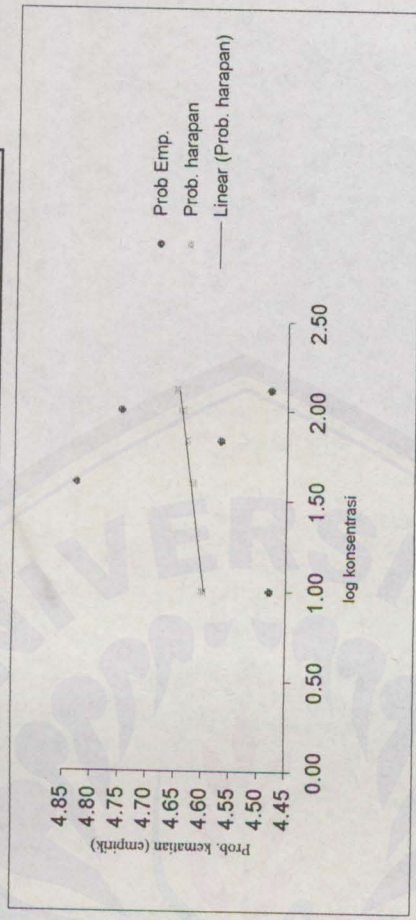
Konsentrasi (sel/ml) m	log konsentrasi x	Jlh serangga uji n	kematian r	% kematian Po	% kematian terkoreksi Pt	Probit empirik	Probit harapan Y	Probit penghitungan y	Koefisien pembobot w	Bobot nw	nwx	nwy	nwx	nwy	nwx	nwy	nwx	nwy	Selish (Yz-Y)	
130.00	2.114	30.00	9.00	30.0	30.0	4.48	4.65	4.481	0.609	18.2550	38.5900	81.8007	81.5771	366.5487	172.9220	172.9220	172.9220	172.9220	4.65	0.00
100.00	2.000	30.00	12.00	40.0	40.0	4.75	4.64	4.748	0.607	18.2100	36.4200	86.4611	72.8400	410.5172	172.9222	172.9222	172.9222	172.9222	4.64	0.00
68.00	1.833	30.00	10.00	33.3	33.3	4.57	4.63	4.569	0.606	18.1650	33.2875	82.9898	60.9997	379.1529	152.0796	152.0796	152.0796	152.0796	4.63	0.00
40.00	1.602	30.00	13.00	43.3	43.3	4.83	4.62	4.838	0.604	18.1200	29.0293	87.6646	46.5067	424.1211	140.4439	140.4439	140.4439	140.4439	4.61	-0.01
10.00	1.000	30.00	9.00	30.0	30.0	4.48	4.60	4.476	0.601	18.0300	18.0300	80.7023	18.0300	361.2234	80.7023	80.7023	80.7023	80.7023	4.57	-0.03
0.00	-	30.00	0.00	0.00	0.00				Jumlah	90.7800	155.3569	419.6184	279.9536	1941.5634	719.0699	719.0699	719.0699	719.0699		

$Y = 4.51 + 0.07 x$
 $Y = 4.62$

$b = 0.07$
 $a = 4.51$
 $Y_{50} = 5.0$
 $C_{50} = 7.29$
 Antilog 7.29
 $LC_{50} = 2E+07 \text{ Sel/ml}$
 $d = 5.00$

homogenitas (Khi Kuadrat)
 $\chi^2 = 1.87$
 $P (3;0.05) = 7.82$ (tabel)

$hit < \chi^2$ tabel (data homogen)
 $0.025 = Z_{0.025} = 1.96$
 $h = 1.00$
 $S_{xx} = 14.08$



$g = 59.51$ ($g > 1 =$ nilai y (probit) dan x (log dosis))
 tidak dapat dinyatakan dengan pers. regresi linier

Selang Kepercayaan 95% bagi LC 50

3.96 - 5.20 sel/ml

PROBIT ANALISIS VIRULENSI BAKTERI *Xenorhabdus nematophilus* TERHADAP *Plutella xylostella* METODE INJEKSI

Konsentrasi (sel/ml) m	log konsentrasi x	Jlh serangga uji n	kematian r	% kematian P _o	% kematian terkoreksi Pt	Probit empirik Y	Probit harapan Y	Probit penghitungan y	Koefisien pembobotan w	Bobot nw	nwx	nwy	nwx	nwy	nwx	nwy	nwx	nwy	Selish (Yz-Y)
4500	3.65321	30	22	73.33	43.3	5.30	5.01	4.837	0.637	19.1010	69.7800	92.3934	254.9212	446.9163	337.5329	5.01	0.00492		
3500	3.54407	30	22	73.33	61.9	5.30	5.09	5.300	0.634	19.0290	67.4401	100.8609	239.0122	534.6015	357.4581	5.10	0.00949		
2500	3.39794	30	21	70.00	57.1	5.18	5.21	5.182	0.626	18.7770	63.8031	97.3078	216.7992	504.2767	330.6460	5.21	0.00271		
1500	3.17609	30	23	76.67	66.7	5.43	5.38	5.432	0.604	18.1200	57.550774	98.4278	182.7865	534.6600	312.6158	5.38	0.00461		
500	2.69897	30	25	83.33	76.2	5.71	5.75	5.708	0.518	15.5250	41.9015	88.6219	113.0909	505.8832	239.1878	5.75	0.00431		
0	-	30	9	30.00					Jumlah	90.552	300.475	477.612	1006.610	2526.338	1577.441				

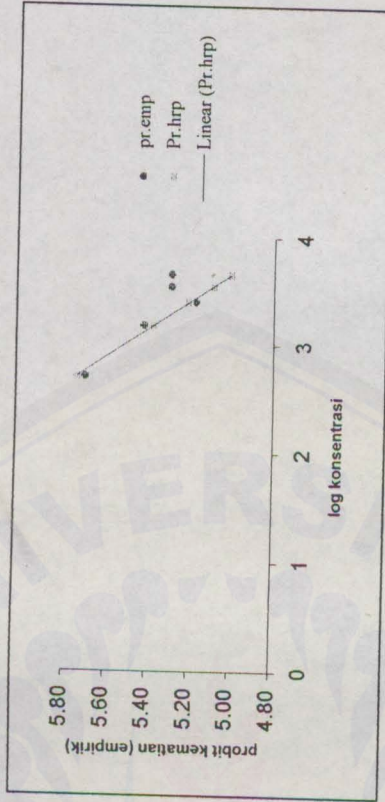
$Y = 7.85 + -0.77 x$

rerata x = 3.31826
rerata y = 5.27445

b = -0.77
a = 7.85
Y₅₀ = 5
C₅₀ = 3.67246
ANTILOG 3.672462
LC 50 = 4704.35 Sel/ml
d = 5

homogenitas (Khi Kuadrat)
x₂ = 1.46282 (hitung)
(3;0,05) = 7,82 (tabel)

hit < x₂ tabel (data homogen)
Z_{0,025} = 1.96
h = 1
S_{xx} = 9.55288



g = 0.6698 (g < 1 = nilai y (probit) dan x (log dosis) dapat dinyatakan dengan pers. regresi linier)

Selang Kepercayaan 95% bagi LC 50 -0.569428 1.415199 sel/ml
Selang Kepercayaan 75% bagi LC 75 0.27260943 3.27192377

PROBIT ANALISIS VIRULENSI BAKTERI *Xenorhabdus nematophilus* TERHADAP *Tenebrio molitor* METODE INJEKSI

Konsentrasi (sel/ml) m	log konsentrasi x	Jlh serangga uji n	kematian r	% kematian P ₀	% kematian terkoreksi Pt	Probit empirik Y	Probit harapan Y	Probit penghitungan Y	Koefisien pembobot w	Bobot nw	nwx	nwy	nwx	nwy	nwx	nwy	nwx	nwy	nwx	nwy	Selisih (Yz-Y)
1000	3	30	12	40.00	40.0	4.75	4.54	4.753	0.589	17.6700	53.0100	83.9926	159.0300	399.2503	251.9777	4.53	-0.013				
755	2.87795	30	7	23.33	23.3	4.27	4.50	4.283	0.581	17.4300	50.1626	74.6527	144.3653	319.7375	214.8465	4.49	-0.009				
537	2.72997	30	8	26.67	26.7	4.38	4.45	4.379	0.570	17.0850	46.6416	74.8152	127.3304	327.6158	204.2436	4.45	-0.004				
318	2.50243	30	8	26.67	26.7	4.48	4.38	4.381	0.553	16.5840	41.500251	72.6545	103.8514	318.2994	181.8126	4.38	-0.002				
100	2	30	7	23.33	23.3	4.27	4.22	4.275	0.509	15.2640	30.5280	65.2536	61.0560	278.9591	130.5072	4.23	0.01				
0	-	30	0	0.00					Jumlah	84.0330	221.8425	371.3686	595.6331	1643.8621	983.3876						

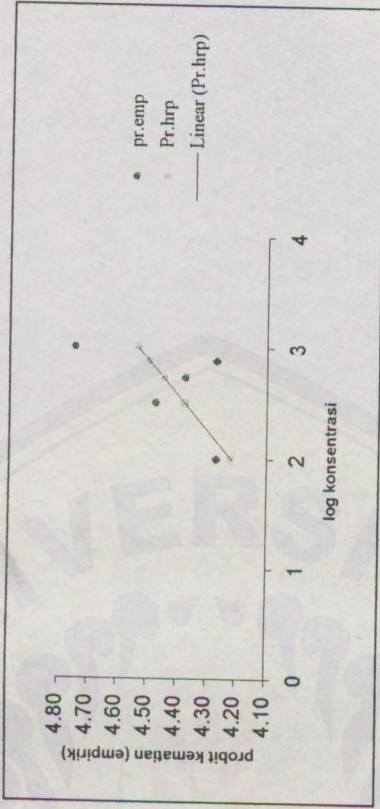
Y = 3.63 + 0.30 x

Rerata x = 2.63994
Rerata y = 4.41932

b = 0.30
a = 3.63
Y₅₀ = 5
LC 50 = 4.57509
ANTILOG 4.575089
LC 50 = 37592 Sel/ml
d = 5

homogenitas (Khi Kuadrat)
x² = 1.76736 (hitung)
2 (3;0,05) = 7,82 (tabel)

2 hit < x² tabel (data homogen)
Z_{0,025} = 1.96
h = 1
S_{xx} = 9.98121



g = 4.274442 (g < 1 = nilai y (probit) dan x (log dosis) dapat dinyatakan dengan pers. regresi linier)

Selang Kepercayaan 95% bagi LC 50
3.2150915 - 5.528402 sel/ml

Selang Kepercayaan 75% bagi LC 75
2.44331814 - 3.01837777

PROBIT ANALISIS VIRULENSI BAKTERI *Photorhabdus luminiscens* (ISOLAT NGADAS) TERHADAP *Plutella xylostella*
 METODE PAKAN

Konsentrasi (sel/ml) m	log konsentrasi x	Jlh serangga uji n	kematian r	% kematian Po	% kematian terkoreksi Pt	Probit empirik	Probit harapan Y	Probit penghitungan y	Koefisien pembobot w	Bobot nw	nwx	nwy	nwx	nwy	nwx	nwy	nwx	nwy	Selish (Yz-Y)
1.6E+07	7.204	30	9	30.0	30.0	4.48	4.70	4.486	0.616	18.4800	133.1321	82.9013	959.0999	371.8951	597.2308	4.73	0.03		
1.6E+06	6.204	30	17	56.7	56.7	5.17	4.62	5.198	0.604	18.1200	112.4187	94.1878	697.4588	489.5880	584.3522	4.63	0.01		
160000	5.204	30	6	20.0	20.0	4.16	4.54	4.194	0.589	17.6700	91.9568	74.1080	478.5542	310.8089	385.6668	4.53	-0.01		
16000	4.204	30	9	30.0	30.0	4.48	4.46	4.475	0.572	17.1600	72.1427	76.7910	303.2966	343.6397	322.8386	4.42	-0.04		
1600	3.204	30	6	20.0	20.0	4.16	4.39	4.179	0.555	16.6500	53.3486	69.5804	170.9353	290.7763	222.9438	4.32	-0.07		
160	2.204	30	9	30.0	30.0	4.48	4.31	4.316	0.535	16.0500	35.3761	69.2718	77.9732	298.9771	152.6834	4.22	-0.09		
0	-	30	0	0	0				Jumlah	104.1300	498.3750	466.8402	2687.3180	2105.6851	2265.7155				

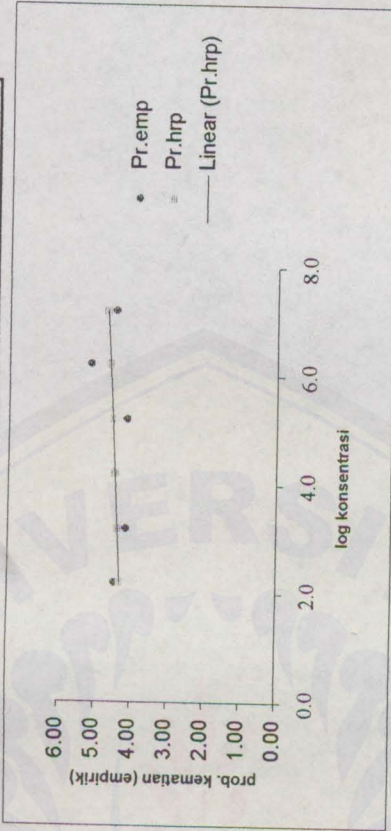
Rerata x = 4.78608
 Rerata y = 4.48324
 $Y = 0.10 x + 3.99$

$b = 0.10$
 $a = 3.99$
 $Y_{50} = 5$
 $C_{50} = 9.76039$
 ANTILOG 9.760387
 LC 50 = 5.8E+09 Sel/ml
 $d = 6$

homogenitas (Khi Kuadrat)
 $\chi^2 = 9.46702$ (hitung)
 $\ell(4;0.05) = 9.49$ (tabel)
 hit < χ^2 tabel (data homogen)

$z_{0.025} = 1.96$
 $h = 1$
 $S_{0x} = 302.053$

$Y_{25} = 4.33$
 LC 25 = 3.3109586
 Antilog 3.311
 LC 25 = 2046.44 Sel/ml



$g = 1.1784794$ ($g > 1$ = nilai y (probit) dan x (log dosis) tidak dapat dinyatakan dengan pers. regresi linier)

Selang kepercayaan 95% bagi LC 25
 5.218533 - 20.883571

Selang Kepercayaan 95% bagi LC 50
 -55 - 4.85335771 sel/ml

PROBIT ANALISIS VIRULENSI BAKTERI *Xenorhabdus nematophilus* TERHADAP *Plutella xylostella* METODE 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 nw	nwx	nwy	nwx	nwy	nwx	nwy	nwx	nwy	Selisih (Yz-Y)
1.6E+07	7.204	30.00	17.00	56.7	56.7	5.17	5.34	5.163	0.616	18.4800	133.1321	95.4122	959.0999	492.6134	687.3612	5.32	-0.02		
1.6E+06	6.204	30.00	20.00	66.7	66.7	5.43	5.08	5.421	0.604	18.1200	112.4187	98.2285	697.4588	532.4968	609.4215	5.09	0.01		
160000	5.204	30.00	15.00	50.0	50.0	5.00	4.83	5.000	0.589	17.6700	91.9568	88.3500	478.5542	441.7500	459.7840	4.85	0.02		
16000.00	4.204	30.00	6.00	20.0	20.0	4.16	4.57	4.199	0.572	17.1600	72.1427	72.0548	303.2966	302.5583	302.9272	4.61	0.04		
1600.00	3.204	30.00	6.00	20.0	20.0	4.16	4.33	4.173	0.555	16.6500	53.3486	69.4805	170.9353	289.9419	222.6237	4.37	0.04		
160.00	2.204	30.00	8.00	26.7	26.7	4.38	4.07	4.421	0.535	16.0500	35.3761	70.9571	77.9732	313.7011	156.3979	4.13	0.06		
0.00	-	30.00	0.00	0.00	0.00				Jumlah	104.1300	498.3750	494.4831	2687.3180	2373.0615	2438.5155				

Rerata x = 4.79
Rerata y = 4.75
Y = 0.24 x + 3.61

b = 0.24
a = 3.61
Y50 = 5.00
C 50 = 5.84

ANTILOG
LC 50 = 695168.00 Sel/ml
d = 6.00

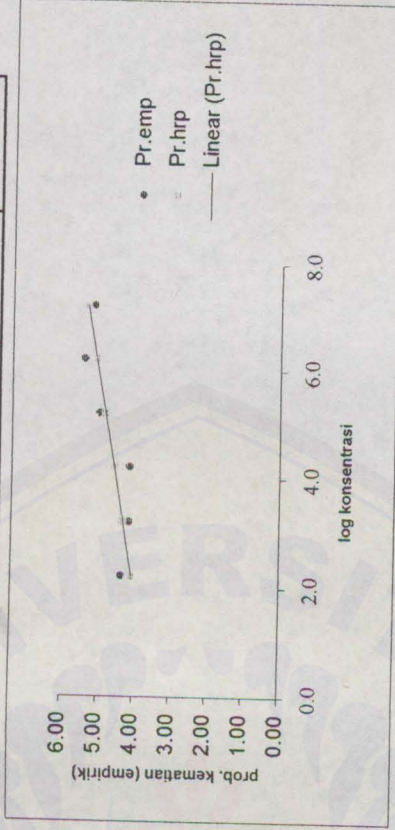
homogenitas (Khi Kuadrat)

$\chi^2 = 7.80$ (hitung)
 $2(4; 0.05) = 9.49$ (tabel)
 $2 \text{ hit} < \chi^2 \text{ tabel}$ (data homogen)

$0.025 = Z_{0.025} = 1.96$

h = 1.00

$S_{xx} = 302.05$



g = 0.22
(g > 1 = nilai y (probit) dan x (log dosis)
tidak dapat dinyatakan dengan pers. regresi linier)

Selang kepercayaan 95% bagi LC 25

3.93

1.10

Selang Kepercayaan 95% bagi LC 50

7.28

5.04

sel/ml

LAMPIRAN 3

**RANCANGAN ACAK LENGKAP
DAN UJI JARAK BERGANDA DUNCAN**

ANALISA RANCANGAN ACAK LENGKAP DARI BAKTERI *Photorhabdus luminiscens* (ISOLAT NGADAS) TERHADAP *Plutella xylostella* DENGAN METODE INJEKSI

Konsentrasi bakteri (sel/ml)	Persentase kematian serangga (%)			Total	Rata-rata
	hari ke - 1				
	1	2	3		
0	10	30	20	60	20
20	90	90	90	270	90.00
70	100	70	100	270	90.00
120	80	100	90	270	90.00
170	100	100	90	290	96.67
220	70	80	90	240	80.00
Total				1400	

$t = 6$
 $r = 3$
 $FK = 108888.9$
 $JKT = 13711.11$
 $JKP = 12444.44$
 $JKG = 1266.667$
 $dbt = 17$
 $dbp = 5$
 $dbg = 12$
 $KTP = 2488.889$
 $KTG = 105.5556$
 $F\text{-hitung} = 23.57895$

ANOVA

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F-hitung	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	5	12444.44	2488.889	23.58**	3.11	5.06
Galat	12	1266.667	105.5556			
Total	17	13711.11				

F-hitung (23.58) > F-tabel 1% (5,06) = Perlakuan berbeda sangat nyata

Uji Jarak Duncan 5%
 $UJD = t_{\alpha}(t; dbg) \times \sqrt{KTG/r}$

2	3	4	5	6		
3.08	3.23	3.33	3.36	3.4	x	5.93
18.27	19.16	19.75	19.93	20.17		

		0	220	20	120	70	170
		20	80.00	90.00	90.00	90.00	96.67
170	96.67	76.67**	16.67	6.67	6.67	6.67	0.00
70	90.00	70.00**	10.00	0.00	0.00	0.00	
120	90.00	70.00**	10.00	0.00	0.00		
20	90.00	70.00**	10.00	0.00			
220	80.00	60.00**	0.00				
0	20	0.00					

0	220	20	120	70	170
20.00	80.00	90.00	90.00	90.00	96.67
a	b	bc	bcd	bcde	bcde

Ket : Nilai pada kolom yang diikuti huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata

ANALISA RANCANGAN ACAK LENGKAP DARI BAKTERI *Photobacterium luminescens* (ISOLAT NGADAS) TERHADAP *Plutella xylostella* DENGAN METODE INJEKSI

Konsentrasi bakteri (sel/ml)	Persentase kematian serangga (%) hari ke - 2			Total	Rata-rata
	1	2	3		
0	20	30	30	80	26.6667
20	90	90	90	270	90.00
70	100	80	100	280	93.33
120	80	100	90	270	90.00
170	100	100	90	290	96.67
220	70	80	90	240	80.00
Total				1430	

$t = 6$
 $r = 3$
 $FK = 113605.6$
 $JKT = 11294.44$
 $JKP = 10494.44$
 $JKG = 800$
 $dbt = 17$
 $dbp = 5$
 $dbg = 12$
 $KTP = 2098.889$
 $KTG = 66.66667$
 $F\text{-hitung} = 31.48333$

ANOVA

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F-hitung	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	5	10494.44	2098.889	31.48**	3.11	5.06
Galat	12	800	66.66667			
Total	17	11294.44				

F-hitung (31.48) > F-tabel 1% (5,06) = Perlakuan berbeda sangat nyata

Uji Jarak Duncan 5%
 $UJD = ta(t; dbg) \times \sqrt{KTG/r}$

2	3	4	5	6	x
3.08	3.23	3.33	3.36	3.4	4.71
14.52	15.23	15.70	15.84	16.03	

	0	220	20	120	70	170
	26.67	80.00	90.00	90.00	93.33	96.67
170	96.67	70.00 **	16.67 **	6.67	6.67	3.33
70	93.33	66.67 **	13.33	3.33	3.33	0.00
120	90.00	63.33 **	10.00	0.00	0.00	
20	90.00	63.33 **	10.00	0.00		
220	80.00	53.33 **	0.00			
0	26.67	0.00				

0	220	20	120	70	170
26.67	80.00	90.00	90.00	93.33	96.67
a	b	bc	bcd	bcde	cde

Ket : Nilai pada kolom yang diikuti huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata

ANALISA RANCANGAN ACAK LENGKAP DARI BAKTERI *Photobacterium luminescens* (ISOLAT NGADAS) TERHADAP *Plutella xylostella* DENGAN METODE INJEKSI

Konsentrasi bakteri (sel/ml)	Persentase kematian serangga (%) hari ke - 3			Total	Rata-rata
	1	2	3		
0	30	30	30	90	30
20	90	90	90	270	90.00
70	100	80	100	280	93.33
120	80	100	100	280	93.33
170	100	100	100	300	100.00
220	70	90	100	260	86.67
Total				1480	

t = 6
 r = 3
 FK = 121688.9
 JKT = 11111.11
 JKP = 10111.11
 JKG = 1000
 dbt = 17
 dbp = 5
 dbg = 12
 KTP = 2022.222
 KTG = 83.33333
 F-hitung = 24.26667

ANOVA

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F-hitung	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	5	10111.1	2022.22	24,27**	3.11	5.06
Galat	12	1000	83.3333			
Total	17	11111.1				

F-hitung (24,27) > F-tabel 1% (5,06) = Perlakuan berbeda sangat nyata

Uji Jarak Duncan 5%
 $UJD = ta(t;dbg) \times \sqrt{KTG/r}$

2	3	4	5	6		
3.08	3.23	3.33	3.36	3.4	x	5.27
16.23	17.02	17.55	17.71	17.92		

	0	220	20	70	120	170
	30	86.67	90.00	93.33	93.33	100.00
170	100.00	70.00 **	13.33	10.00	6.67	6.67
120	93.33	63.33 **	6.67	3.33	0.00	0.00
70	93.33	63.33 **	3.33	3.33	0.00	
20	90.00	60.00 **	3.33	0.00		
220	86.67	56.67 **	0.00			
0	30	0.00				

0	220	20	70	120	170
30.00	86.67	90.00	93.33	93.33	100.00
a	b	bc	bcd	bcde	bcde

Ket : Nilai pada kolom yang diikuti huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata

ANALISA RANCANGAN ACAK LENGKAP DARI BAKTERI *Photorhabdus luminiscens* (ISOLAT NGADAS) TERHADAP *Tenebrio molitor* DENGAN METODE INJEKSI

Konsentrasi bakteri (sel/ml)	Persentase kematian serangga (%)			Total	Rata-rata
	hari ke - 1				
	1	2	3		
0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0.00
40	0	0	10	10	3.33
68	0	0	0	0	0.00
100	10	0	0	10	3.33
130	0	0	0	0	0.00
Total				20	

$t = 6$
 $r = 3$
 $FK = 22.22$
 $JKT = 177.78$
 $JKP = 44.44$
 $JKG = 133.33$
 $dbt = 17$
 $dbp = 5$
 $dbg = 12$
 $KTP = 8.89$
 $KTG = 11.11$
 $F\text{-hitung} = 0.8$

ANOVA

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F-hitung	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	5	44.44444	8.888889	0.8	3.11	5.06
Galat	12	133.3333	11.11111			
Total	17	177.7778				

$F\text{-hitung} (0,8) < F\text{-tabel } 5\% (3,11) =$

Perlakuan berbeda tidak nyata

ANALISA RANCANGAN ACAK LENGKAP DARI BAKTERI *Photorhabdus luminiscens* (ISOLAT NGADAS) TERHADAP *Tenebrio molitor* DENGAN METODE INJEKSI

Konsentrasi bakteri (sel/ml)	Persentase kematian serangga (%) hari ke - 2			Total	Rata-rata
	1	2	3		
0	0	0	0	0	0
10	40	10	20	70	23.33
40	30	70	30	130	43.33
68	20	30	20	70	23.33
100	40	30	50	120	40.00
130	30	20	30	80	26.67
Total				470	

$t = 6$
 $r = 3$
 $FK = 12272.22$
 $JKT = 5427.78$
 $JKP = 3561.11$
 $JKG = 1866.67$
 $dbt = 17$
 $dbp = 5$
 $dbg = 12$
 $KTP = 712.22$
 $KTG = 155.56$
 $F\text{-hitung} = 4.58$

ANOVA

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F-hitung	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	5	3561.111	712.2222	4.58 *	3.11	5.06
Galat	12	1866.667	155.5556			
Total	17	5427.778				

F-tabel 1% (5,06) > F-hitung (4,58) > F-tabel 5% (3,11) = Perlakuan berbeda nyata

Uji Jarak Duncan 5%
 $UJD = t_{\alpha}(t; dbg) \times \sqrt{KTG/r}$

2	3	4	5	6	
3.08	3.23	3.33	3.36	3.4	x 7.20
22.18	23.26	23.98	24.19	24.48	

	0	10	68	130	100	40
	0.00	23.33	23.33	26.67	40.00	43.33
40	43.33	43.33 **	20.00	20.00	16.67	3.33
100	40.00	40.00 **	16.67	16.67	13.33	0.00
130	26.67	26.67 **	0.00	3.33	0.00	
68	23.33	23.33 **	0.00	0.00		
10	23.33	23.33	0.00			
0	0.00	0.00				

0	10	68	130	100	40
0.00	23.33	23.33	26.67	40.00	43.33
a	ab	bc	bcd	bcde	bcde

Ket : Nilai pada kolom yang diikuti huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata

ANALISA RANCANGAN ACAK LENGKAP DARI BAKTERI *Photobacterium luminescens* (ISOLAT NGADAS) TERHADAP *Tenebrio molitor* DENGAN METODE INJEKSI

Konsentrasi bakteri (sel/ml)	Persentase kematian serangga (%) hari ke - 3			Total	Rata-rata
	1	2	3		
0	0	0	0	0	0
10	50	10	30	90	30.00
40	30	70	30	130	43.33
68	40	30	30	100	33.33
100	40	30	50	120	40.00
130	30	30	30	90	30.00
Total				530	

$t = 6$
 $r = 3$
 $FK = 15605.56$
 $JKT = 5694.44$
 $JKP = 3561.11$
 $JKG = 2133.33$
 $dbt = 17$
 $dbp = 5$
 $dbg = 12$
 $KTP = 712.22$
 $KTG = 177.78$
 $F\text{-hitung} = 4.01$

ANOVA

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F-hitung	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	5	3561.11	712.222	4.01*	3.11	5.06
Galat	12	2133.33	177.778			
Total	17	5694.44				

F-tabel 1% (5,06) > F-hitung (4,58) > F-tabel 5% (3,11) Perlakuan berbeda nyata

Uji Jarak Duncan 5%
 $UJD = ta(t;dbg) \times \sqrt{KTG/r}$

2	3	4	5	6		
3.08	3.23	3.33	3.36	3.4	x	7.70
23.71	24.86	25.63	25.87	26.17		

		0	10	130	68	100	40
		0	30.00	30.00	33.33	40.00	43.33
40	43.33	43.33*	13.33	13.33	10.00	3.33	0.00
100	40.00	40.00*	10.00	10.00	6.67	0.00	
68	33.33	33.33*	0.00	3.33	0.00		
130	30.00	30.00*	0.00	0.00			
10	30.00	30.00*	0.00				
0	0	0.00					

0	10	130	68	100	40
0.00	30.00	30.00	33.33	40.00	43.33
a	b	bc	bcd	bcde	bcde

Ket : Nilai pada kolom yang diikuti huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata

Digital Repository Universitas Jember

ANALISA RANCANGAN ACAK LENGKAP DARI BAKTERI *Xenorhabdus nematophilus*
TERHADAP *Plutella xylostella* DENGAN METODE INJEKSI

Konsentrasi bakteri (sel/ml)	Persentase kematian serangga (%) hari ke - 1			Total	Rata-rata
	1	2	3		
0	20	30	30	80	26.6667
500	70	70	80	220	73.33
1500	70	70	70	210	70.00
2500	60	60	50	170	56.67
3500	60	80	50	190	63.33
4500	50	60	60	170	56.67
Total				1040	

t =	6
r =	3
FK =	60088.889
JKT =	4911.1111
JKP =	4177.7778
JKG =	733.33333
dbt =	17
dbp =	5
dbg =	12
KTP =	835.55556
KTG =	61.111111
F-hitung =	13.672727

ANOVA

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F-hitung	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	5	4177.78	835.556	13.67**	3.11	5.06
Galat	12	733.333	61.1111			
Total	17	4911.11				

F-hitung (13.67) > F-tabel 1% (5,06) = Perlakuan berbeda sangat nyata

Uji Jarak Duncan 5%
UJD = $t_{\alpha}(t; dbg) \times \sqrt{KTG/r}$

2	3	4	5	6		
3.08	3.23	3.33	3.36	3.4	x	4.51
13.90	14.58	15.03	15.16	15.35		

		0	2500	4500	3500	1500	500
		26.6667	56.67	56.67	63.33	70.00	73.33
500	73.33	46.67 **	16.67 **	16.67 **	10.00	3.33	0.00
1500	70.00	43.33 **	13.33	13.33	6.67	0.00	
3500	63.33	36.67 **	6.67	6.67	0.00		
4500	56.67	30.00 **	0.00	0.00			
2500	56.67	30.00 **	0.00				
0	26.6667	0.00					

0	2500	4500	3500	1500	500
26.67	56.67	56.67	63.33	70.00	73.33
a	b	bc	bcd	bcde	de

Ket : Nilai pada kolom yang diikuti huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata

Digital Repository Universitas Jember

ANALISA RANCANGAN ACAK LENGKAP DARI BAKTERI *Xenorhabdus nematophilus*
TERHADAP *Plutella xylostella* DENGAN METODE INJEKSI

Konsentrasi bakteri (sel/ml)	Persentase kematian serangga (%) hari ke - 2			Total	Rata-rata
	1	2	3		
0	10	30	20	60	20
500	90	70	90	250	83.33
1500	90	70	70	230	76.67
2500	80	70	60	210	70.00
3500	80	80	60	220	73.33
4500	80	70	70	220	73.33
Total				1190	

$$t = 6$$

$$r = 3$$

$$FK = 78672.22$$

$$JKT = 9227.778$$

$$JKP = 7961.111$$

$$JKG = 1266.667$$

$$dbt = 17$$

$$dbp = 5$$

$$dbg = 12$$

$$KTP = 1592.22$$

$$KTG = 105.56$$

$$F\text{-hitung} = 15.08$$

ANOVA

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F-hitung	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	5	7961.11	1592.22	15.08**	3.11	5.06
Galat	12	1266.67	105.556			
Total	17	9227.78				

F-hitung (15.08) > F-tabel 1% (5,06) = Perlakuan berbeda sangat nyata

Uji Jarak Duncan 5%

$$UJD = t_a(t; dbg) \times \sqrt{KTG/r}$$

2	3	4	5	6		
3.08	3.23	3.33	3.36	3.4	x	5.93
18.27	19.16	19.75	19.93	20.17		

		0	2500	3500	4500	1500	500
		20	70.00	73.33	73.33	76.67	83.33
500	83.33	63.33 ^{xy}	13.33	10.00	10.00	6.67	0.00
1500	76.67	56.67 ^{xy}	6.67	3.33	3.33	0.00	
4500	73.33	53.33 ^{xy}	3.33	0.00	0.00		
3500	73.33	53.33 ^{xy}	3.33	0.00			
2500	70.00	50.00 ^{xy}	0.00				
0	20	0.00					

0	2500	3500	4500	1500	500
20.00	70.00	73.33	73.33	76.67	83.33
a	b	bc	bcd	bcde	bcde

Ket : Nilai pada kolom yang diikuti huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata

ANALISA RANCANGAN ACAK LENGKAP DARI BAKTERI *Xenorhabdus nematophilus* TERHADAP *Plutella xylostella* DENGAN METODE INJEKSI

Konsentrasi bakteri (sel/ml)	Persentase kematian serangga (%) hari ke - 3			Total	Rata-rata
	1	2	3		
0	30	30	30	90	30
500	90	70	90	250	83.33
1500	90	70	70	230	76.67
2500	80	70	60	210	70.00
3500	80	80	60	220	73.33
4500	80	70	70	220	73.33
Total				1220	

t = 6
 r = 3
 FK = 82688.89
 JKT = 6511.111
 JKP = 5444.444
 JKG = 1066.667
 dbt = 17
 dbp = 5
 dbg = 12
 KTP = 1088.889
 KTG = 88.88889
 F-hitung = 12.25

ANOVA

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F-hitung	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	5	5444.44	1088.89	12.25**	3.11	5.06
Galat	12	1066.67	88.8889			
Total	17	6511.11				

F-hitung (12.25) > F-tabel 1% (5,06) = Perlakuan berbeda sangat nyata

Uji Jarak Duncan 5%
 $UJD = ta(t;dbg) \times \sqrt{KTG/r}$

2	3	4	5	6		
3.08	3.23	3.33	3.36	3.4	x	5.44
16.77	17.58	18.13	18.29	18.51		

		0	2500	3500	4500	1500	500
		30	70.00	73.33	73.33	76.67	83.33
500	83.33	53.33**	13.33	10.00	10.00	6.67	0.00
1500	76.67	46.67**	6.67	3.33	3.33	0.00	
4500	73.33	43.33**	3.33	0.00	0.00		
3500	73.33	43.33**	3.33	0.00			
2500	70.00	40.00**	0.00				
0	30	0.00					

	0	2500	3500	4500	1500	500
	30.00	70.00	73.33	73.33	76.67	83.33
	a	b	bc	bcd	bcde	bcde

Ket : Nilai pada kolom yang diikuti huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata

ANALISA RANCANGAN ACAK LENGKAP DARI BAKTERI *Xenorhabdus nematophilus* TERHADAP *Tenebrio molitor* DENGAN METODE INJEKSI

Konsentrasi bakteri (sel/ml)	Persentase kematian serangga (%) hari ke - 1			Total	Rata-rata
	1	2	3		
0	0	0	0	0	0
100	0	10	0	10	3.33
318	0	0	0	0	0.00
537	0	0	0	0	0.00
755	10	0	10	20	6.67
1000	10	10	10	30	10.00
Total				60	

$t =$
 $r =$
 $FK = 20$
 $JKT = 40$
 $JKP = 266.666$
 $JKG = 133.333$
 $dbt = 1$
 $dbp =$
 $dbg = 1$
 $KTP = 53.3333$
 $KTG = 11.1111$
 $F\text{-hitung} = 4.$

ANOVA

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F-hitung	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	5	266.6667	53.333333	4.8 *	3.11	5.06
Galat	12	133.33333	11.111111			
Total	17	400				

F-tabel 5% (3.11) < F-hitung (4.8) < F-tabel 1% (5,06) = Perlakuan berbeda nyata

Uji Jarak Duncan 5%
 $UJD = t_{\alpha}(t; dbg) \times \sqrt{KTG/r}$

2	3	4	5	6		
3.08	3.23	3.33	3.36	3.4	x	1.92
5.93	6.22	6.41	6.47	6.54		

		0	318	537	100	755	1000
		0	0.00	0.00	3.33	6.67	10.00
1000	10.00	10.00*	10.00 ^y	10.00 ^z	6.67 ^r	3.33	0.00
755	6.67	6.67 ^y	6.67 ^y	6.67 ^x	3.33	0.00	
100	3.33	3.33	3.33	3.33	0.00		
537	0.00	0.00	0.00	0.00			
318	0.00	0.00	0.00				
0	0	0.00					

0	318	537	100	755	1000
0.00	0.00	0.00	3.33	6.67	10.00
a	ab	abc	abcd	de	e

Ket : Nilai pada kolom yang diikuti huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata

ANALISA RANCANGAN ACAK LENGKAP DARI BAKTERI *Xenorhabdus nematophilus*
TERHADAP *Tenebrio molitor* DENGAN METODE INJEKSI

Konsentrasi bakteri (sel/ml)	Persentase kematian serangga (%) hari ke - 2			Total	Rata-rata
	1	2	3		
0	0	0	0	0	0
100	0	30	30	60	20.00
318	30	20	20	70	23.33
537	30	0	40	70	23.33
755	10	20	20	50	16.67
1000	20	40	40	100	33.33
Total				350	

$t = 6$
 $r = 3$
 $FK = 6805.55556$
 $JKT = 3694.44444$
 $JKP = 1827.77778$
 $JKG = 1866.66667$
 $dbt = 17$
 $dbp = 5$
 $dbg = 12$
 $KTP = 365.555556$
 $KTG = 155.555556$
 $F\text{-hitung} = 2.35$

ANOVA

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F-hitung	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	5	1827.78	365.556	2.35	3.11	5.06
Galat	12	1866.67	155.556			
Total	17	3694.44				

F-hitung (2.35) < F-tabel 5% (3,11) = Perlakuan berbeda tidak nyata

ANALISA RANCANGAN ACAK LENGKAP DARI BAKTERI *Xenorhabdus nematophilus* TERHADAP *Tenebrio molitor* DENGAN METODE INJEKSI

Konsentrasi bakteri (sel/ml)	Persentase kematian serangga (%) hari ke - 3			Total	Rata-rata
	1	2	3		
0	0	0	0	0	0
100	0	40	30	70	23.33
318	30	20	30	80	26.67
537	40	0	40	80	26.67
755	10	40	20	70	23.33
1000	20	50	50	120	40.00
Total				420	

$t = 6$
 $r = 3$
 $FK = 9800$
 $JKT = 5600$
 $JKP = 2533.3333$
 $JKG = 3066.6667$
 $dbt = 17$
 $dbp = 5$
 $dbg = 12$
 $KTP = 506.66667$
 $KTG = 255.55556$
 $F\text{-hitung} = 1.9826087$

ANOVA

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F-hitung	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	5	2533.33	506.667	1.98 _{in}	3.11	5.06
Galat	12	3066.67	255.556			
Total	17	5600				

F-hitung (1.98) < F-tabel 5% (3,11) = Perlakuan berbeda tidak nyata

ANALISA RANCANGAN ACAK LENGKAP DARI BAKTERI *Photorhabdus luminiscens* (ISOLAT NGADAS) TERHADAP *Plutella xylostella* DENGAN METODE PAKAN

Konsentrasi / seri pengenceran	Persentase kematian serangga (%) hari ke - 1			Total	Rata-rata
	1	2	3		
0	0	0	0	0	0.00
10 (-6)	30	30	30	90	30.00
10 (-5)	30	10	10	50	16.67
10 (-4)	20	30	20	70	23.33
10 (-3)	10	10	30	50	16.67
10 (-2)	40	40	30	110	36.67
10 (-1)	10	30	30	70	23.33
Total				370	

$t = 7$
 $r = 3$
 $FK = 6519.048$
 $JKT = 6080.952$
 $JKP = 3514.286$
 $JKG = 2566.667$
 $dbt = 20$
 $dbp = 6$
 $dbg = 14$
 $KTP = 585.7143$
 $KTG = 183.3333$
 $F\text{-hitung} = 3.194805$

ANOVA

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F-hitung	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	6	3514.29	585.714	3,19 *	2.85	4.46
Galat	14	2566.67	183.333			
Total	20	6080.95				

F-tabel 5% (2,85) < F-hitung (3,19) < F-tabel 1% (4,46) = Perlakuan berbeda nyata

Uji Jarak Duncan 5%
 $UJD = ta(t;dbg) \times \sqrt{KTG/r}$

2	3	4	5	6	7		
3.08	3.23	3.33	3.36	3.4	3.42	x	7.82
24.08	25.25	26.03	26.27	26.58	26.74		

		0	10 (-5)	10 (-3)	10 (-4)	10 (-1)	10 (-6)	10 (-2)
		0	16.67	16.67	23.33	23.33	30.00	36.67
10 (-2)	36.67	36.67 *	20.00	20.00	13.33	13.33	6.67	0.00
10 (-6)	30.00	30.00 *	13.33	13.33	6.67	6.67	0.00	
10 (-1)	23.33	23.33	6.67	6.67	0.00	0.00		
10 (-4)	23.33	23.33	0.00	6.67	0.00			
10 (-3)	16.67	16.67	0.00	0.00				
10 (-5)	16.67	16.67	0.00					
	0	0.00						
	0	10 (-3)	10 (-5)	10 (-4)	10 (-1)	10 (-6)	10 (-2)	
	0.00	16.67	16.67	23.33	23.33	30.00	36.67	
	a	ab	abc	abcd	abcde	bcdef	bcdef	

Ket : Nilai pada kolom yang diikuti huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata

ANALISA RANCANGAN ACAK LENGKAP DARI BAKTERI *Photobacterium luminescens* (ISOLAT NGADAS) TERHADAP *Plutella xylostella* DENGAN METODE PAKAN

Konsentrasi / seri pengenceran	Persentase kematian serangga (%) hari ke - 2			Total	Rata-rata
	1	2	3		
0	0	0	0	0	0.00
10 (-6)	30	30	30	90	30.00
10 (-5)	30	10	10	50	16.67
10 (-4)	20	40	20	80	26.67
10 (-3)	10	10	30	50	16.67
10 (-2)	60	50	50	160	53.33
10 (-1)	10	30	40	80	26.67
Total				430	

$t = 7$
 $r = 3$
 $FK = 8804.762$
 $JKT = 9695.238$
 $JKP = 6228.571$
 $JKG = 3466.667$
 $dbt = 20$
 $dbp = 6$
 $dbg = 14$
 $KTP = 1038.095$
 $KTG = 247.619$
 $F\text{-hitung} = 4.192308$

ANOVA

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F-hitung	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	6	6228.57	1038.095	4,19 *	2.85	4.46
Galat	14	3466.67	247.619			
Total	20	9695.24				

F-tabel 5% (2,85) < F-hitung (4,19) < F-tabel 1% (4,46) Perlakuan berbeda nyata

Uji Jarak Duncan 5%

$$UJD = t_{\alpha}(t; dbg) \times \sqrt{KTG/r}$$

2	3	4	5	6	7	x	9.09
3.08	3.23	3.33	3.36	3.4	3.42		
27.98	29.34	30.25	30.53	30.89	31.07		

		0	10 (-5)	10 (-3)	10 (-4)	10 (-1)	10 (-6)	10 (-2)
		0	16.67	16.67	26.67	26.67	30.00	53.33
10 (-2)	53.33	53.33*	36.67*	36.67*	26.67	26.67	23.33	0.00
10 (-6)	30.00	30.00	13.33	13.33	3.33	3.33	0.00	
10 (-1)	26.67	26.67	10.00	10.00	0.00	0.00		
10 (-4)	26.67	26.67	0.00	10.00	0.00			
10 (-3)	16.67	16.67	0.00	0.00				
10 (-5)	16.67	16.67	0.00					
	0	0						
		0	10 (-3)	10 (-5)	10 (-4)	10 (-1)	10 (-6)	10 (-2)
		0.00	16.67	16.67	26.67	26.67	30.00	53.33
		a	ab	abc	abcd	abcde	abcdef	def

Ket : Nilai pada kolom yang diikuti huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata

ANALISA RANCANGAN ACAK LENGKAP DARI BAKTERI *Photorhabdus luminenscens* (ISOLAT NGADAS) TERHADAP *Plutella xylostella* DENGAN METODE PAKAN

Konsentrasi / seri pengenceran	Persentase kematian serangga (%) hari ke - 3			Total	Rata-rata
	1	2	3		
0	0	0	0	0	0.00
10 (-6)	30	30	30	90	30.00
10 (-5)	30	10	20	60	20.00
10 (-4)	20	40	30	90	30.00
10 (-3)	20	10	30	60	20.00
10 (-2)	60	60	50	170	56.67
10 (-1)	20	30	40	90	30.00
Total				470	

t = 7
 r = 3
 FK = 10519.05
 JKT = 10480.95
 JKP = 6914.286
 JKG = 3566.667
 dbt = 20
 dbp = 6
 dbg = 14
 KTP = 1152.381
 KTG = 254.7619
 F-hitung = 4.523364

ANOVA

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F-hitung	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	6	6914.29	1152.38	4,52 **	2.85	4.46
Galat	14	3566.67	254.762			
Total	20	10481				

F-hitung (4,52) > F-tabel 1% (4,46) = Perlakuan berbeda sangat nyata

Uji Jarak Duncan 5%
 $UJD = ta(t;dbg) \times \sqrt{KTG/r}$

2	3	4	5	6	7		
3.08	3.23	3.33	3.36	3.4	3.42	x	9.22
28.38	29.77	30.69	30.96	31.33	31.52		

		0	10 (-5)	10 (-3)	10 (-6)	10 (-4)	10 (-1)	10 (-2)
		0	20.00	20.00	30.00	30.00	30.00	56.67
10 (-2)	56.67	56.67 **	36.67 **	36.67 **	26.67	26.67	26.67	0.00
10 (-1)	30.00	30.00	10.00	10.00	0.00	0.00	0.00	
10 (-4)	30.00	30.00	10.00	10.00	0.00	0.00		
10 (-6)	30.00	30.00	0.00	10.00	0.00			
10 (-3)	20.00	20.00	0.00	0.00				
10 (-5)	20.00	20.00	0.00					
0	0	0.00						
		0	10 (-5)	10 (-3)	10 (-6)	10 (-4)	10 (-1)	10 (-2)
		0.00	20.00	20.00	30.00	30.00	30.00	56.67
		a	ab	abc	abcd	abcde	abcdef	def

Ket : Nilai pada kolom yang diikuti huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata

ANALISA RANCANGAN ACAK LENGKAP DARI BAKTERI *Xenorhabdus nematophilus*
TERHADAP *Plutella xylostella* DENGAN METODE PAKAN

Konsentrasi / seri peng- enceran	Persentase kematian serangga (%)			Total	Rata-rata
	hari ke - 1				
	1	2	3		
0	0	0	0	0	0.00
10 (-6)	20	10	0	30	10.00
10 (-5)	10	10	0	20	6.67
10 (-4)	0	0	10	10	3.33
10 (-3)	0	0	0	0	0.00
10 (-2)	0	0	0	0	0.00
10 (-1)	1	10	2	13	4.33
Total				60	

$t = 7$
 $r = 3$
 $.FK = 171.4286$
 $JKT = 733.5714$
 $JKP = 295.2381$
 $JKG = 438.3333$
 $dbt = 20$
 $dbp = 6$
 $dbg = 14$
 $KTP = 49.20635$
 $KTG = 31.30952$
 $F\text{-hitung} = 1.57161$

ANOVA

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F-hitung	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	6	295.238	49.2063	1,57 tn	2.85	4.46
Galat	14	438.333	31.3095			
Total	20	733.571				

F-hitung (1,57) < F-tabel 5% (2,85) = Perlakuan berbeda tidak nyata

ANALISA RANCANGAN ACAK LENGKAP DARI BAKTERI *Xenorhabdus nematophilus*
TERHADAP *Plutella xylostella* DENGAN METODE PAKAN

Konsentrasi / seri peng- enceran	Persentase kematian serangga (%) hari ke - 2			Total	Rata-rata
	1	2	3		
0	0	0	0	0	0.00
10 (-6)	40	30	10	80	26.67
10 (-5)	20	10	20	50	16.67
10 (-4)	10	10	20	40	13.33
10 (-3)	40	20	40	100	33.33
10 (-2)	50	50	30	130	43.33
10 (-1)	50	20	40	110	36.67
Total				400	

$t = 7$
 $r = 3$
 $FK = 7619.048$
 $JKT = 10480.95$
 $JKP = 4847.619$
 $JKG = 5633.333$
 $dbt = 20$
 $dbp = 6$
 $dbg = 14$
 $KTP = 807.9365$
 $KTG = 402.381$
 $F\text{-hitung} = 2.00789$

ANOVA

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F-hitung	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	6	4847.62	807.937	2,01 tn	2.85	4.46
Galat	14	5633.33	402.381			
Total	20	10481				

F-hitung (2,01) < F-tabel 5% (2,85) = Perlakuan berbeda tidak nyata

ANALISA RANCANGAN ACAK LENGKAP DARI BAKTERI *Xenorhabdus nematophilus* TERHADAP *Plutella xylostella* DENGAN METODE PAKAN

Konsentrasi / seri peng- enceran	Persentase kematian serangga (%)			Total	Rata-rata
	hari ke - 3				
	1	2	3		
0	0	0	0	0	0.00
10 (-6)	40	30	10	80	26.67
10 (-5)	20	20	20	60	20.00
10 (-4)	30	10	20	60	20.00
10 (-3)	50	40	60	150	50.00
10 (-2)	60	60	80	200	66.67
10 (-1)	80	30	60	170	56.67
Total				550	

$t = 7$
 $r = 3$
 $FK = 14404.762$
 $JKT = 22995.238$
 $JKP = 10961.905$
 $JKG = 12033.333$
 $dbt = 20$
 $dbp = 6$
 $dbg = 14$
 $KTP = 1826.98$
 $KTG = 859.52$
 $F\text{-hitung} = 2.13$

ANOVA

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F-hitung	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	6	10961.9	1826.98	2,12 tn	2.85	4.46
Galat	14	12033.3	859.524			
Total	20	22995.2				

F-hitung (2,12) < F-tabel 5% (2,85) = Perlakuan berbeda tidak nyata