

**EKSPLORASI BAKTERI SIMBION PADA MIDGUT  
*Plutella xylostella* L. SEBAGAI BIODEGRADATOR  
INSEKTISIDA PROFENOFOS**

Oleh:  
**MUHAMAD IRSYAD WIGUNA**



**UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
FAKULTAS PERTANIAN  
MALANG**

**2019**

**EKSPLORASI BAKTERI SIMBION PADA MIDGUT  
*Plutella xylostella* L. SEBAGAI BIODEGRADATOR  
INSEKTISIDA PROFENOFOS**

Oleh  
**MUHAMAD IRSYAD WIGUNA**  
145040207111057

**PROGRAM STUDI AGROEKOTEKNOLOGI  
MINAT PERLINDUNGAN TANAMAN**

**SKRIPSI**

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh Gelar  
Sarjana Pertanian Strata Satu (S-1)**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**FAKULTAS PERTANIAN**

**JURUSAN HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN**

**MALANG**

**2019**

## PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa segala pernyataan dalam skripsi ini merupakan hasil dari penelitian saya sendiri, yang dibimbing oleh dosen pembimbing skripsi. Skripsi ini tidak pernah diajukan untuk memperoleh gelar di perguruan tinggi manapun dan sepanjang pengetahuan saya, juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah di tulis atau di terbitkan orang lain, kecuali yang jelas ditunjukkan rujukan dalam skripsi ini dan yang telah disebutkan dalam daftar pustaka.

Malang, November 2019

Muhamad Irsyad Wiguna



## LEMBAR PERSETUJUAN

Judul Penelitian : Ekplorasi Bakteri Simbion Pada *Midgut Plutella xylostella* L. Sebagai Biodegradator Insektisida Profenofos  
Nama Mahasiswa : Muhamad Irsyad Wiguna  
NIM : 145040207111057  
Jurusan : Hama dan Penyakit Tumbuhan  
Program Studi : Agroekoteknologi

Disetujui

Pembimbing Utama,

Pembimbing Kedua

Dr. Ir. Toto Himawan, SU.  
NIP. 19551119 198303 1 002

Mochammad Syamsul Hadi, SP., MP.  
NIK. 201308 860623 1 001

Diketahui,  
Ketua Jurusan

Luqman Qurata Aini, SP.,MP.,Ph.D.  
NIP. 19720919 199802 1 001

Tanggal Persetujuan:

**LEMBAR PENGESAHAN**

Mengesahkan

**MAJELIS PENGUJI**

Penguji I,

Penguji II,

Prof. Dr. Ir. Bambang Tri Rahardjo, SU  
NIP. 19550403 198303 1 003

Mochammad Syamsul Hadi, SP., MP.  
NIK. 201308 860623 1 001

Penguji III,

Penguji IV,

Dr. Ir. Toto Himawan, SU  
NIP. 19551119 198303 1 002

Dr. Ir. Mintarto Martosudiro, MS.  
NIP. 19590705 198601 1 003

Tanggal Lulus :



## RINGKASAN

**Muhamad Irsyad Wiguna. 145040207111057. Eksplorasi Bakteri Simbion Pada *Midgut Plutella xylostella* L. Sebagai Biodegradator Insektisida Profenofos. Dibawah Bimbingan Dr. Ir. Toto Himawan, SU. Sebagai Pembimbing Utama dan Mochammad Syamsul Hadi, SP., MP. Sebagai Pembimbing Kedua.**

Hama *Plutella xylostella* L. atau yang mempunyai nama umum hama ulat daun kubis adalah hama yang sangat penting pada tanaman kubis yang sulit untuk dikendalikan. Kerusakan dari serangan hama *P. xylostella* sangat berpengaruh dalam penurunan kuantitas dan kualitas dari hasil produksi tanaman kubis. Permasalahan resistensi hama *P. xylostella* yang tinggi, di timbulkan dari beberapa faktor yang mendukung. Faktor biologi yang terjadi pada hama merupakan kejadian yang sangat di pertanyakan. Maka perlu dilakukan eksplorasi serta penelitian lebih lanjut tentang potensi bakteri yang terdapat pada bagian pencernaan *P. xylostella*. Berbagai macam bakteri yang terdapat pada sistem pencernaan khususnya bagian *midgut* (mesenteron), dapat bersimbiosis dan diduga dapat mendegradasi racun insektisida profenofos yang telah di aplikasikan.

Penelitian dilaksanakan dengan pengambilan sampel *P. xylostella* L. di daerah Krajan, Pujon Kidul, Malang, Jawa Timur dan Laboratorium Bakteri Tumbuhan Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya, Malang, Jawa Timur di mulai pada bulan November 2018 sampai Oktober 2019. Penelitian dilakukan dalam 5 tahap yaitu : (1) pengambilan sampel ulat *Plutella xylostella* (2) isolasi bakteri pada bagian *midgut Plutella xylostella* (3) seleksi bakteri pada bagian *midgut Plutella xylostella* (4) uji biodegradasi insektisida berbahan aktif profenofos (5) identifikasi bakteri terpilih sampai tingkat genus.

Hasil isolasi dan seleksi kemampuan hidup pada media NA+profenofos di dapatkan 14 isolat bakteri yang mampu hidup. Uji hipersensitif di lakukan pada 14 isolat bakteri, didapatkan 10 isolat bakteri tidak berpotensi sebagai patogen dan 4 bakteri berpotensi sebagai patogen. Pada uji biodegradasi insektisida profenofos pada 14 isolat bakteri terpilih pada 3 konsentrasi insektisida yang berbeda yaitu : 0,75 ml/L, 1,5 ml/L dan 3 ml/L dan diamati selama 72 jam. Didapatkan 2 isolat yang mampu mendegradasi insektisida profenofos ditunjukkan dengan munculnya zona bening, 2 Isolat yang mampu mendegradasi insektisida antara lain isolat G8 dan isolat G9. Sedangkan untuk isolat G1, G2, G3, G4, G5, G6, G7, G10, G11, G12, G13 dan G14 hanya mampu tumbuh pada 3 konsentrasi insektisida namun tidak mampu mendegradasi insektisida tersebut. Hasil identifikasi 14 isolat bakteri yang didapatkan pada *midgut P. xylostella* antara lain : Pada isolat G2, G6, G7 dan G11 merupakan genus *Erwinia* sp., pada isolat G1, G3, G5, G8, G9 dan G12 merupakan genus *Pantoea* sp., sedangkan pada isolat G4, G10, G13 dan G14 merupakan genus *Coryneform* sp.

## SUMMARY

**Muhamad Irsyad Wiguna. 145040207111057. Eksplorasi of *Midgut Plutella xylostella* L. Symbiotic Bacteria as Profenofos Insecticide Biodegradator. Under the guidance of Dr. Ir. Toto Himawan, SU as the main supervisor and Mochammad Syamsul Hadi, SP., MP as the second supervisor.**

*Plutella xylostella* L. or which has the common name of cabbage leaf caterpillar is a very important pest in cabbage plants that are difficult to control. Damage from *P. xylostella* pests is very influential in reducing the quantity and quality of cabbage production. The problem of high *P. xylostella* pest resistance, caused by several factors that support. Biological factors that occur in pests is a very questionable event. Then it is necessary to explore and further research about the potential of bacteria found in the digestive part of *P. xylostella*. Various kinds of bacteria found in the digestive system, especially the *midgut* (mesenteron), can be symbiotic and are thought to be able to degrade profenophos insecticide poison that has been applied.

The research was carried out by taking *P. xylostella* L. samples in Krajan, Pujon Kidul, Malang, East Java and the Plant Bacteria Laboratory, Department of Pests and Plant Diseases, Faculty of Agriculture, Universitas Brawijaya, Malang, East Java, starting in November 2018 until October 2019. Research carried out in 5 stages, namely: (1) sampling of caterpillar *Plutella xylostella* (2) isolation of bacteria in the *midgut* section of *Plutella xylostella* (3) bacterial selection in the *midgut* section of *Plutella xylostella* (4) biodegradation test of insecticide with active ingredients from profenofos (5) identification of selected bacteria up to genus level.

The results of isolation and selection of the ability to live on NA + profenofos media obtained 14 bacterial isolates that are able to live. Hypersensitivity test was carried out on 14 bacterial isolates, found 10 bacterial isolates had no potential as pathogens and 4 bacteria had potential as pathogens. In the biodegradation test of Profenophos insecticide on 14 selected bacterial isolates at 3 different insecticide concentrations namely: 0.75 ml / L, 1.5 ml / L and 3 ml / L and observed for 72 hours. Two isolates that were able to degrade profenophos insecticide were shown by the emergence of a clear zone, 2 isolates that were able to degrade insecticides include G8 isolates and G9 isolates. Whereas isolates G1, G2, G3, G4, G5, G6, G7, G10, G11, G12, G13 and G14 were only able to grow at 3 concentrations of insecticide but were unable to degrade the insecticide. The results of the identification of 14 bacterial isolates obtained in *P. xylostella midgut* include: In isolates G2, G6, G7 and G11 are the genus *Erwinia*, in isolates G1, G3, G5, G8, G9 and G12 are the genus *Pantoea*, whereas in isolates G4, G10, G13 and G14 are genus *Coryneform*.

## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT yang dengan rahmat dan hidayah-Nya telah menuntun penulis sehingga dapat menyelesaikan penelitian yang berjudul “Eksplorasi Bakteri Simbion Pada *Midgut Plutella xylostella* L. Sebagai Biodegradator Insektisida Profenofos”. Skripsi ini bertujuan untuk mengetahui bakteri simbion pada *midgut P. xylostella* serta kemampuan bakteri dalam mendegradasi insektisida berbahan aktif profenofos. Dalam penulisan skripsi ini, tentunya banyak pihak yang telah memberikan bantuan serta dukungan. Oleh karena itu penulis ingin menyampaikan ucapan terimakasih kepada:

1. Bapak Dr. Ir. Toto Himawan, SU. dan Bapak Mochammad Syamsul Hadi, SP., MP selaku Dosen Pembimbing yang telah memberikan arahan dan bimbingan kepada penulis.
2. Bapak Luqman Qurata Aini, SP.,MP.,Ph.D. selaku Ketua Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya yang telah memberikan nasihat dan bimbingan kepada penulis.
3. Bapak Jaka Wiyana, Ibu Sri Wahyuni, Ellops Samudra S.W, Putri Dwi Wahyuni dan seluruh keluarga besar yang telah memberikan doa serta dorongan material, spiritual, semangat dan motivasi selama masa studi, kegiatan penelitian hingga penyusunan skripsi.
4. Febri, Zaki, Rizka, Cindi dan Safira yang sudah menjadi partner penelitian di Laboratorium Bakteri Tumbuhan.
5. Sahabat dan orang terdekat penulis yaitu Jordy, Baba, Faizal Kumat, Danial, Fidia, Robby Uwa dan seluruh anggota Manis Manja Company yang memberikan semangat dalam menyelesaikan skripsi.

Penulis berharap semoga hasil dari penelitian ini dapat bermanfaat bagi banyak pihak dan memberikan pemikiran dalam kemajuan ilmu pengetahuan.

Malang, 21 Agustus 2018

Penulis

## RIWAYAT HIDUP

Penulis bernama Muhamad Irsyad Wiguna dilahirkan di Karawang pada tanggal 14 Agustus 1996 sebagai putra kedua dari kedua bersaudara dari Bapak Jaka Wiyana dan Ibu Sri Wahyuni.

Penulis menempuh pendidikan dasar di SDN Tembokrejo 2 Pasuruan pada tahun 2002 sampai dengan 2008, kemudian penulis melanjutkan ke SMPN 1 Pasuruan pada tahun 2008 dan selesai pada tahun 2011. Pada tahun 2011 sampai dengan 2014 penulis studi di SMAN 1 Pasuruan. Pada tahun 2014 penulis terdaftar sebagai mahasiswa Strata-1 Program Studi Agroekoteknologi Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya, Jawa Timur, melalui jalur SPMK (Seleksi Program Minat dan Kemampuan).

Selama menjadi mahasiswa penulis pernah aktif dalam mengikuti kegiatan kepanitiaan Rantai 2015 dan pernah menjabat sebagai Ketua Dewan Perwakilan Mahasiswa periode 2017/2018. Pada tahun 2017, penulis melaksanakan kegiatan magang kerja di UD Bumiaji, Kota Batu, Jawa Timur.



## DAFTAR ISI

RINGKASAN .....	i
SUMMARY .....	ii
KATA PENGANTAR .....	iii
RIWAYAT HIDUP .....	iv
DAFTAR ISI .....	v
DAFTAR GAMBAR .....	vi
DAFTAR TABEL .....	vii
DAFTAR LAMPIRAN .....	viii
I. PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan Penelitian .....	3
1.4 Manfaat Penelitian .....	3
II. TINJAUAN PUSTAKA .....	4
2.1 Deskripsi Ulat Kubis ( <i>Plutella xylostella</i> ) .....	4
2.2 Tanaman Kubis .....	5
2.3 Insektisida .....	6
2.4 Bakteri .....	10
III. METODOLOGI .....	13
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian .....	13
3.2 Alat dan Bahan .....	13
3.3 Metode Pelaksanaan Penelitian .....	13
3.4 Analisis Data .....	22
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN .....	23
4.1. Isolasi Bakteri pada <i>Midgut P. xylostella</i> .....	23
4.2 Seleksi Bakteri pada <i>Midgut P. xylostella</i> .....	24
4.3 Uji Hipersensitif .....	24
4.4 Uji Biodegradasi Insektisida Bahan Aktif Profenofos .....	25
4.5 Karakterisasi Bakteri Simbion pada <i>Midgut P. xylostella</i> .....	28
V. PENUTUP .....	39
5.1 Kesimpulan .....	39
5.2 Saran .....	39
DAFTAR PUSTAKA .....	40
LAMPIRAN .....	45

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Teks	Halaman
1.	Ulat daun kubis ( <i>Plutella xylostella</i> ).....	4
2.	Siklus hidup <i>P.xylostella</i> .....	5
3.	Tanaman Kubis.....	6
4.	Struktur formula profenofos.....	9
5.	Kerangka operasional uji biodegradasi insektisida profenofos.....	16
6.	Modifikasi uji biodegradasi insektisida profenofos.....	17
7.	Bagan alir identifikasi bakteri hingga tingkat genus.....	18
8.	Bagan alir identifikasi bakteri hingga tingkat genus.....	19
9.	Hasil isolasi bakteri.....	23
10.	Hasil uji hipersensitif.....	24
11.	Hasil uji biodegradasi.....	27
12.	Bentuk koloni tunggal bakteri.....	29
13.	Hasil pengecatan gram dan KOH 3%.....	32
14.	Hasil positif uji katalase isolat G14.....	33
15.	Hasil negatif uji pewarnaan spora isolat G13.....	33
16.	Hasil positif uji oksidatif-fermentatif.....	34
17.	Hasil pengujian media YDC.....	35



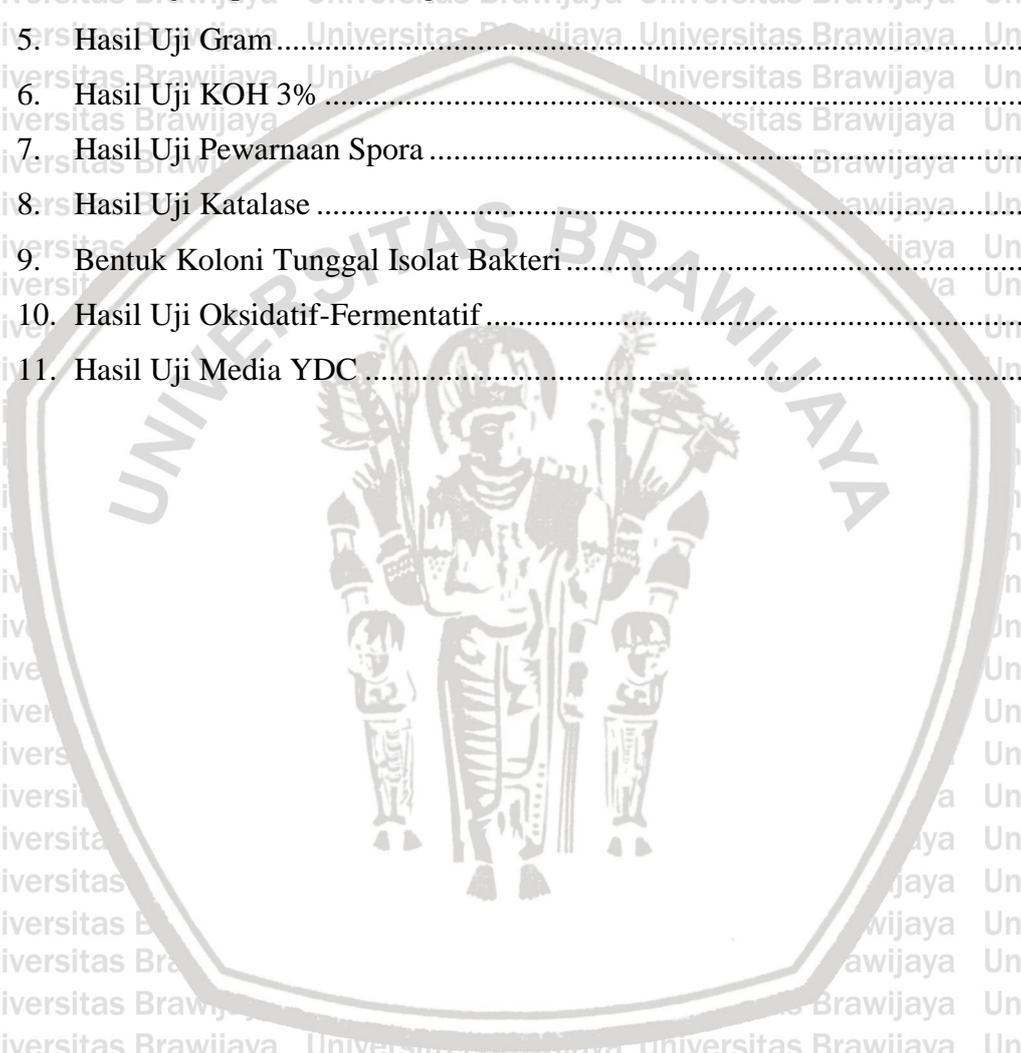
DAFTAR TABEL

Nomor	Teks	Halaman
1.	Nilai BMR Profenofos pada berbagai komoditas pertanian.....	8
2.	Hasil seleksi bakteri yang mampu hidup dalam media NA + profenofos .....	24
3.	Pengujian biodegradasi insektisida profenofos.....	25
4.	Rerata diameter zona bening pada uji degradasi insektisida profenofos .....	26
5.	Hasil karakterisasi bakteri simbion <i>P. xylostella</i> .....	30



DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Teks	Halaman
1.	Hasil Analisis Ragam Uji Biodegradasi .....	45
2.	Streak Tunggal Bakteri Terpilih Hasil Pada Media NA Isolat .....	47
3.	Hasil Uji Biodegradasi Bakteri Terpilih Pengamatan 72 Jam. ....	48
4.	Hasil Uji Hipersensitif Pengamatan 48 Jam .....	51
5.	Hasil Uji Gram .....	52
6.	Hasil Uji KOH 3% .....	53
7.	Hasil Uji Pewarnaan Spora .....	54
8.	Hasil Uji Katalase .....	54
9.	Bentuk Koloni Tunggal Isolat Bakteri .....	55
10.	Hasil Uji Oksidatif-Fermentatif .....	56
11.	Hasil Uji Media YDC .....	56



## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Tanaman kubis atau yang biasa disebut *Brassica oleracea* merupakan salah satu tanaman sayuran yang mempunyai prospek dalam perkembangannya karena mempunyai nilai ekonomi yang tinggi serta dalam segi kesehatan tanaman kubis merupakan tanaman yang memiliki nilai gizi, kandungan vitamin dan mineral yang diperlukan oleh tubuh manusia. Nilai kandungan yang terdapat pada 100 g daun kubis, antara lain 93 ml air, 1.5 g protein, 0.2 g lemak, 4 g karbohidrat, 0.8 g serat, 40 mg kalsium, 0.5 mg besi, 30 IU vitamin A, 0.05 mg tiamin, 0.05 riboflavin, 0.3 mg nikotinamide, dan 40 mg asam askorbat (Ashari, 1995). Berbagai macam manfaat yang diberikan oleh tanaman kubis, menyebabkan tanaman tersebut menjadi tanaman yang sangat diminati, baik dalam negeri maupun di luar negeri. Namun sulitnya penanggulangan permasalahan hama pada tanaman kubis menjadikan hambatan dalam proses budidaya.

Hama *Plutella xylostella* L. atau dikenal dengan hama ulat daun kubis merupakan hama yang sangat penting pada tanaman kubis yang sulit untuk dikendalikan. Kerusakan dari serangan hama *P. xylostella* sangat berpengaruh dalam penurunan kuantitas dan kualitas dari hasil produksi tanaman kubis. Bahkan, apabila serangan *P. xylostella* cukup tinggi dan tidak dapat terkendali, akan berdampak pada kegagalan panen yang sangat merugikan petani. Menurut Rukmana (1994), kehilangan hasil produksi pada tanaman kubis yang disebabkan oleh hama *P. xylostella* bisa mencapai 58% - 100%. Penyerangan yang dilakukan hama *P. xylostella* umumnya pada tanaman kubis muda sebelum tanaman tersebut membentuk krop dan terjadi pada fase larva.. Menurut Winarto dan Nazir (2004), larva *P. xylostella* yang baru menetas akan menuju ke permukaan daun dan melubangi lapisan epidermis. Larva *P. xylostella* umumnya akan menyerang bagian bawah permukaan daun, hingga meninggalkan tulang dan lapisan epidermis atas. Apabila penyerangan cukup besar, *P. xylostella* dapat menghabiskan tanaman kubis yang berumur 1 bulan dalam waktu 3 – 5 hari.

Pada umumnya, aplikasi insektisida merupakan pengendalian hama *P. xylostella* yang dilakukan oleh petani. Menurut Pusat Perizinan dan Investasi (2010) terdapat 141 jenis insektisida yang dianjurkan untuk mengendalikan hama

*P. xylostella*. Golongan Insektisida yang biasanya digunakan petani untuk mengendalikan hama tersebut salah satunya merupakan insektisida golongan organofosfat. Golongan insektisida organofosfat sering digunakan oleh petani dikarenakan harga yang di tawarkan jauh lebih murah. Profenofos merupakan salah satu bahan aktif dari golongan organofosfat yang sudah umum digunakan petani dalam mengendalikan hama *P. xylostella*.

Penggunaan insektisida secara intensif dengan konsentrasi yang tinggi serta jarak waktu penyemprotan yang sangat berdekatan dapat menimbulkan masalah yang serius bagi petani, baik dalam segi lingkungan yang akan tercemar, rusaknya ekosistem di lahan petani, dan hama yang semakin resisten terhadap insektisida tersebut. Menurut Moekasan *et al.* (2004), *P. xylostella* yang berasal dari Lembang, Pangalengan (Bandung), Kejajar/Dieng dan Batu sangat resisten terhadap profenofos, ditunjukkan dengan tingginya nilai LC<sub>50</sub> profenofos sebesar 29.172,36 ppm sampai 1.285.205,37 ppm. Penggunaan insektisida ini telah menyebabkan masuknya bahan kimia toksik dalam jumlah besar ke tanah dan perairan yang menyebabkan pencemaran lingkungan (Hartwell, 2011). Sedangkan menurut Ameriana *et al.* (2000), pada daun kubis di temukan residu insektisida profenofos yang sangat tinggi yaitu 0,41 ppm, sedangkan batas toleransi yang di perbolehkan adalah 0,10 ppm.

Permasalahan resistensi hama *P. xylostella* yang tinggi, di timbulkan dari beberapa faktor yang mendukung. Seperti faktor genetik hama yang resisten, faktor operasional petani dalam aplikasi pestisida yang tidak sesuai, serta faktor biologi yang terdapat pada sistem pencernaan hama sehingga dapat mendegradasi racun insektisida yang telah di aplikasikan. Dari berbagai macam faktor tersebut, faktor biologi yang terjadi pada hama merupakan kejadian yang sangat di pertanyakan. Maka perlu dilakukan eksplorasi serta penelitian lebih lanjut tentang potensi bakteri yang terdapat pada bagian pencernaan *P. xylostella*. Menurut Xia *et al.* (2013), dalam *midgut* larva *Diamond Black Mouth* (DBM) 97,17% komposisi mikroba yang telah diidentifikasi di dominasi oleh tiga ordo bakteri, antara lain *Enterobacteriales* (*phylum Proteobacteria*) dengan proporsi 45,17%, *Vibrionales* (*phylum Proteobacteria*) dengan proporsi 22,51% dan *Lactobacillales* (*phylum Firmicutes*) dengan proporsi 29,49%.

Berbagai macam bakteri yang terdapat pada sistem pencernaan khususnya bagian *midgut* (mesenteron), dapat bersimbiosis dan diduga dapat mendegradasi racun insektisida yang telah di aplikasikan. Menurut Mau dan Kessing (1992), *Bacillus thuringiensis* adalah mikroorganisme yang bersifat patogen terhadap jenis serangga hama dari ordo Lepidoptera, Coleoptera dan Diptera. Namun yang menjadi masalah bahwa *Bacillus thuringiensis* di laporkan telah menimbulkan resistensi terhadap *P. xylostella*. Maka dengan adanya data dari beberapa penelitian serta minimnya penelitian terkait hal tersebut di Indonesia, diharapkan dengan adanya penelitian ini mampu memberikan data pendukung ataupun informasi baru yang akan membantu dalam proses penelitian dalam bidang pengendalian organisme pengganggu tanaman.

### 1.2 Rumusan Masalah

Hampir semua makhluk hidup terdapat bakteri simbion, kemungkinan bakteri simbion juga terdapat pada hama *P. xylostella*. Maka eksplorasi bakteri simbion pada *midgut P. xylostella* merupakan langkah yang perlu dilakukan. Bakteri simbion yang ditemukan selanjutnya dikarakterisasi serta diuji kemampuan biodegradasi terhadap aplikasi insektisida berbahan aktif profenofos.

### 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah mendapatkan bakteri simbion yang terdapat pada *midgut P. xylostella*. Mengetahui jenis bakteri berdasarkan hasil karakterisasi serta kemampuan degradasi terhadap aplikasi insektisida berbahan aktif profenofos.

### 1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari dilakukannya penelitian ini adalah didapatkan informasi jenis bakteri simbion pada *midgut P. xylostella* hingga tingkat genus serta kemampuannya dalam mendegradasi insektisida profenofos. Diharapkan penelitian ini dapat membantu dalam bidang keilmuan, khususnya dalam menanggulangi permasalahan *P. xylostella*.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Deskripsi Ulat Kubis (*Plutella xylostella*)

#### Klasifikasi Ulat Kubis (*Plutella xylostella*)

Hama ulat kubis (*Plutella xylostella*) merupakan hama utama yang sangat berpengaruh pada tanaman *Bassicaceae* di Indonesia. Menurut Kalshoven (1981), klasifikasi *P. xylostella* termasuk dalam Kingdom: Animalia, Phylum: Arthropoda, Kelas: Insecta, Ordo: Lepidoptera, Famili: Plutellidae, Genus: *Plutella* dan Spesies: *Plutella xylostella* L.



Gambar 1. Ulat daun kubis (*Plutella xylostella*) (Santrosiswojo, 2005).

#### Bioekologi Ulat Daun Kubis

Larva *P. xylostella* pada serangga dewasa menjadi ngengat kecil, dengan panjang ukuran kurang lebih 6 mm dengan warna tubuh coklat kelabu dan aktif pada malam hari. Sayap depan pada ngengat terdapat tiga lekukan (undulasi) yang memiliki bentuk seperti berlian (Winarto dan Sebayang, 2015). Siklus hidup pada *P. xylostella* terjadi pada 4 tahap, yaitu telur, larva, pupa dan imago.

Telur pada larva *P. xylostella* berbentuk oval dengan ukuran 0,6 mm x 0,3 mm berwarna kuning, berkilau dan lembek. Menurut Vos (1953), ngengat betina meletakkan telur secara tunggal atau berkelompok kecil antara 3 atau 4, ataupun dalam gugusan 10-20 di sekitar tulang daun tanaman kubis bagian bawah. Ngengat betina bertelur selama 19 hari dan jumlah telur rata-rata 244 butir dengan lama stadium 3 hari.

Larva atau ulat muda berwarna hijau dengan bentuk silindris, relatif tidak mempunyai bulu serta mempunyai 5 pasang proleg (Harcourt, 1954). Larva *P. xylostella* terdiri atas 4 instar dengan panjang larva dewasa (instar ke-3 dan 4) kurang lebih berukuran 1 cm. Menurut Vos (1953), lamanya stadium larva pada *P. xylostella* instar pertama 79 jam, instar kedua 25 jam, instar ketiga 31 jam dan instar keempat 79 jam.

Fase antara larva instar keempat menuju prapupa pada *P. xylostella* tidak terjadi pergantian kulit. Ukuran pupa mempunyai panjang rata-rata 6,3-7 mm dengan lebar 1,5 mm (Harcourt, 1954). Pupa larva *P. xylostella* di bungkus dengan kokon (benang sutera) kemudian di letakkan pada permukaan bagian bawah daun kubis. Stadium pupa berlangsung rata-rata 147 jam (Vos, 1953).

Siklus hidup pada larva *P. xylostella* menurut Chan *et al.* (2008), berkisar antara 21-51 hari. Lama periode hidup pada larva juga sangat di pengaruhi faktor lain seperti makanan dan lingkungan (suhu dan kelembaban).



Gambar 2. Siklus hidup *P.xylostella* (Sastrosiswojo, 2005)

## 2.2 Tanaman Kubis

Kubis merupakan tanaman produk pertanian yang sangat diminati dan dibutuhkan bagi sebagian masyarakat di Indonesia. Masuknya variatas kubis di Indonesia diduga terjadi pada abad XIX yang berasal dari India (Rukmana, 1994).

Selain mempunyai nilai ekonomis yang tinggi, tanaman kubis yang termasuk tanaman hortikultura merupakan kelompok enam besar sayuran komoditi ekspor unggulan di Indonesia (Rukmana, 1994). Menurut Rukmana (1994), klasifikasi tanaman kubis termasuk dalam Divisi : Spermatophyta, Sub divisi : Angiospermae, Kelas : Dicotyledonae, Ordo : Papavorales, Famili : Cruciferae (Brassicaceae), Genus : Brassica dan Spesies : *Brassica oleraceae*.



Gambar 3. Tanaman Kubis (Santrosiswojo, 2005).

Morfologi tanaman kubis mempunyai daun berbentuk bulat, oval, dan lonjong dengan membentuk roset akar yang besar dan tebal. Warna daun pada tanaman kubis bermacam-macam, antara lain berwarna putih (*forma alba*), hijau, dan merah keunguan (*forma rubra*). Buah polong pada kubis berbentuk silindris, dengan panjang 5-10 cm, berbiji banyak. Biji berdiameter 2-4 mm, berwarna coklat kelabu dan berakar serabut (Dalimartha, 2000). Menurut Cahyono (2001), tanaman kubis mempunyai akar tunggang (*Radix Primaria*) dan akar serabut. Akar tunggang pada tanaman kubis tumbuh mengarah menuju kearah dalam, sedangkan akar serabut tumbuh menyebar dan dangkal (20-30 cm). Dengan sistem perakaran seperti itu tanaman kubis dapat tumbuh dengan baik pada tanah yang gembur dan porous.

Syarat tumbuh tanaman kubis pada mulanya ditanam pada daerah yang beriklim dingin (Sub tropis), sehingga di Indonesia tanaman tersebut di tanam pada dataran tinggi dengan ketinggian 1000-2000 meter diatas permukaan laut dengan suhu udara yang dingin dan lembab. Menurut Rukmana (1994), kisaran temperatur optimum untuk pertumbuhan dan produksi tanaman kubis berkisar antara  $15^{\circ}$ - $18^{\circ}$  C dan maksimum  $24^{\circ}$  C.

### 2.3 Insektisida

Insektisida merupakan zat kimia yang berfungsi sebagai pemberantas serangga pengganggu (Kamus Pertanian Umum, 2013). Insektisida dalam pengertian umum merupakan suatu jenis dari pestisida (pembunuh hama). Namun dalam fokus penyerangannya, insektisida digunakan untuk memberantas semua jenis serangga.

## Jenis – Jenis Insektisida

Menurut Peraturan Pemerintah Nomor 7 Tahun 1973, batasan dari penggunaan jenis pestisida adalah semacam zat kimia dan bahan lain serta jasad renik dan virus yang digunakan untuk :

1. Memberantas atau mencegah hama, penyakit yang merusak tanaman, bagian tanaman atau hasil-hasil pertanian.
2. Memberantas gulma.
3. Mematikan daun dan menegah pertumbuhan yang tidak diinginkan.
4. Mengatur/merangsang pertumbuhan tanaman atau bagian tanaman (tidak termasuk pupuk).
5. Memberantas atau mencegah hama luar pada hewan peliharaan/ternak.
6. Memberantas atau mencegah binatang dan jasad renik dalam rumah tangga.
7. Memberantas atau mencegah binatang yang dapat menyebabkan penyakit pada manusia atau binatang yang perlu dilindungi.

## Cara Masuk Insektisida

Cara masuk insektisida pada serangga dapat melalui berbagai macam cara. Menurut Raini (2007), insektisida dapat masuk melalui kulit, sistem pernapasan, sistem pencernaan, bahkan dapat melalui lebih dari satu cara, berikut merupakan penjelasan cara insektisida masuk kedalam tubuh serangga :

- a) Racun Kontak adalah insektisida yang masuk kedalam tubuh serangga lewat kulit (bersinggungan langsung). Serangga hama akan mati bila bersinggungan (kontak langsung) dengan insektisida tersebut (Jumar, 2000).
- b) Racun Pernapasan adalah insektisida yang bekerja lewat saluran pernapasan. Serangga hama akan mati bila menghirup insektisida dalam jumlah yang cukup. Kebanyakan racun napas berupa gas atau bila wujud asalnya padat atau cair yang segera berubah atau menghasilkan gas dan diaplikasikan sebagai fumigansi. Misalnya metil bromida, aluminium fosfida. (Rukmana, Rahmat dan Sugandi, 1997).
- c) Racun Lambung (Racun Perut/*Stomach Poison*) adalah insektisida yang membunuh serangga sasaran bila insektisida tersebut masuk kedalam organ pencernaan serangga dan diserap oleh dinding saluran pencernaan. Selanjutnya, insektisida tersebut dibawa oleh cairan tubuh serangga ketempat

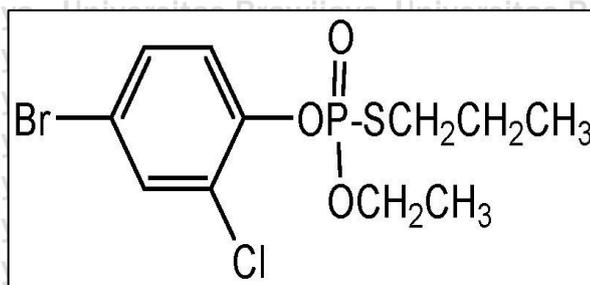
sasaran yang mematikan (misalnya kesusunan syaraf serangga). Oleh karena itu, serangga harus terlebih dahulu memakan tanaman yang sudah disemprotkan dengan insektisida dalam jumlah yang cukup untuk membunuhnya (Jumar, 2000).

### **Golongan Insektisida Organofosfat**

Insektisida dengan unsur P meliputi semua ester fosforik ( $H_3PO_4$ ) sebagai inti yang aktif. Pada saat ini organofosfat merupakan kelompok insektisida yang terbesar karena sangat bervariasi jenis dan sifatnya. Organofosfat mampu menurunkan populasi serangga dengan cepat, tetapi persistensinya dilingkungan sedang (Untung, 2006). Menurut Darmono (2008), menyatakan bahwa organofosfat menghambat aksi pseudokolinesterase dalam plasma dan kolinesterase dalam sel darah merah dan pada sinapsinya. Enzim tersebut secara normal menghidrolisis asetilkolin menjadi asetat dan kolin. Pada saat enzim dihambat, maka mengakibatkan jumlah asetilkolin meningkat dan berikatan dengan reseptor muskarinik dan nikotinik pada sistem saraf pusat dan perifer. Hal tersebut dapat menyebabkan timbulnya gejala keracunan yang berpengaruh pada seluruh bagian tubuh. Terhambatnya enzim asetilkolinesterase mengakibatkan terjadinya penumpukan asetilkolin, sehingga dapat menimbulkan kekacauan pada sistem impuls ke sel-sel otot. Keadaan ini dapat menyebabkan pesan-pesan berikutnya tidak dapat diteruskan, otot kejang dan akhirnya terjadi kelumpuhan (paralisis) dan kematian (Untung, 2006). Salah satu bahan aktif yang termasuk organofosfat adalah profenofos.

### **Profenofos**

Profenofos merupakan bahan aktif insektisida yang bekerja sebagai racun perut pada serangga. Menurut Makoto (2018), berikut adalah identifikasi bahan aktif Profenofos. ISO common name: Profenofos, Manufacturer's code Number: CGA15324, OMS2004, Other code numbers: CAS No: 41198-08-7, CIPAC No: 461, Chemical name: IUPAC: O-4-bromo-2-chlorophenyl O-ethyl S-propyl phosphorothioate, CA: O-(4-bromo-2-chlorophenyl) O-ethyl S-propyl phosphorothioate, Formulae:  $C_{11}H_{15}BrClO_3PS$  Molecular mass 373.6 g/mol.



Gambar 4. Struktur formula profenofos (Makoto, 2018).

Profenofos merupakan insektisida yang termasuk pada golongan organofosfat. Dalimunthe *et al.* (2012), menyatakan bahwa golongan organofosfat merupakan jumlah pestisida terbesar yang beredar di pasar dan banyak digunakan dalam bidang pertanian karena tidak menyebabkan resistensi pada serangga. Dengan takaran yang rendah sudah memberikan dampak yang memuaskan, selain itu kerjanya cepat dan mudah terurai. Namun dengan dosis maupun takaran penggunaan yang tidak sesuai, insektisida profenofos dapat menyebabkan permasalahan, seperti terjadinya resistensi maupun juga berdampak pada lingkungan sekitar. Menurut Ramika *et al.* (2012), profenofos juga berbahaya untuk organisme non-target pada ekosistem terestrial dan perairan.

**Batas Maksimal Residu**

BMR atau batas maksimal residu insektisida merupakan tingkat bahaya residu insektisida yang digunakan. Batas konsentrasi yang digunakan sudah diatur dan disahkan secara hukum oleh BSN (Badan Standardisasi Nasional) dalam satuan miligram residu insektisida perkilogram. Berikut merupakan nilai BMR profenofos dari berbagai komoditas pertanian menurut Standar Nasional Indonesia (2008),

Tabel 1. Nilai BMR Profenofos pada berbagai komoditas pertanian.

Komoditas	BMR (mg/kg)
Biji Kapas	2
Bit gula	0,05
Daging mamalia (selain hewan laut)	0,05
Jeruk, Manis, Asam	1
Kentang	0,05
Kubis	1
Kubis Bunga/kembang kol	0,5
Minyak biji kapas dapat dimakan	0,05
Minyak kadang kedelai, Sulingan	0,05
Paprika, Cabai	5
Paprika, Manis	0,5
Tomat	2



## 2.4 Bakteri

Bakteri merupakan organisme yang tidak memiliki organ selubung inti (prokariotik). Bakteri pada umumnya mempunyai ukuran sel 0,5-1,0  $\mu\text{m}$  x 2,0-5,0  $\mu\text{m}$ , dan terdiri dari tiga bentuk dasar yaitu bentuk bulat atau kokus, bentuk batang atau bacillus, bentuk spiral (Dwidjoseputro, 1985). Jenis-jenis bakteri menurut Syarief dan Halid (1993) menyatakan bahwa, identifikasi jenis bakteri berdasarkan sifat morfologi, biokimia, fisiologi dan serologi, antara lain (a). Bakteri gram positif, dengan bentuk kokus dalam pengujian katalase positif: *Staphylococcus*, sedangkan dalam pengujian katalase negatif: *Streptococcus*, *Leuconostoc* dan *Pediococcus*. Bakteri berbentuk batang, dalam pengujian anaerobik: *Clostridium botulinum*, *Lactobacillus* dan *Propionic bacterium*, sedangkan dalam pengujian aerobik: *Bacillus*. (b). Bakteri gram negatif berbentuk batang dan dalam pengujian fermentatif: *Proteus*, *Eschericia coli* dan *Enterobacter*, sedangkan apabila berbentuk spiral atau batang dan dalam pengujian non-fermentatif: *Pseudomonas*, *Alcaligenes*.

### Bakteri Endosimbion

Pada perkembangannya bakteri dapat bersimbiosis dengan berbagai macam makhluk hidup dan bermanfaat bagi kehidupan makhluk hidup lain. Menurut Octavia (2010), pemanfaatan bakteri untuk bioremediasi limbah mampu mencegah efek negative limbah terhadap lingkungan yang merupakan habitat berbagai makhluk hidup.

Namun simbiosis bakteri juga menjadi momok bagi para akademisi di bidang pertanian ketika bakteri tersebut bersimbiosis dengan hama yang merupakan musuh bagi petani. Seperti yang dikutip dari Syamsidi dan Fitriyanti (2014), dalam penelitian ilmu kedokteran ditemukan bahwa selain lalat membawa kuman penyakit namun ternyata dalam tubuh lalat tersebut juga mengandung zat antibiotika yang mampu membunuh kuman. Aktivitas ezim selulolitik bakteri simbiosis telah ditemukan Delalibetra *et al.* (2005), pada usus penggerek kayu *Saperda vestita* (Coleoptera: Cerambicidae), kumbang *Ips Pini* dan *Dendroctonus frontalis* (Coleoptera: Curculionidae) ditemukan adanya *a-Proteobacteria* pada larva dan kumbang pinus dewasa *Dendroctonus frontalis* (Vasantakumar *et al.*,

2006). Proses pencernaan terhadap karbohidrat, protein dan lipid terjadi di usus tengah (*midgut*), meskipun sebagian pencernaan selulosa yang di sebabkan oleh enzim selilase mikroba juga terjadi di usus belakang (*hindgut*). Enzim selulase serangga umumnya ditemukan di usus tengah (*midgut*) (Biorata, 2012).

### **Bakteri Biodegradasi Inseksida**

Biodegradasi merupakan proses terjadinya pemecahan senyawa kimia yang dilakukan dengan bantuan mikroorganisme menjadi komponen yang lebih sederhana. Menurut Munir (2006), beberapa mikroorganisme seperti bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, *Arthrobacter* sp, *Streptomyces viridans* dan *Acinetobacter calcoaceticus* mampu menyerap jenis logam berat seperti Cd, Cr, Pb, Cu, dan Zn dari tanah dengan menghasilkan senyawa biosurfaktan. Berikut beberapa genus bakteri yang berpotensi menjadi agens biodegradasi.

#### **a. Bakteri *Pantoea* sp.**

Bakteri *Pantoea* sp. termasuk golongan bakteri gram negatif, dengan hasil motilitas non-motil, berbentuk batang (rod). Bakteri genus *Pantoea* sp. merupakan salah satu bakteri yang berperan sebagai PGPR dan berpotensi dalam peningkatan pertumbuhan dan hasil tanaman (Raka *et al.*, 2012). *Pantoea* sp. telah dimanfaatkan dalam keperluan industri sebagai agens biodegradasi dan remediasi pada hesbisida dan zat beracun lain (Zaenuri *et al.*, 2018). Menurut Long *et al.* (2004), bakteri *Pantoea* sp. merupakan bakteri endofit yang digunakan untuk menghambat perkembangan patogen *Ralstonia solanacearum* secara *in vitro*.

#### **b. Bakteri *Acinetobacter* sp.**

*Acinetobacter* sp. merupakan bakteri yang memiliki panjang 1,5-2,5  $\mu\text{m}$  dan diameter 0,9-1,6  $\mu\text{m}$ . Bakteri *Acinetobacter* sp. merupakan bakteri gram negatif yang tidak dapat membentek spora, berbentuk panjang bulat pada fase stasioner, bersifat aerobik, oksidasi negatif, katalase positif dan tumbuh optimum pada suhu 33°-35° C. Kemampuan bakteri *Acinetobacter* sp. dengan mengubah rantai hidrokarbon menjadi nutrisi. Bakteri *Acinetobacter* sp. memiliki kemampuan mendegradasi berbagai senyawa, antara lain: aromatik salisiat, phenol dan alkana (Robert *et al.*, 1957) dan menurut Sutanto (2011), *Acinetobacter* sp. mampu mendegradasi asam organik.

**c. Bakteri *Pseudomonas* sp.**

Bakteri *Pseudomonas* sp. merupakan bakteri yang termasuk dalam gram negatif, berbentuk batang dan tidak membentuk spora. Bakteri ini merupakan bakteri obligat aerob, akan tetapi beberapa spesies juga dapat hidup secara anaerob dengan kondisi lingkungan nitrat. Bakteri *Pseudomonas* sp. tidak mampu menghasilkan enzim hidrolitik yang sangat berguna dalam proses degradasi polimer namun bakteri ini mempunyai sistem *inducible operon* yang mampu menghasilkan suatu enzim yang penting dalam proses metabolisme sumber karbon. Menurut Shimao (2001), jenis enzim yang di hasilkan oleh bakteri *Pseudomonas* sp. yang berguna dalam proses degradasi adalah enzim serine hidrolase, lipase dan esterase.

**d. Bakteri *Bacillus* sp.**

Bakteri *Bacillus* sp. termasuk dalam jenis bakteri gram positif ber-sel tunggal, mempunyai bentuk batang pendek dan berantai panjang. Ukuran lebar dari bakteri *Bacillus* sp. 1–1,2  $\mu\text{m}$  dengan panjang 3–5  $\mu\text{m}$ . Suhu maksimum pertumbuhan bakteri *Bacillus* sp. diantara 30–50°C dan minimum suhu pada 5–20°C. Bakteri ini mampu mendegradasi minyak bumi, dengan mengubah minyak bumi sebagai sumber karbon dan energi. *Bacillus* sp. juga mampu mendegradasi senyawa 2,4-diklorofenol dengan cara menurunkan kadar konsentrasi dari 40 mg/L menjadi 0,2 mg/L dalam 21 hari (Effendy, 2010). Bakteri *Bacillus* sp. yang sering digunakan antara lain, *Bacillus subtilis* dan *Bacillus cereus* (Cookson, 1995).

**e. Bakteri *Corynebacterium* sp.**

Bakteri *Corynebacterium* sp. merupakan jenis bakteri gram negatif, tidak membentuk endospora, mempunyai warna koloni putih tulang dengan elevasi cekung dan tepi berombak. *Corynebacterium* sp. mempunyai bentuk bakteri batang pleomorfik dengan diameter 0,3–0,8  $\times$  1,0–8,0  $\mu\text{m}$ . Bakteri *Corynebacterium* sp. merupakan mikroorganisme yang mampu mendegradasi hidrokarbon minyak bumi (Basuki, 2011).

### III. METODOLOGI

#### 3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan November 2018 di daerah Krajan, Pujon Kidul, Malang, Jawa Timur dan Laboratorium Bakteri Tumbuhan Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya, Malang, Jawa Timur.

#### 3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam proses penelitian ini antara lain, pinset, pisau bedah, kotak penyimpanan, blue tip, cawan petri, microtube, tabung reaksi, Laminar Air Flow Cabinet (LAFC) type:H.S. 079S, inkubator (shaker), lampu, bunsen, korek api, timbangan analitik, jarum suntik, kompor listrik, penggaris, spidol OHP, corong, sprayer, micropipet Vitlab dig 100-1000 µl, tabung erlenmeyer, botol media, gelas ukur, object glass, cover glass, spatula, penggaris, jarum ose, mikroskop stereo yang terhubung dengan komputer, autoclave type HL-36 Ae Hirayama dan kamera.

Adapaun bahan-bahan yang digunakan dalam proses penelitian ini antara lain, sampel ulat *P. xylostella* dari daerah Krajan, Pujon Kidul yang telah terkontaminasi pestisida, pestisida berbahan aktif profenofos, larutan saline, alkohol 96%, alkohol 75%, larutan klorox 2%, Nutrient Agar (NA) instant, plastik petromax, kapas steril, tissue steril, aluminium foil, plastik wrap, kertas label, kertas Wattman, agar, aquades steril, KOH 3%, kristal violet, malacid green, iodine, safranin, NaCl, spirtus, media Oksidatif-Fermentatif, tanaman tembakau, dan minyak imersi.

#### 3.3 Metode Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini dilakukan melalui beberapa tahapan. Berikut ini merupakan tahapan-tahapan yang dilakukan dalam proses penelitian, yaitu :

##### **Pengambilan Sampel *P. xylostella* di Krajan, Pujon Kidul**

Penelitian dilakukan dengan pengambilan sampel ulat (*P. xylostella*) yang telah terkontaminasi pestisida pada lahan Kubis, di daerah Krajan, Pujon Kidul, Malang, Jawa Timur. Metode pengambilan sampel *P. xylostella* dilakukan secara acak tanpa memandang jenis kelamin dan metode tersebut mengacu pada jurnal penelitian Xia *et al.* (2013), pengambilan sampel *P. xylostella* dilakukan dalam

satu hari. Pemilihan sampel dilakukan berdasarkan ukuran ulat yang telah memasuki instar-3.

#### **Isolasi Bakteri pada Midgut *P. xylostella***

Sampel *P. xylostella* yang telah dipilih, selanjutnya dilakukan pembedahan mengacu pada penelitian Dwismar (2013) dengan membuang bagian kepala dan ekor kemudian bagian organ dalam (usus) di tarik keluar dengan menggunakan pinset. Pembedahan dilakukan guna mendapatkan bagian *midgut* (usus bagian tengah) yang terdapat pada bagian abdomen pada *P. xylostella*. Isolasi bakteri dilakukan dengan menggunakan metode *dilution plate* atau pengenceran betingkat. Sampel *midgut P. xylostella* yang didapatkan dikumpulkan serta diencerkan dengan larutan saline sebanyak 1000  $\mu$ l yang dimasukkan pada tabung reaksi dan selanjutnya di *shake* hingga homogen. Setelah itu, suspensi yang telah homogen diambil sebanyak 100  $\mu$ l dengan menggunakan mikropipet dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang bersisi 900  $\mu$ l larutan salin. Proses pengenceran tersebut dilakukan dari tingkat  $10^{-1}$  sampai dengan  $10^{-10}$ . Selanjutnya, pengenceran pada tingkat  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-9}$  dan  $10^{-10}$  suspensi diambil masing-masing 100  $\mu$ l dengan menggunakan mikropipet dan kemudian diteteskan pada media Nutrient Agar (NA) yang telah disiapkan dan diratakan menggunakan stick L selanjutnya diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu  $\pm 28^{\circ}$ C. Setiap bakteri yang tumbuh pada tiap tingkat pengenceran, dipilih yang terbaik dalam skala bentuk serta kerapatan pada tiap bakteri. Koloni bakteri yang tumbuh selanjutnya akan dilakukan purifikasi hingga didapatkan koloni tunggal bakteri.

#### **Seleksi Bakteri pada Midgut *P. xylostella***

Tahapan seleksi bakteri dilakukan dengan cara menguji kemampuan hidup bakteri pada media *Nutrient Agar* (NA) tercemar yang mengandung insektisida berbahan aktif profenofos. Pengujian dilakukan pada bakteri hasil eksplorasi yang kemudian ditumbuhkan pada 1000 ml media *Nutrient Agar* (NA) yang telah tercampur insektisida profenofos dengan dosis rekomendasi 1,5 ml/L. Penumbuhan bakteri dilakukan dengan metode streak plate 1 kuadran pada setiap cawan petri yang telah terisi NA+profenofos. Bakteri yang telah ditumbuhkan di inkubasi selama 24-48 jam. Pengujian dilanjutkan pada bakteri yang mampu tumbuh serta bertahan hidup pada media NA+profenofos.

### Uji Hipersensitif

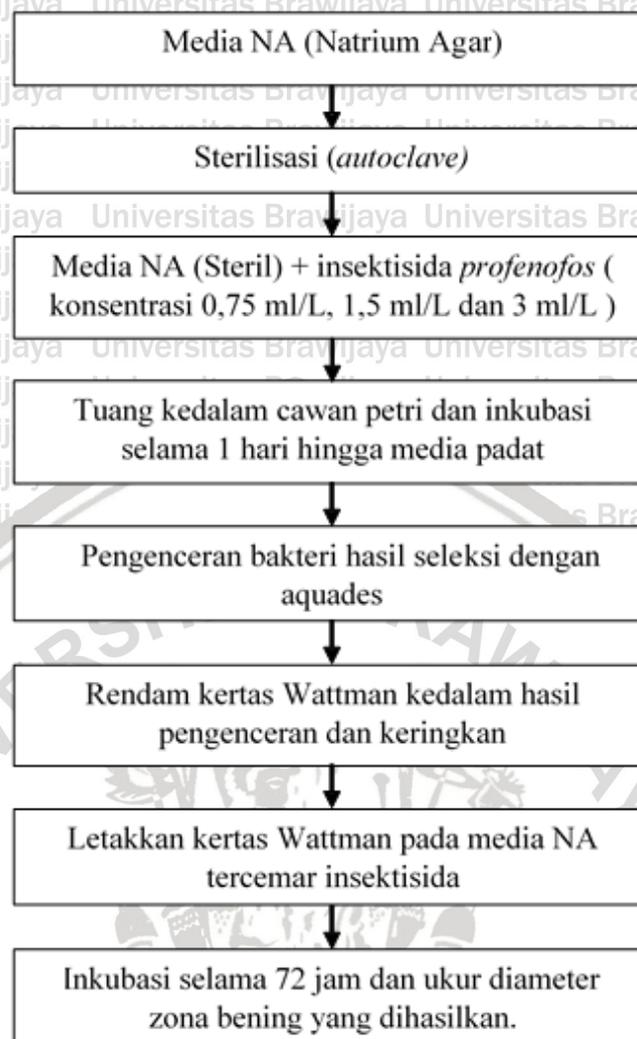
Pengujian hipersensitif merupakan pengujian yang bertujuan untuk mengetahui bakteri hasil seleksi yang telah didapat termasuk golongan patogen terhadap tanaman atau tidak. Pengujian hipersensitif dilakukan dengan menggunakan tanaman tembakau yang minimal telah berusia 3 bulan. Pengujian diawali dengan pengambilan bakteri yang telah terseleksi sebanyak 3 ose dilarutkan pada 1 ml aquades kemudian di homogenkan. Selanjutnya tanaman tembakau dilukai pada bagian permukaan daun dengan menggunakan jarum suntik dan memasukan suspensi bakteri yang telah dilarutkan pada bagian tersebut. Pengamatan pengujian hipersensitif dilakukan selama 24-72 jam setelah perlakuan dilakukan. Terdapat 2 reaksi yang ditimbulkan pada pengujian hipersensitif, antara lain a). Reaksi positif dan b). Reaksi negatif. Reaksi positif ditunjukan pada bagian daun tembakau yang telah diberi perlakuan mengalami nekrosis, hal tersebut menunjukan bahwa suspensi bakteri yang diberikan termasuk dalam patogen. Sedangkan, pada reaksi negatif daun tembakau yang telah diberi perlakuan tidak terjadi nekrosis. Selanjutnya pengujian dilakukan pada bakteri hasil seleksi yang bereaksi negatif.

### Uji Biodegradasi Insektisida Berbahan Aktif Profenofos.

Uji biodegradasi menggunakan metode penelitian rancangan acak lengkap (RAL) dengan perlakuan berdasarkan 14 isolat bakteri yang telah didapat dan terseleksi dengan 4 ulangan. Pada uji biodegradasi digunakan 1 kontrol positif, yaitu dengan pemberian kertas wattman yang telah di rendam aquades tanpa pemberian isolat bakteri di letakkan pada media uji yang telah ditambahkan insektisida pada tiap konsentrasi pengujian.

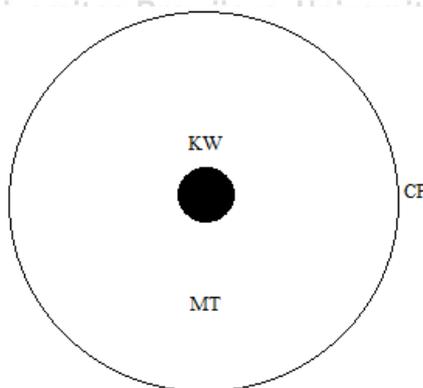
Pengujian dilakukan dengan memodifikasi metode Borkas (2018). Persiapan media pengujian dengan menyiapkan larutan NA ditambahkan dengan insektisida profenofos dengan konsentrasi 0,75 ml/L, 1,5 ml/L dan 3 ml/L kemudian di homogenkan dan di sterilisasi menggunakan *autoclave type* HL – 36 Ae Hirayama. Media yang telah homogen dan steril kemudian dituang kedalam cawan petri di inkubasi selama 1 hari hingga media padat.

Berikut merupakan kerangka operasional pelaksanaan uji biodegradasi insektisida profenofos (Gambar 5):



Gambar 5. Kerangka operasional uji biodegradasi insektisida profenofos.

Selanjutnya bakteri hasil seleksi yang telah di tumbuhkan pada media NA, diencerkan pada aquades dengan perbandingan 3 ose : 5 ml aquades. Kertas Wattman berdiameter 0,5 yang telah disiapkan kemudian di rendam pada hasil pengenceran selama  $\pm 30$  menit dan selanjutnya di kering anginkan selama  $\pm 10$  menit. Kemudian kertas Wattman yang telah kering diletakkan di tengah cawan petri berdiameter 9 cm yang telah terisi media tercemar insektisida profenofos (Gambar 6). Inkubasi pada suhu ruangan dan diamati selama 72 jam dengan mengukur diamter zona bening yang dihasilkan oleh isolat bakteri. Menurut Akhdiya *et al.* (2018) Zona bening pada sekitar koloni bakteri menunjukkan adanya aktivitas degradasi oleh sel bakteri dalam koloni.



Gambar 6. Modifikasi uji biodegradasi insektisida profenofos (KW adalah kertas Wattman, MT adalah media tercemar dan CP adalah cawan petri)

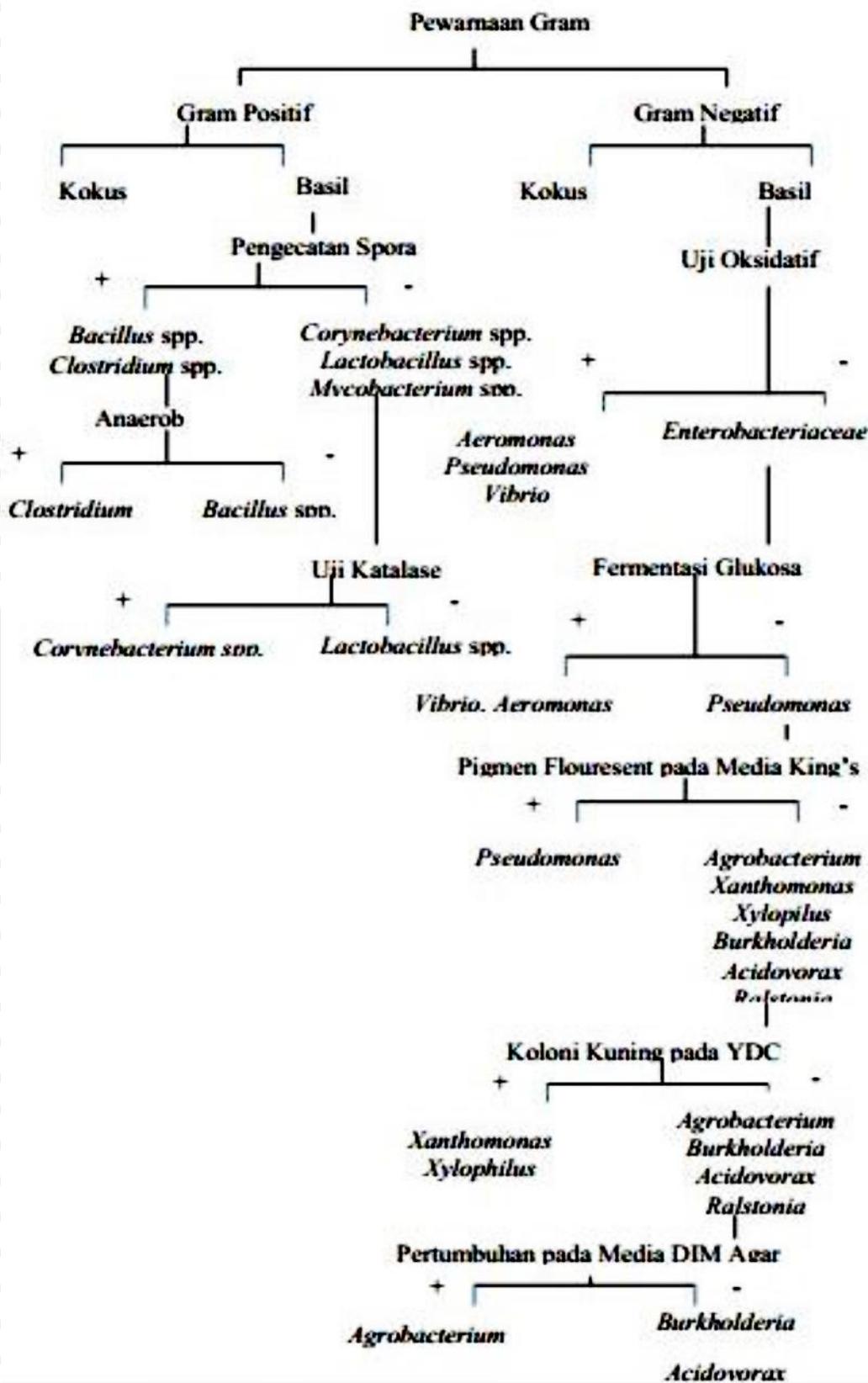
### Variabel Pengamatan

Parameter pengamatan uji biodegradasi adalah diameter zona bening yang dihasilkan isolat bakteri. Pengukuran diameter zona bening di media tercemar insektisida profenofos dilakukan untuk melihat hasil degradasi yang dilakukan. Semakin besar hasil degradasi insektisida profenofos akan berbanding lurus dengan diameter zona bening yang dihasilkan.

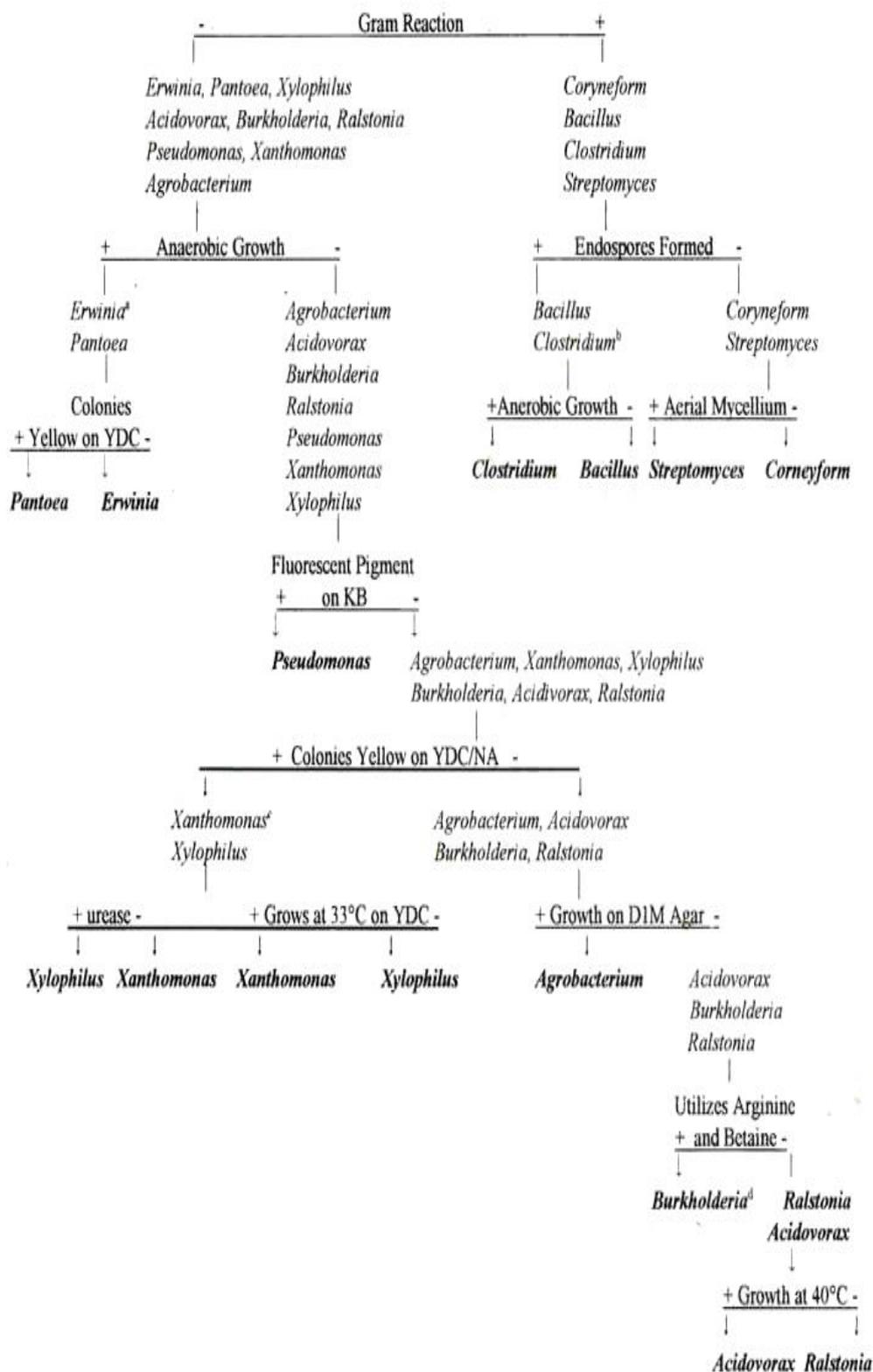
### Identifikasi Bakteri Symbion pada *Midgut P. xylostella*

Setelah melalui berbagai tahapan pengujian, selanjutnya isolat bakteri hasil seleksi yang telah terpilih diidentifikasi secara morfologi dan fisiologi. Identifikasi secara morfologi meliputi bentuk, tepi, warna serta bertuk permukaan koloni. Kemudian dari hasil identifikasi disesuaikan dengan literatur pendukung yang sudah ada. Selanjutnya, proses identifikasi secara fisiologis dilakukan dengan menentukan sifat-sifat fisiologi bakteri hasil seleksi. Genus pada tiap bakteri hasil seleksi dapat ditentukan berdasarkan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt *et al.*, 1994) dan Schaad *et al.* (2001).

Berikut merupakan beberapa metode yang digunakan dalam penentuan genus, antara lain:



Gambar 7. Bagan alir identifikasi bakteri hingga tingkat genus (*Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*) (Holt et al., 1994).



Gambar 8. Bagan alir identifikasi bakteri hingga tingkat genus (Schaad *et al.*, 2001)

### 1. Uji Gram

Pengujian gram dilakukan dengan menggunakan bakteri yang telah di tumbuhkan selama 24 jam. Bakteri diambil sebanyak satu ose dan di tambahkan aquades steril kemudian diletakkan diatas object glass steril lalu dikeringkan dengan api bunsen. Setelah kering, dilanjutkan pengecatan dengan *kristal violet* sebanyak satu tetes dan didiamkan selama satu menit, kemudian dibilas dengan air mengalir dan dikering anginkan dengan api bunsen. Selanjutnya object glass di bersihkan dengan alkohol 70% dan di diamkan satu menit, kemudian dibilas dengan air mengalir dan di kering anginkan kembali dengan api bunsen. Tahapan selanjutnya, pengecatan dengan satu tetes *safranin* kemudian di diamkan selama satu menit, lalu dibilas dengan air mengalir dan dikering anginkan. Proses pengamatan object glass menggunakan mikroskop dengan berikan satu tetes minyak imersi untuk memperjelas hasil pengamatan. Gram negatif akan menunjukkan warna merah, sedangkan gram positif akan menunjukkan warna biru atau biru keunguan.

### 2. Uji Kelarutan KOH 3%

Proses pengujian KOH 3% menggunakan bakteri murni yang telah di tumbuhkan selama 24 jam. Bakteri diambil sebanyak satu ose di suspensikan di atas object glass, kemudian diberikan larutan KOH 3% yang telah dicampurkan dengan aquades steril sebanyak satu tetes. Selanjutnya, hasil suspensi tersebut di aduk memutar dan di tarik ke atas dengan menggunakan jarum ose. Apabila membentuk benang lendir, maka hasil yang diperoleh adalah negatif dan sebaliknya, apabila tidak membentuk benang lendir, maka hasil yang diperoleh positif.

### 3. Uji Katalase

Proses pengujian katalase menggunakan bakteri murni yang ditumbuhkan pada media selama 24 jam. Bakteri diambil sebanyak satu ose di suspensikan di atas object glass, kemudian diberikan larutan hidrogen perosida ( $H_2O_2$ ) sebanyak satu tetes. Hasil yang diberikan apabila suspensi bakteri membentuk gelembung udara, maka hasil yang diperoleh positif dan sebaliknya, apabila tidak membentuk gelembung udara, maka hasil yang diperoleh negatif.

#### 4. Pewarnaan Spora

Proses pewarnaan spora bakteri dilakukan pada bakteri yang telah di tumbuhkan selama 24-48 jam. Langkah pertama, bakteri diambil satu ose kemudian di oleskan pada object glass steril dan diberikan satu tetes aquades, lalu di kering anginkan dengan menggunakan api bunsen. Setelah bakteri mengering kemudian di berikan satu tetes cairan *malachite green* 5% dan di diamkan selama 10 menit. Selanjutnya object glass di bilas dengan aquades, lalu di kering anginkan dengan api bunsen. Setelah kering, object glass di berikan satu tetes *safranin* selama 15 detik., lalu bilas dan kering anginkan dengan api bunsen.

Pengamatan dilakukan dengan mikroskop perbesaran 400x, dengan memberikan hasil apabila bakteri menghasil spora akan menunjukkan warna hijau, dan apabila tidak menghasilkan spora sel bakteri hanya akan menunjukkan warna merah.

#### 5. Uji Oksidatif Fermentatif

Pengujian dilakukan dengan menumbuhkan bakteri hasil seleksi pada media fermentasi glukosa dengan pH 7-7,1 dalam tabung reaksi. Komposisi media fermentasi glukosa terdiri dari pepton 2 gram, NaCl 5 gram, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,3 gram, agar 3 gram dan Bromthymoblue (1%) 3 ml. Bahan-bahan tersebut dicampur dan dilarutkan kedalam 1 liter aquades steril lalu di sterilkan menggunakan *autoclave type* HL – 36 Ae Hirayama. Penambahan 0,5 ml larutan glukosa 10% secara aseptis dengan micropipet pada setiap tabung. Selanjutnya, setiap biakan bakteri murni berumur 24 jam di tusukkan pada 2 tabung reaksi yang telah terisi media padat Oksidatif Fermentatif dengan perlakuan salah satu tabung reaksi ditutup dengan parafin dan inkubasi selama 7-14 hari. Hasil yang akan diperoleh, jika terjadi perubahan warna media menjadi kuning pada tabung reaksi yang tidak ditutup parafin maka reaksi bersifat oksidatif. Jika perubahan warna media terjadi pada kedua tabung reaksi maka reaksi bersifat fermentatif.

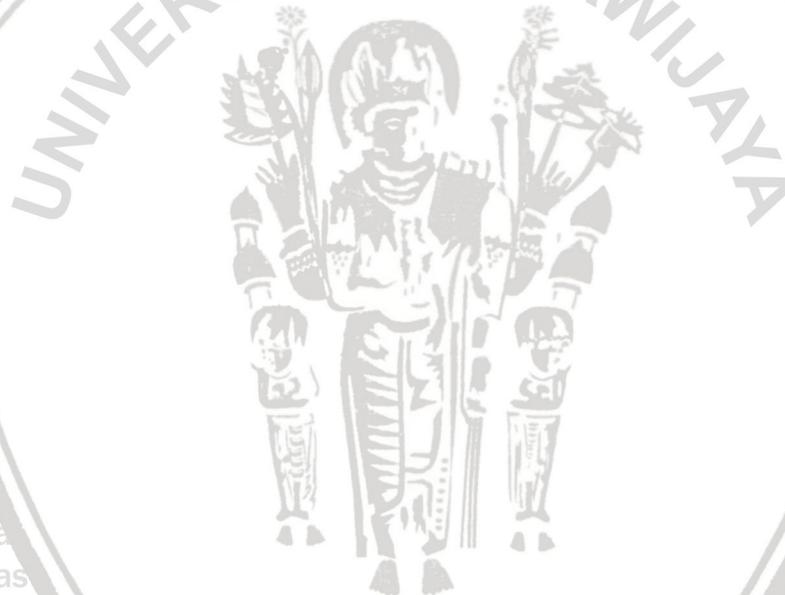
#### 6. Uji Pertumbuhan Media YDC

Pengujian dilakukan dengan menumbuhkan bakteri pada media YDC. Komposisi media YDC terdiri dari yeast 10 gram, glukosa 20 gram, CaCo<sub>3</sub> 20 gram dan agar 15 gram. Seluruh bahan dicampur dan dilarutkan dengan 1 liter aquades steril lalu di sterilkan menggunakan *autoclave type* HL – 36 Ae Hirayama. Media YDC steril kemudian dituang dalam cawan petri dan diinkubasi

selama 1 hari hingga media menjadi padat. Selanjutnya, setiap biakan bakteri murni berumur 24 jam ditumbuhkan pada media YDC dengan metode streak plate. Hasil yang diperoleh, jika bakteri yang ditumbuhkan menghasilkan koloni berwarna kuning maka reaksi yang dihasilkan positif. Jika bakteri yang ditumbuhkan menghasilkan koloni berwarna putih maka reaksi yang dihasilkan negatif.

### 3.4 Analisis Data

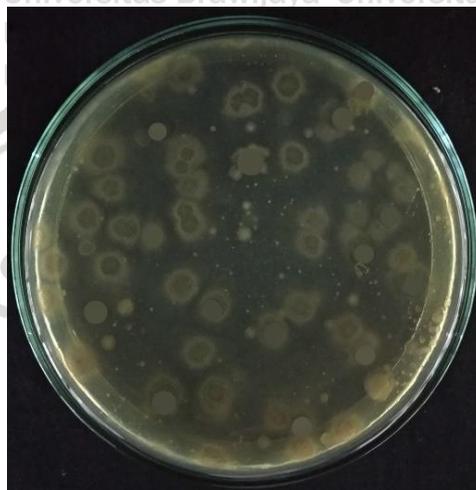
Data yang diperoleh dari uji adaptasi dan uji degradasi dianalisis menggunakan analisis ragam dan apabila terdapat perbedaan nyata, maka akan dilanjutkan dengan uji Duncan (DMRT) dengan taraf kesalahan 5%. Analisis data diolah menggunakan aplikasi SPSS Statistics 20.



## IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1. Isolasi Bakteri pada *Midgut P. xylostella*

Hasil isolasi yang telah di dapat dari bagian *midgut P. xylostella* berjumlah 14 isolat bakteri (Gambar 9). Pengambilan isolat dilakukan dengan metode pengenceran bertingkat. Pengenceran dilakukan pada tingkat  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-9}$  dan  $10^{-10}$  kemudian hasil pengenceran di tumbuhkan pada media NA.



Gambar 9. Hasil isolasi bakteri.

Keterangan: Pengenceran  $10^7$  setelah 48 jam.

*P. xylostella* merupakan hama utama pada tanaman kubis yang sulit untuk dikendalikan. Berbagai macam pestisida telah di hasilkan guna mengendalikan hama tersebut, namun tingkat resistensi yang tinggi serta kemampuan *P. xylostella* dalam mendegradasi bahan aktif pestisida yang telah di aplikasikan sangat cepat sehingga perlu perlakuan lebih lanjut dalam mengendalikan hama tersebut.

Mikroorganisme yang bersimbiosis dengan *P. xylostella* diperkirakan mampu membantu mendegradasi bahan aktif pestisida yang diaplikasikan. Menurut Antriana (2014), keberadaan *Flavobacterium* dan *Enterobacter* dalam usus rayap memiliki interaksi yang saling menguntungkan, rayap memberikan perlindungan bagi mikroorganisme, sedangkan *Flavobacterium* dan *Enterobacter* menyumbang enzim selulase bagi pencernaan rayap. Keberadaan bakteri pada setiap ekosistem, bertanggung jawab dalam mendaur ulang unsur serta elemen esensial. Sehingga terdapat potensi bakteri dalam mendegradasi bahan aktif pestisida.

### 4.2 Seleksi Bakteri pada Midgut *P. xylostella*

Seleksi dilakukan dengan menumbuhkan 14 isolat yang di dapat pada media NA yang mengandung pestisida berbahan aktif profenofos dengan konsentrasi 1,5 ml/L. Selanjutnya isolat di inkubasi selama 24-48 jam dengan suhu ruang. Pada isolat bakteri yang diseleksi, di dapatkan seluruh isolat bakteri mampu hidup pada media NA yang tercemar pestisida berbahan aktif profenofos.

Hasil seleksi bakteri pada bagian midgut *P. xylostella* dapat dilihat pada (Tabel 2).

Tabel 2. Hasil seleksi bakteri yang mampu hidup dalam media NA + profenofos

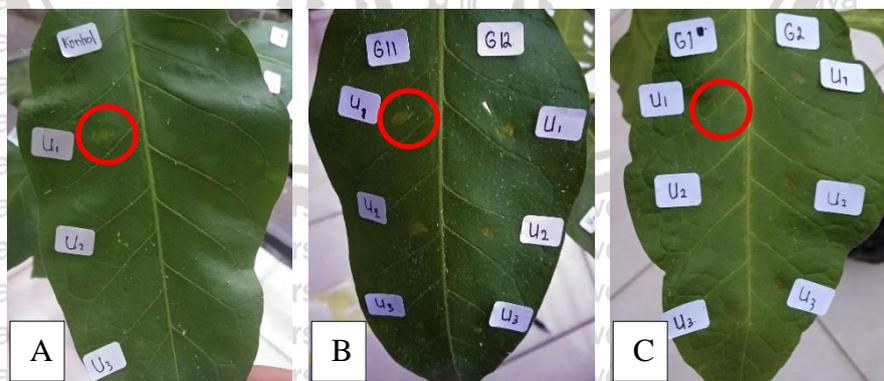
Kode Isolat	Hasil Seleksi	Kode Isolat	Hasil Seleksi
G1	+	G8	+
G2	+	G9	+
G3	+	G10	+
G4	+	G11	+
G5	+	G12	+
G6	+	G13	+
G7	+	G14	+

Keterangan: (+) mampu tumbuh, (-) tidak mampu tumbuh.

### 4.3 Uji Hipersensitif

Pengujian hipersensitif dilakukan dengan menginfiltrasi suspensi bakteri pada daun tanaman tembakau. Terlihat hasil uji hipersensitif pada 14 isolat setelah 48 jam menunjukkan 4 isolat bakteri mengalami gejala nekrosis yang menyebabkan perubahan warna pada daun tembakau menjadi berwarna kuning.

Hasil tersebut berbeda dengan perlakuan kontrol dengan aquades steril yang tidak menimbulkan gejala nekrosis (Gambar 10).



Gambar 10. Hasil uji hipersensitif.

Keterangan: (A). Perlakuan kontrol, (B). Reaksi positif uji hipersensitif isolat G11 dan G12, (C). Reaksi negatif uji hipersensitif isolat G1 dan G2.

Berdasarkan hasil uji hipersensitif menunjukkan hasil dari 14 isolat bakteri terdapat 10 isolat bakteri yaitu isolat G1, G2, G3, G4, G5, G6, G7, G8, G9 dan G10 yang bukan termasuk bakteri patogen dan 4 isolat bakteri yaitu G11, G12, G13 dan G14 berpotensi sebagai bakteri patogen pada tanaman. Reaksi positif uji hipersensitif ditunjukkan dengan munculnya gejala nekrosis pada bagian daun tanaman tembakau yang diinokulasi suspensi bakteri. Sedangkan reaksi negatif apabila pada bagian daun tanaman tembakau yang telah diinokulasi suspensi bakteri tidak menimbulkan gejala nekrosis. Menurut Masnilah *et al.* (2013), reaksi positif hipersensitif memberikan kesimpulan isolat bakteri yang diuji merupakan patogen tanaman. Infiltrasi suspensi bakteri *Xanthomonas oryzae pv. oryzae* (Xoo) pada daun tanaman tembakau menimbulkan gejala nekrosis yang ditandai dengan munculnya bercak kuning kecoklatan pada bagian daun tembakau. Menurut Zuraidah (2013), reaksi nekrosis pada uji hipersensitif merupakan proses kematian sel yang cepat.

#### 4.4 Uji Biodegradasi Insektisida Bahan Aktif Profenofos

Hasil pengujian uji biodegradasi insektisida berbahan aktif profenofos pada 14 isolat dengan ulangan sebanyak 4 kali pada 3 konsentrasi yang berbeda yaitu 0,75 ml/L, 1,5 ml/L dan 3 ml/L. Berdasarkan hasil analisis ragam (ANOVA) dengan taraf kesalahan 5% didapatkan hasil bahwa perlakuan memberikan pengaruh yang berbeda nyata. Hal ini menunjukkan adanya pengaruh dari perlakuan terhadap hasil rerata diameter zona bening yang dihasilkan tiap isolat bakteri. Hasil pengamatan yang telah dilakukan selama 72 jam pada uji biodegradasi terhadap 3 konsentrasi insektisida profenofos menunjukkan bahwa semua isolat dapat tumbuh dalam media yang tercemar profenofos, namun tidak semua isolat mampu mendegradasi insektisida tersebut (Tabel 3). Kemampuan tiap isolat bakteri dalam mendegradasi insektisida dilihat dari munculnya zona bening pada perlakuan uji (Tabel 4).

Tabel 3. Pengujian biodegradasi insektisida profenofos.

Keterangan : (+) apabila isolat bakteri mampu tumbuh pada media tercemar, sedangkan (-) apabila

Perlakuan	Pengujian biodegradasi insektisida profenofos		
	Konsentrasi 0,75 ml/L	Konsentrasi 1,5 ml/L	Konsentrasi 3 ml/L
Kontrol	-	-	-
G1	+	+	+
G2	+	+	+
G3	+	+	+
G4	+	+	+
G5	+	+	+
G6	+	+	+
G7	+	+	+
G8	+	+	+
G9	+	+	+
G10	+	+	+
G11	+	+	+
G12	+	+	+
G13	+	+	+
G14	+	+	+

isolat bakteri tidak mampu tumbuh.

Tabel 4. Rerata diameter zona bening pada uji degradasi insektisida profenofos.

Perlakuan	Rerata diameter zona bening pada pengamatan 24-72 jam (cm)								
	Konsentrasi 0,75 ml/L			Konsentrasi 1,5 ml/L			Konsentrasi 3 ml/L		
	24 jam	48 jam	72 jam	24 jam	48 jam	72 jam	24 jam	48 jam	72 jam
Kontrol	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0	0 a	0 a	0 a
G8	0 a	1,48 b	1,81 b	0 a	1,40 b	1,82 b	0 a	0 a	1,38 b
G9	0 a	1,56 b	1,95 c	0 a	1,42 b	1,86 c	0 a	0 a	1,67 c

Keterangan : Angka yang diikuti dengan huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan hasil tidak berbeda nyata berdasarkan uji Duncan taraf kesalahan 5%. Data telah ditransformasi menggunakan  $\sqrt{x + 0,5}$  untk keperluan analisis data.

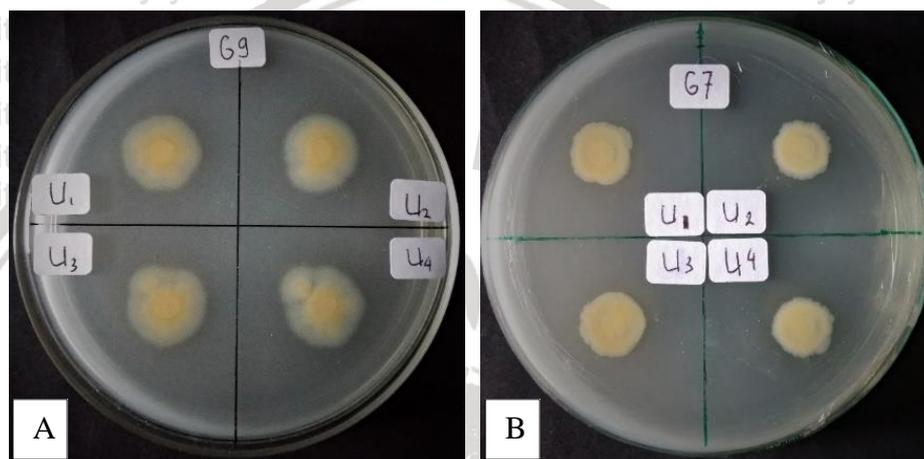
Pada perlakuan kontrol, setiap media tercemar pada tiap konsentrasi diberikan kertas wattman yang direndam aquades tanpa pemberian isolat bakteri.

Pada pengamatan 24-72 jam konsentrasi insektisida 0,75 ml/L munculnya zona bening terjadi pada pengamatan 48 jam dengan hasil rerata diameter isolat G8 sebesar 1,48 cm dan isolat G9 sebesar 1,56 cm. Selanjutnya pada pengamatan 72 jam isolat G8 memberikan hasil rerata diameter zona bening sebesar 1,81 cm dan isolat G9 memberikan hasil rerata diameter zona bening 1,95 cm. Pengamatan pada konsentrasi insektisida 1,5 ml/L, isolat G8 menghasilkan rerata diameter zona bening sebesar 1,40 cm dan isolat G9 sebesar 1,42 pada pengamatan 48 jam.

Sedangkan pada pengamatan 72 jam terjadi peningkatan rerata diameter zona bening pada isolat G8 sebesar 1,82 cm dan isolat G9 1,86 cm. Selanjutnya pada konsentrasi insektisida 3 ml/L hasil pengamatan 24-48 jam tidak menunjukan



hasil zona bening, namun bakteri yang diaplikasikan tetap mampu hidup. Pada pengamatan 72 jam isolat G8 mampu menghasilkan rerata zona bening sebesar 1,38 cm dan isolat G9 sebesar 1,67 cm. Sedangkan pada isolat G1, G2, G3, G4, G5, G6, G7, G9, G10, G11, G12, G13 dan G14 hanya mampu tumbuh di media yang tercemar pada tiap konsentrasi perlakuan namun tidak mampu mendegradasi media tersebut. Hal tersebut membuat isolat G8 dan G9 menunjukkan hasil yang berbeda nyata pada setiap konsentrasi insektisida dari perlakuan kontrol (Gambar 11).



Gambar 11. Hasil uji biodegradasi.

Keterangan: (A). Isolat G9 dapat menghasilkan zona bening dan (B). Isolat G7 tidak dapat menghasilkan zona bening.

Berdasarkan hasil uji biodegradasi diperoleh 2 isolat terbaik yang diduga mampu mendegradasi insektisida profenofos pada setiap perlakuan konsentrasi, yaitu isolat G8 dan G9. Hasil identifikasi bakteri pada bagian *midgut* hama *P. xylostella* isolat G8 dan G9 merupakan bakteri dari genus *Pantoea* sp. Menurut Zaenuri (2018), *Pantoea* sp. sudah dimanfaatkan dalam keperluan industri, biodegradasi dan remediasi pada beberapa herbisida dan zat beracun lainnya.

Menurut Sulaeman (2016), ditemukan 6 isolat bakteri yang mampu mendegradasi insektisida klorpirifos, yaitu bakteri *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp., *Enterobacter* sp. (*Pantoea* sp.), *Citobacter* sp., *Azotobacter* sp. dan *Azospirillum* sp. Bakteri *Pantoea* sp. juga merupakan mikroorganisme yang resisten terhadap kontaminasi logam berat dan mempunyai kemampuan untuk mereduksi Cr(VI) menjadi Cr(III) (Fatmawati, 2010). Menurut Obratsova *et al.* (2002) *Pantoea* sp. dapat mereduksi Cr(VI) 150 ppm secara optimal, dengan penambahan sulfat ( $SO_4^{2-}$ ) pada waktu 20 jam. Pemanfaatan bakteri *pantoea* sp. galur C9-1 (Actigard 50

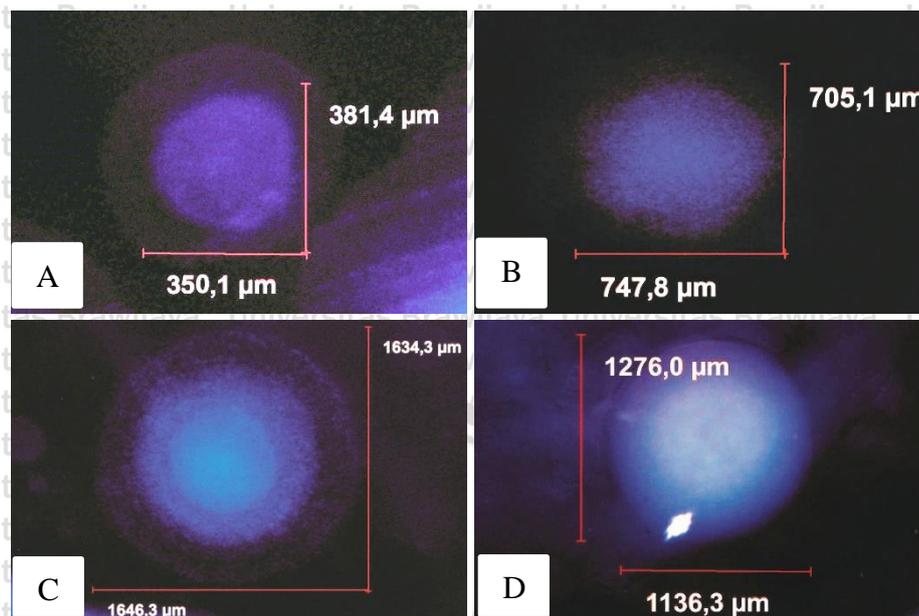
WP) juga dilakukan dalam mengendalikan hawar daun pada bawang merah. Pada patogen tanaman tebu, *pantoea* sp. memberikan pengaruh detoksifikasi albicidin pada patogen *X. albilineans* (Zhang dan Birch, 1997).

#### 4.5 Karakterisasi Bakteri Simbion pada Midgut *P. xylostella*

Sebanyak 14 isolat bakteri yang telah diperoleh dari isolasi dan seleksi pada media tercemar, selanjutnya diidentifikasi hingga tahap genus. Karakterisasi bakteri merupakan tahapan dalam indentifikasi bakteri hasil seleksi. Karakterisasi dilakukan melalui beberapa tahapan, antara lain : a). Karakterisasi Morfologi, b). Karakterisasi Fisiologi dan Biokimia. Karakterisasi morfologi dilakukan mencakup bentuk koloni tunggal bakteri, warna, tepi, elevasi dan mukoid. Sedangkan dalam uji karakterisasi fisiologi dan biokimia berpedoman berdasarkan metode identifikasi menurut *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt *et al.*, 1994) dan Schaad *et al.* (2001) yang meliputi pengujian gram, pengujian KOH 3%, pengujian katalase, pengecatan endospora, uji oksidatif-fermentatif dan pengujian pertumbuhan pada media YDC.

##### 4.5.1 Karakterisasi Morfologi

Karakterisasi morfologi bakteri dapat dilakukan dengan melihat dari karakterisasi koloni tunggal bakteri pada media NA. Bakteri yang akan diamati, ditumbuhkan pada media NA dengan metode streak tunggal dalam umur 24 jam. Pengamatan yang diamati meliputi bentuk, warna, tepi, elevasi dan adanya mukoid atau tidak. Hasil pengamatan pada 14 isolat bakteri menunjukkan bahwa semua isolat bakteri berbentuk bulat (Gambar 12). Pada isolat bakteri G1, G2, G5, G7, G11 dan G12 memiliki warna koloni bakteri putih keruh. Pada isolat bakteri G3, G4, G8 dan G9 memiliki warna koloni bakteri putih bening. Pada isolat bakteri G6, G10, G13 dan G14 memiliki warna koloni bakteri putih susu. Berdasarkan ciri mukoidnya 11 isolat bakteri memiliki ciri mukoid atau berlendir, sedangkan 3 isolat bakteri yaitu G10, G13 dan G14 memiliki ciri tidak mukoid atau tidak berlendir. Tepian dari 14 isolat bakteri memiliki bentuk rata, sedangkan bentuk elevasi permukaan koloni bakteri yaitu cembung.



Gambar 12. Bentuk koloni tunggal bakteri

Keterangan: (A). Isolat G2, (B). Isolat G7, (C). Isolat G3 dan (D). Isolat G10

Berdasarkan hasil pengamatan morfologi koloni tunggal bakteri, didapatkan hasil yang tidak jauh berbeda pada bentuk, tepian dan elevasi. Perbedaan terlihat pada karakteristik warna dan mukoid. Ciri-ciri isolat bakteri yang memiliki bentuk bulat, elevasi cembung dan tepian rata menunjukkan morfologi bakteri gram negatif. Berikut hasil karakterisasi secara morfologi pada 14 isolat bakteri simbiosis pada *midgut P. xylostella* dapat dilihat pada (Tabel 5).

#### 4.5.2 Karakterisasi Fisiologi dan Biokimia

Pengujian secara fisiologi dan biokimia dapat dilihat berdasarkan metode identifikasi menurut *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt *et al.*, 1994) dan Schaad *et al.* (2001). Tahapan yang dilakukan pengujian secara fisiologi dan biokimia terdiri dari pengujian gram, pengujian KOH 3%, pengujian katalase, pengecatan endospora, uji oksidatif-fermentatif dan pengujian pertumbuhan pada media YDC. Isolat bakteri yang mempunyai gram negatif tidak akan melewati pengujian pengecatan endospora dan uji katalase, sedangkan untuk bakteri gram positif akan melewati pengujian pengecatan endospora dan uji katalase. Hasil pengujian fisiologi dan biokimia dapat dilihat pada (Tabel 5).

Tabel 5. Hasil karakterisasi bakteri simbion *P.xylostella*

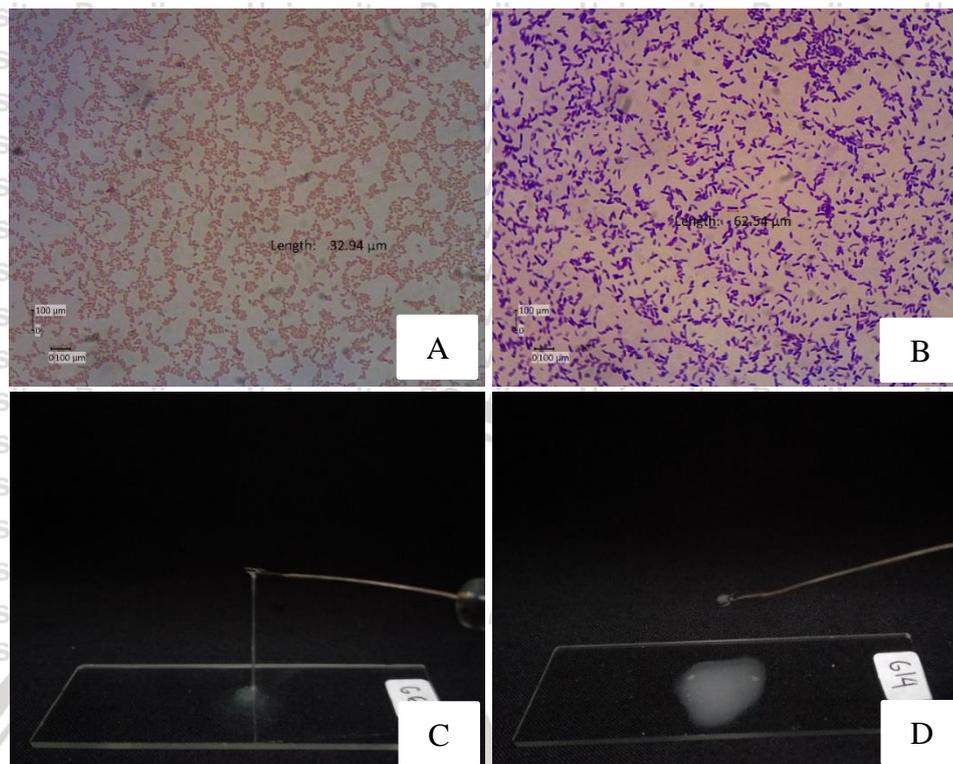
Kode Isolat	Bentuk	Karakterisasi Morfologi.				Karakterisasi Fisiologi dan Biokimia.						
		Eleveasi	Warna	Tepi	Bentuk Sel	Pewarnaan Gram	Uji KOH 3%	Uji Katalase	Endospora	Uji OF	Uji YDC	Genus
G1	Bulat	Cembung	Putih Keruh	Rata	Batang	Merah	Berlendir	TU	TU	Fermentatif	Kuning	<i>Pantoea</i> sp.
G2	Bulat	Cembung	Putih Keruh	Rata	Batang	Merah	Berlendir	TU	TU	Fermentatif	Putih	<i>Erwinia</i> sp.
G3	Bulat	Cembung	Putih Bening	Rata	Batang	Merah	Berlendir	TU	TU	Fermentatif	Kuning	<i>Pantoea</i> sp.
G4	Bulat	Cembung	Putih Bening	Rata	Batang	Biru	Tidak Berlendir	Positif	Negatif	TU	TU	<i>Coryneform</i> sp.
G5	Bulat	Cembung	Putih Keruh	Rata	Batang	Merah	Berlendir	TU	TU	Fermentatif	Kuning	<i>Pantoea</i> sp.
G6	Bulat	Cembung	Putih Susu	Rata	Batang	Merah	Berlendir	TU	TU	Fermentatif	Putih	<i>Erwinia</i> sp.
G7	Bulat	Cembung	Putih Keruh	Rata	Batang	Merah	Berlendir	TU	TU	Fermentatif	Putih	<i>Erwinia</i> sp.
G8	Bulat	Cembung	Putih Bening	Rata	Batang	Merah	Berlendir	TU	TU	Fermentatif	Kuning	<i>Pantoea</i> sp.
G9	Bulat	Cembung	Putih Bening	Rata	Batang	Merah	Berlendir	TU	TU	Fermentatif	Kuning	<i>Pantoea</i> sp.
G10	Bulat	Cembung	Putih Susu	Rata	Batang	Biru	Tidak Berlendir	Positif	Negatif	TU	TU	<i>Coryneform</i> sp.
G11	Bulat	Cembung	Putih Keruh	Rata	Batang	Merah	Berlendir	TU	TU	Fermentatif	Putih	<i>Erwinia</i> sp.
G12	Bulat	Cembung	Putih Keruh	Rata	Batang	Merah	Berlendir	TU	TU	Fermentatif	Kuning	<i>Pantoea</i> sp.
G13	Bulat	Cembung	Putih Susu	Rata	Batang	Biru	Tidak Berlendir	Positif	Negatif	TU	TU	<i>Coryneform</i> sp.
G14	Bulat	Cembung	Putih Susu	Rata	Batang	Biru	Tidak Berlendir	Positif	Negatif	TU	TU	<i>Coryneform</i> sp.

Keterangan: Karakterisasi morfologi, fisiologi dan biokimia bakteri simbion *P.xylostella*. (TU): Tidak Uji

## 1. Pengujian Gram

Uji pewarnaan gram dilakukan untuk mengetahui golongan gram negatif atau gram positif dari bakteri yang diuji. Berdasarkan hasil pewarnaan gram dari 14 isolat bakteri, terdapat 10 isolat bakteri dengan gram negatif ditunjukkan dengan bakteri berwarna merah pada saat pengamatan di bawah mikroskop dan 4 bakteri dengan gram positif ditunjukkan dengan hasil bakteri berwarna biru pada saat pengamatan di bawah mikroskop (Gambar 13). Menurut Schaad *et al.* (2001), bakteri gram negatif ditandai dengan warna merah atau merah muda, dikarenakan bakteri tersebut tidak dapat mengikat kristal violet yang diberikan dan hanya mampu mengikat *safranin*. Sedangkan untuk bakteri gram positif ditandai dengan warna biru keunguan, dikarenakan dapat mengikat larutan kristal violet yang diberikan. Selain untuk mengetahui golongan gram dari bakteri uji, pewarnaan gram juga dapat digunakan untuk mengetahui bentuk dan ukuran sel bakteri. Oleh karena itu, hasil pengujian gram dari 14 isolat bakteri mendapatkan hasil 10 isolat bakteri gram negatif, yaitu isolat G1, G2, G3, G5, G6, G7, G8, G9, G11, G12 dan 4 isolat bakteri gram positif, yaitu isolat G4, G10, G13, G14 dengan bentuk sel batang.

Uji gram dilanjutkan dengan pengujian KOH 3% dengan pemberian larutan Kalium Hidroksida 3% pada suspensi isolat bakteri. Berdasarkan hasil pengujian KOH 3% diketahui 10 isolat bakteri memberikan hasil adanya lendir saat di tarik dengan jarum ose dan 4 isolat bakteri memberikan hasil tidak adanya lendir saat di tarik jarum ose (Gambar 13). Isolat bakteri dari hasil pengujian KOH 3% yang membentuk lendir dan apabila diangkat dengan jarum ose setinggi 1 cm menghasilkan benang merupakan bakteri gram negatif (Masnilah *et al.*, 2013). Sebaliknya, bakteri yang tidak menghasilkan lendir, merupakan bakteri gram positif.

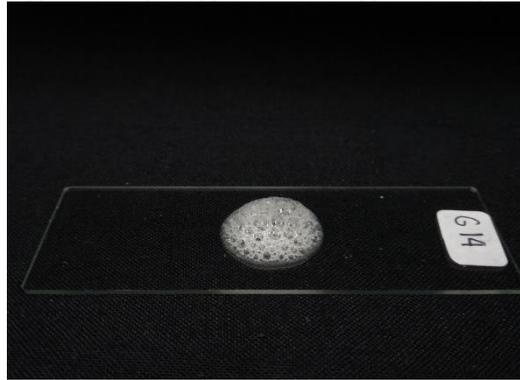


Gambar 13. Hasil pengecatan gram dan KOH 3%

Keterangan: (A). Uji pengecatan gram isolat G6 koloni bakteri berwarna merah termasuk gram negatif, (B). Uji pengecatan gram isolat G14 koloni bakteri berwarna biru termasuk gram positif, (C). Uji KOH 3% G6 terdapat lendir menunjukkan gram negatif dan (D). Uji KOH 3% tidak terdapat lendir menunjukkan gram positif.

## 2. Pengujian Katalase

Isolat bakteri gram positif dilanjutkan dengan pengujian katalase dengan meneteskan larutan hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) pada object glass yang telah diberikan suspensi isolat bakteri gram positif. Hasil positif pengujian katalase ditunjukkan pada 4 isolat bakteri, yaitu isolat G4, G10, G13 dan G14. Menurut Hadioetomo (1990), hasil positif pada pengujian katalase ditunjukkan dengan terbentuknya gelembung udara pada bakteri uji. Pembentukan gelembung udara pada hasil uji katalase merupakan bentuk dari enzim katalase yang mengkatalisasi penguraian  $H_2O_2$  menjadi  $H_2O$  dan  $O_2$  (Gambar 14).



Gambar 14. Hasil positif uji katalase isolat G14.

### 3. Pengujian Pewarnaan Spora

Pewarnaan spora dilakukan terhadap isolat bakteri gram positif yang ditemukan. Menurut Yusra (2014), pewarnaan spora dilakukan untuk mengetahui ada dan tidaknya spora dalam bakteri. Pengujian dilakukan dengan memberikan larutan *malachite green* 5% pada object glass yang telah diberikan suspensi isolat bakteri gram positif selama 10 menit dan dibilas dengan menggunakan aquades steril. Selanjutnya meneteskan larutan safranin selama 15 detik dan dibilas dengan aquades steril. Hasil yang ditunjukkan pada pengamatan mikroskop perbesaran 400x menyatakan bahwa semua isolat bakteri gram positif tidak menghasilkan spora (Gambar 15). Hal tersebut ditunjukkan dengan tidak terikatnya isolat bakteri terhadap larutan *malachite green* 5%. Menurut Ilham (2013), larutan *malachite green* 5% akan terikat dan mewarnai endospora menjadi hijau. Meskipun melewati tahap pembilasan, air tidak akan menembus dinding endospora sehingga akan tetap berwarna hijau (Lay, 1994). Dari hasil pengujian pewarnaan spora negatif dan pengujian katalase positif, ke-4 isolat bakteri gram positif termasuk dalam genus *Coryneform* apabila mengacu pada *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt *et al.*, 1994) dan Schaad *et al.* (2001).



Gambar 15. Hasil negatif uji pewarnaan spora isolat G13.

#### 4. Pengujian Oksidatif-Fermentatif

Pengujian oksidatif-fermentatif bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri melakukan respirasi (oksidatif) dan fermentatif karbohidrat. Pada 10 isolat bakteri gram negatif, menunjukkan bahwa semua isolat bakteri memiliki sifat fermentatif. Berdasarkan hasil pengujian anaerob semua isolat uji bersifat fakultatif anaerob (fermentatif), hal tersebut ditandai dengan adanya perubahan warna pada media tumbuh dari semula berwarna hijau kebiruan menjadi kuning pada media yang ditambahkan *water agar* maupun pada media yang tidak ditambahkan *water agar* (Gambar 16). Hasil pengujian anaerob dapat dikatakan fermentatif apabila terjadi perubahan warna pada semua media dari warna hijau menjadi kuning (Mustahal dan Waqiah, 2012)



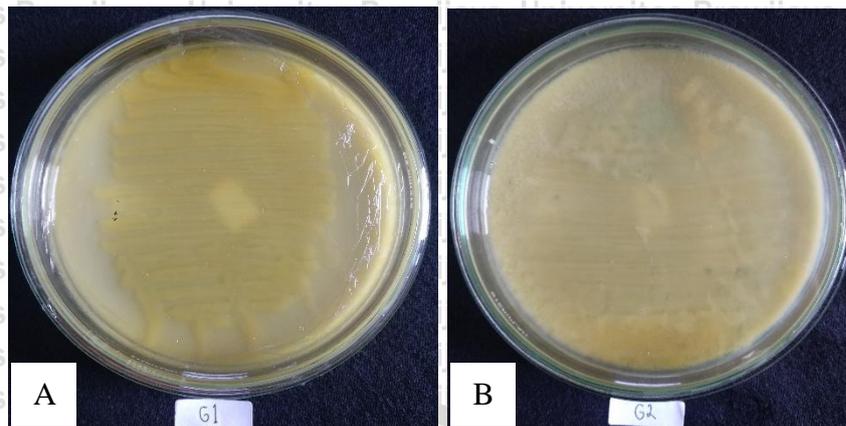
Gambar 16. Hasil positif uji oksidatif-fermentatif.

Keterangan: Isolat G1 bersifat fermentatif.

#### 5. Pengujian Pertumbuhan Media YDC

Pengujian pertumbuhan bakteri gram negatif pada media YDC merupakan pengklasifikasian untuk menentukan golongan genus *Erwinia* dan *Pantoea*.

Pertumbuhan isolat bakteri G2, G6, G7 dan G11 menghasilkan koloni bakteri berwarna putih (Gambar 17). Hal tersebut menunjukkan bahwa isolat bakteri G2, G6, G7 dan G11 dari genus *Erwinia*. Sedangkan pertumbuhan isolat bakteri G1, G3, G5, G8, G9 dan G12 menghasilkan koloni berwarna kuning (Gambar 16). Hal tersebut menunjukkan bahwa isolat bakteri G1, G3, G5, G8, G9 dan G12 dari genus *Pantoea*. Menurut Schaad *et al.* (2001) bakteri bersifat fermentatif yang ditumbuhkan pada media YDC menghasilkan koloni berwarna putih termasuk pada genus *Erwinia*, apabila menghasilkan koloni berwarna kuning termasuk pada genus *Pantoea*.



Gambar 17. Hasil pengujian media YDC

Keterangan: (A) Isolat G1 menghasilkan koloni berwarna kuning, (B) Isolat G2 menghasilkan koloni berwarna putih.

#### 4.5.3 Identifikasi Bakteri Simbion pada *Midgut P. xylostella*

Bakteri simbion *midgut P. xylostella* terpilih diidentifikasi secara morfologi, fisiologi dan biokimia hingga tingkatan genus berdasarkan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt *et al.*, 1994) dan Schaad *et al.* (2001), sebagai berikut :

##### a. Isolat G1

Bakteri isolat G1 memiliki ciri-ciri morfologi sebagai berikut : bentuk bulat, tepi rata, elevasi cembung, bersifat mukoid dan memiliki warna putih keruh. Hasil pengujian fisiologi dan biokimia menunjukkan reaksi gram negatif, berbentuk batang, bersifat fermentatif dan menunjukkan koloni berwarna kuning pada hasil pertumbuhan media YDC. Berdasarkan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt *et al.*, 1994) dan Schaad *et al.* (2001), isolat bakteri G1 termasuk dalam genus *Pantoea*.

##### b. Isolat G2

Bakteri isolat G2 memiliki ciri-ciri morfologi sebagai berikut: bentuk bulat, tepi rata, elevasi cembung, bersifat mukoid dan memiliki warna putih keruh. Hasil pengujian fisiologi dan biokimia menunjukkan reaksi gram negatif, berbentuk batang, bersifat fermentatif dan menunjukkan koloni berwarna putih pada hasil pertumbuhan media YDC. Berdasarkan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt *et al.*, 1994) dan Schaad *et al.* (2001), isolat bakteri G2 termasuk dalam genus *Erwinia*.

**c. Isolat G3**

Bakteri isolat G3 memiliki ciri-ciri morfologi sebagai berikut: bentuk bulat, tepi rata, elevasi cembung, bersifat mukoid dan memiliki warna putih bening.

Hasil pengujian fisiologi dan biokimia menunjukkan reaksi gram negatif, berbentuk batang, bersifat fermentatif dan menunjukkan koloni berwarna kuning pada hasil pertumbuhan media YDC. Berdasarkan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt *et al.*, 1994) dan Schaad *et al.* (2001), isolat bakteri G3 termasuk dalam genus *Pantoea*.

**d. Isolat G4**

Bakteri isolat G4 memiliki ciri-ciri morfologi sebagai berikut: bentuk bulat, tepi rata, elevasi cembung, bersifat mukoid dan memiliki warna putih bening.

Hasil pengujian fisiologi dan biokimia menunjukkan reaksi gram positif, berbentuk batang, positif uji katalase dan tidak menghasilkan spora. Berdasarkan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt *et al.*, 1994) dan Schaad *et al.* (2001), isolat bakteri G4 termasuk dalam genus *Coryneform*.

**e. Isolat G5**

Bakteri isolat G5 memiliki ciri-ciri morfologi sebagai berikut: bentuk bulat, tepi rata, elevasi cembung, bersifat mukoid dan memiliki warna putih keruh. Hasil pengujian fisiologi dan biokimia menunjukkan reaksi gram negatif, berbentuk batang, bersifat fermentatif dan menunjukkan koloni berwarna kuning pada hasil pertumbuhan media YDC. Berdasarkan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt *et al.*, 1994) dan Schaad *et al.* (2001), isolat bakteri G5 termasuk dalam genus *Pantoea*.

**f. Isolat G6**

Bakteri isolat G6 memiliki ciri-ciri morfologi sebagai berikut: bentuk bulat, tepi rata, elevasi cembung, bersifat mukoid dan memiliki warna putih susu. Hasil pengujian fisiologi dan biokimia menunjukkan reaksi gram negatif, berbentuk batang, bersifat fermentatif dan menunjukkan koloni berwarna putih pada hasil pertumbuhan media YDC. Berdasarkan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt *et al.*, 1994) dan Schaad *et al.* (2001), isolat bakteri G6 termasuk dalam genus *Erwinia*.

**g. Isolat G7**

Bakteri isolat G7 memiliki ciri-ciri morfologi sebagai berikut: bentuk bulat, tepi rata, elevasi cembung, bersifat mukoid dan memiliki warna putih keruh. Hasil pengujian fisiologi dan biokimia menunjukkan reaksi gram negatif, berbentuk batang, bersifat fermentatif dan menunjukkan koloni berwarna putih pada hasil pertumbuhan media YDC. Berdasarkan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt *et al.*, 1994) dan Schaad *et al.* (2001), isolat bakteri G7 termasuk dalam genus *Erwinia*.

**h. Isolat G8**

Bakteri isolat G2 memiliki ciri-ciri morfologi sebagai berikut: bentuk bulat, tepi rata, elevasi cembung, bersifat mukoid dan memiliki warna putih bening. Hasil pengujian fisiologi dan biokimia menunjukkan reaksi gram negatif, berbentuk batang, bersifat fermentatif dan menunjukkan koloni berwarna kuning pada hasil pertumbuhan media YDC. Berdasarkan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt *et al.*, 1994) dan Schaad *et al.* (2001), isolat bakteri G8 termasuk dalam genus *Pantoea*.

**i. Isolat G9**

Bakteri isolat G9 memiliki ciri-ciri morfologi sebagai berikut: bentuk bulat, tepi rata, elevasi cembung, bersifat mukoid dan memiliki warna putih bening. Hasil pengujian fisiologi dan biokimia menunjukkan reaksi gram negatif, berbentuk batang, bersifat fermentatif dan menunjukkan koloni berwarna putih pada hasil pertumbuhan media YDC. Berdasarkan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt *et al.*, 1994) dan Schaad *et al.* (2001), isolat bakteri G9 termasuk dalam genus *Pantoea*.

**j. Isolat G10**

Bakteri isolat G10 memiliki ciri-ciri morfologi sebagai berikut: bentuk bulat, tepi rata, elevasi cembung, tidak bersifat mukoid dan memiliki warna putih susu. Hasil pengujian fisiologi dan biokimia menunjukkan reaksi gram positif, berbentuk batang, positif uji katalase dan tidak menghasilkan spora. Berdasarkan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt *et al.*, 1994) dan Schaad *et al.* (2001), isolat bakteri G4 termasuk dalam genus *Coryneform*.

**k. Isolat G11**

Bakteri isolat G11 memiliki ciri-ciri morfologi sebagai berikut: bentuk bulat, tepi rata, elevasi cembung, bersifat mukoid dan memiliki warna putih keruh. Hasil pengujian fisiologi dan biokimia menunjukkan reaksi gram negatif, berbentuk batang, bersifat fermentatif dan menunjukkan koloni berwarna putih pada hasil pertumbuhan media YDC. Berdasarkan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt *et al.*, 1994) dan Schaad *et al.* (2001), isolat bakteri G11 termasuk dalam genus *Erwinia*.

**l. Isolat G12**

Bakteri isolat G12 memiliki ciri-ciri morfologi sebagai berikut: bentuk bulat, tepi rata, elevasi cembung, bersifat mukoid dan memiliki warna putih keruh. Hasil pengujian fisiologi dan biokimia menunjukkan reaksi gram negatif, berbentuk batang, bersifat fermentatif dan menunjukkan koloni berwarna kuning pada hasil pertumbuhan media YDC. Berdasarkan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt *et al.*, 1994) dan Schaad *et al.* (2001), isolat bakteri G12 termasuk dalam genus *Pantoea*.

**m. Isolat G13**

Bakteri isolat G13 memiliki ciri-ciri morfologi sebagai berikut: bentuk bulat, tepi rata, elevasi cembung, tidak bersifat mukoid dan memiliki warna putih susu. Hasil pengujian fisiologi dan biokimia menunjukkan reaksi gram positif, berbentuk batang, positif uji katalase dan tidak menghasilkan spora. Berdasarkan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt *et al.*, 1994) dan Schaad *et al.* (2001), isolat bakteri G13 termasuk dalam genus *Coryneform*.

**n. Isolat G14**

Bakteri isolat G14 memiliki ciri-ciri morfologi sebagai berikut: bentuk bulat, tepi rata, elevasi cembung, tidak bersifat mukoid dan memiliki warna putih susu. Hasil pengujian fisiologi dan biokimia menunjukkan reaksi gram positif, berbentuk batang, positif uji katalase dan tidak menghasilkan spora. Berdasarkan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt *et al.*, 1994) dan Schaad *et al.* (2001), isolat bakteri G14 termasuk dalam genus *Coryneform*.

## V. PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan terhadap bakteri simbion *P. xylostella* dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Hasil eksplorasi bakteri simbion pada bagian *midgut* *P. xylostella* didapatkan 14 isolat bakteri yang mampu hidup pada media tercemar insektisida berbahan aktif profenofos. 14 isolat bakteri termasuk dalam genus *Pantoea*, *Erwinia* dan *Coryneform*. Terdapat 4 bakteri yang bersifat patogen dan 10 bakteri tidak bersifat patogen untuk tanaman.
2. Hasil pengujian biodegradasi insektisida berbahan aktif profenofos pada 3 konsentrasi yang berbeda (0,75 ml/L, 1,5 ml/L dan 3 ml/L), terdapat 2 isolat bakteri yang mampu menghasilkan zona bening yaitu *Pantoea* G8 dan *Pantoea* G9.

### 5.2 Saran

Pelaksanaan pembedahan larva *P. xylostella* disarankan menggunakan metode yang tepat khusus *midgut* agar diperoleh organ atau bagian larva yang sesuai. Perlu dilakukan adanya pengujian lanjutan terkait hasil penelitian yang telah dilakukan seperti pengujian dan perhitungan residu insektisida yang telah terdegradasi, pengujian sampai tingkat DNA pada isolat bakteri yang menghasilkan zona bening sehingga dapat diketahui tingkatan spesiesnya dan perlu dilakukan pengujian tingkat lapang.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ameriana, M., R. Sinung. B., E. Suryaningsih dan Adiyoga. 2000. Kepedulian Konsumen terhadap Sayuran Bebas Residu Pestisida. *J. Hort* .9(4):377-377.
- Antriana, N. 2014. Isolasi Bakteri Asal Saluran Pencernaan Rayap Pekerja (*Macrotermes Spp.*). Program Studi Keperawatan, STIKES Harapan Ibu Jambi, Indonesia. Volume16, Nomor 1, Desember 2014, Hal. 18 – 28.
- Ashari, S. 1995. Hortikultura Aspek Budidaya. Buku. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta. 141--146 p.
- Basuki, W. 2011. Biodegradasi Limbah Oli Bekas oleh *Lycinibacillus sphaericus* TCP C 2.1. Peneliti Pusat Teknologi Bioindustri Badan pengkajian dan penerapan Teknologi. Jakarta. ISSN 1441-318X.
- Biorata, A. M. 2012. Optimasi Produksi Seluase Dari *Bacillus* sp. BPPT CC RK 2 Menggunakan Metode Respon Permukaan dengan Varasi Rasio C/N dan Waktu Fermentasi. Skripsi Fakultas Teknik Program Studi Teknologi Bioproses Universitas Indonesia.
- Borkas, S.G. 2018. Laboratory Techniques in Plant Bacteriology. Boca Raton: Taylor & Francis Group, LLC.
- Cahyono, B. 2001. Kubis Bunga dan Broccoli. Yogyakarta: Kanisius. Hal: 125.
- Dalimarta, S. 2000. Atlas Tumbuhan Obat Indonesia. Bogor: Trubus Agriwidya.
- Dalimunthe, K.T., Hasan, W. dan Ashar, T. 2012. Analisa Kuantitatif Residu Insektisida Profenofos Pada Cabai Merah Segar Dan Cabai Merah Giling Di Beberapa Pasar Tradisional Kota Medan Tahun 2012. Program Sarjana Fakultas Kesehatan Masyarakat, Departemen Kesehatan Lingkungan Universitas Sumatera Utara, Medan.
- Darmono. 2008. Farmasi Forensik Dan Toksikologi, Jakarta: Universitas Indonesia. Hal: 128 – 129, 138 – 153.
- Delalibre, I., Jo, H., dan Kenneth, F. R. 2005. Contrast In Cellulolytic of Gut Mikroorganisms Between The Wood Borer, *Saperda vestita* (Coleoptera: Cerambyidae), and The Bark Beetles, *Ips pini* and *Dendroctonus frontalis* (Coleoptera: Curculionidae). *Physiological Ecology Entomol.* 34(3) : 541-547.
- Dwidjoseputro, D. 1985. Dasar-dasar Mikrobiologi. Jakarta: Djambatan.
- Dwismar, R., Baharuddin, M., dan Syamsidar, H.S. 2013. Isolasi dan Uji Aktivitas Enzim Selulase dari Bakteri Symbion Larva Kupu-Kupu Family: Cossidae Terhadap Variasi Lama Inkubasi. Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Alauddin Makasar . Vol. 1, No. 1.
- Effendy, E., dan Widajatyo, R.L. 2010. Biodegradasi 2,4-Diklorofenol oleh Bakteri *Alcaligenes* sp. dan *Bacillus* sp. Seminar Rekayasa Kimia Dan Proses. Jurusan Teknik Lingkungan, UPN Veteran Jawa Timur. Surabaya. ISSN : 1411-4216.

Fatmawati, U., Sajidan, dan Suranto. 2010. Potensi Mikroorganisme Sebagai Agen Bioremediasi Dalam Menurunkan Kadar Cr(VI) Dalam Limbah Cair Tekstil Hasil Pewarnaan. Surakarta. Seminal Nasional Pendidikan Biologi FKIP UNS.

Hadioetomo, R.S. 1990. Mikrobiologi Dasar dalam Praktek Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium. Jakarta: Penerbit PT Gramedia. Hal 103-104.

Harcourt, D.G. 1954. Biology Of The Diamondback Moth, *Plutella maculipennis* (Curt.) Lep.: Plutellidae), in Eastern Ontario. I. Distribution, Economic History, Synonymy and General Descriptions. Contribution No. 3334. Dept. of Agric., Canada. 7 pp.

Harcourt, D.G. 1957. Biology Of The Diamondback, *Plutella maculipennis* (Curt.) in Eastern Ontario. II. Life History, Behavior and host relationships. Canadian Entomol. 89: 554-564.

Hartwell, H.L. 2011. Fourth Edition Genetics From Genes to Geneous. Amerika, New York: McGraw-Hil.

Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P.H., Staley, J.T dan William, S.T. 1994. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 9th Edition. USA: Williams & Wilkins.

Ilham, D.F., Darmawi, dan Rasmaidar. 2013. Isolasi *Pasteurella multocida* pada Kuda Dan Sensitivitasnya Terhadap Antibiotik. Banda Aceh. Jurnal Medika Veterinaria. ISSN : 0853-1943.

Jumar. 2000. Entomologi Pertanian. Jakarta: PT. Reineka Cipta. Hal: 273.

Kalshoven, L.G.E. 1981. The Pest of Crops in Indonesia. Revised and Translated By P.A. Van der laan. Jakarta: PT. Ichtiar Baru. Hal: 701.

Lay, B.W. 1994. Analisis Mikroba di Laboratorium. Jakarta: Raja Grafindo Persada.

Long, H.H., N. Furuya., D. Karose., I. Yamamoto., M. Takeshi., dan Y. Tanakami. 2004. Identification of the endophytic bacterial isolate and their in Vitro and in Vivo antagonist against *Ralstonia solanacearum*. Journal Faculty Agriculture. Kyushu University. 49(2): 233-241.

Makoto, I. 2018. Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, Tokyo, Japan. [http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests\\_Pesticides/JMPR/Evaluation08/Profenofos.pdf](http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/JMPR/Evaluation08/Profenofos.pdf) di akses pada tanggal 4 September 2018.

Masnilah, R., Abadi, A. L., Astono, T. H., dan Aini, L. Q. 2013. Karakterisasi Bakteri Penyebab Penyakit Hawar Daun Edamame Di Jember. Berkala Ilmiah Pertanian. 1(1), 10-14.

Mau, R.F.L., dan J.L.M. Kessing. 1992. *Plutella xylostella* Linn. Dept. Of Entomology. Honolulu Hawaii. <http://www.Extento Hawaii.Edu/base/crop/Type/Plutella Htm>.

Moekasan, T.K., S. Sastrosiswojo, T. Rukmana, H. Sutanto, I.S. Purnamasari, dan A. Kurnia. 2004. Status Resistensi Lima Strain *Plutella xylostella* L.

- terhadap Formulasi Fipronil, Deltametrin, Profenofos, Abamektin, dan *Bacillus thuringiensis*. Lembang, Bandung: Aventis Crop Science (PT Rhone-Poulenc Agrocarb).
- Mulyaningsih, Liliek. 2010. Aplikasi Agensia Hayati Atau Insektisida Dalam Pengendalian Hama *Plutella xylostella* Linn Dan *Crocidolomia binotalis* Zell Untuk Peningkatan Produksi Kubis (*Brassica oleracea* L.). Universitas Soerjo Ngawi. MEDIA SOERJO Vol. 7 No. 2 Oktober 2010 ISSN 1979 – 6239.
- Munir, E. 2006. Pemanfaatan Mikroba dalam Bioremediasi: Suatu Teknologi Alternatif untuk Pelestarian Lingkungan. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Sumatera Utara. Medan: USU e-Repository.
- Mustahal, dan Waqiah, A. 2012. Identifikasi Bakteri yang Menginfeksi Ikan Garra Rufa (*Cyprinion macrostamus*) Di Balai Besar Karantina Ikan Soekarno-Hatta. Jurnal Perikanan dan Kelautan, 2(2), 65-70.
- Obraztsova, A.Y, Francis, C.A, Tebo, B.M. 2002. Sulfur Disproportionation by The Facultative Anaerob *pantoea agglomerans* sp-1 as a Mechanisme for Chromium (VI) Reduction. "Geomicrobiology Journal".19.2002:12-132.
- Octavia, B. 2010. Kajian Kekayaan Bakteri Indigenous Indonesia untuk Bioremediasi Limbah. Jurusan Pendidikan Biologi FMIPA Universitas Negeri Yogyakarta.
- Peraturan Pemerintah. 1973. Pengawasan Atas Peredaran, Penyimpanan dan Penggunaan Pestisida. Nomor 7. Jakarta. 17 Maret 1973. Sekretaris Negara Republik Indonesia.
- Pusat Perizinan dan Investasi. 2010. Pestisida Pertanian dan Kehutanan Tahun 2010. Jakarta. Sekretariat Jenderal Kementerian Pertanian. Republik Indonesia.
- Raini, M. 2007. Toksikologi Pestisida dan Penanganan Akibat Keracunan Pestisida. Jakarta: Depkes.
- Raka, I.G.N., Khalimi, K., Nyana, I.D.N., dan Siadi, I.K. 2012. Aplikasi Rizobakteri *Pantoea agglomerans* untuk Meningkatkan Pertumbuhan dan Hasil Tanaman Jagung (*Zea mays* L.) Varietas Hibrida BISI-2. Program Studi Agroekoteknologi Fakultas Pertanian Universitas Udayana. Bali. AGROTROP, 2(1): 1-9 (2012). ISSN : 2088-155X
- Ramika, R., Safni, Lukman, U. 2012. Degradasi Senyawa Profenofos dalam Insektisida Curacron 500ec Secara Fotolisis dengan Penambahan Tio2 – Zeolit. Jurnal Kimia Unand. 1 (1) : 92 – 98.
- Robert, S.B., E.G.D. Murray dan Nathan, R.S. 1957. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology seventh edition. The Williams and Wilkins Company. United State of America.
- Rukmana, R. 1994. Bertanam Petsai dan Sawi. Yogyakarta : Kanisius. Hal: 57.
- Rukmana, R dan Sugandi, U.U. 1997. Hama Tanaman dan Teknik Pengendalian. Yogyakarta: Kanisius. Hal: 166.

Sastrosiswojo, S., Tinny, S.U., dan Rachmat, S. 2005. Penerapan Teknologi PHT pada Tanaman Kubis. Balai Penelitian Tanaman Sayuran. Lembang, Bandung. Monografi No.21.

Schaad, N.W., Jones, J.B., dan Chun, W. 2001. Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria. 3rd Edition. St. Paul Minnesota: APS Press.

Standar Nasional Indonesia. 2008. Batas Maksimum Residu Pestisida pada Hasil Pertanian. Badan Standarisasi Nasional. SNI 7313

Sulaeman, E., Asep, N.A., Mohamad, Y. 2016. Eksplorasi Bakteri Pendegradasi Insektisida Klorpirifos di Tanah Sayuran Kubis di Jawa Barat. Bogor: Jurnal Tanah dan Iklim Vol. 40 No. 2 Hal. 103-112.

Sutanto, A. 2011. Degradasi Bahan Organik Limbah Cair Nanas oleh Bakteri Indigen. Degradasi Bahan Organik (151-156). Pendidikan Biologi Universitas Muhammadiyah Metro Lampung. El-Hayah Vol. 1, No.4 Maret.

Syamsidi, A., Fitriyanti. A. 2014. Skrining Bakteri Simbion pada Lalat Buah (*Drosophilla melanogaster*) Sebagai Kandidat Penghasil Senyawa Antibiotika. J. Trop. Pharm. Chem. 2014. Vol 2. No. 5 309 p-ISSN: 2087-7099; e-ISSN: 2407-6090.

Syarief, R., dan H. Halid. 1993. Teknologi Penyimpanan Pangan. Arcan, Jakarta.

Tim Penyusun Kamus PS. 2013. Kamus Pertanian Umum. Jakarta: Penebar Swadaya.

Untung, K. 2006. Pengantar Pengelolaan Hama Terpadu. Yogyakarta: UGM Press.

Vasantakumar, A., Italo, D., J. Handelsman, Kier, D., Patrick, D., and Kenneth, F. 2006. Characterization of Gut-Associated Bacteria in Larvae and Adults of the Southern Pine Beetle, *Dendroctonus frontalis* Zimmermann, Molecular Ecology and Evolution, 35(6): 1710-1717.

Vos, H.C.C.A.A. 1953. Introduction in Indonesia of *Angitia cerophaga* Grav., a parasite of *Plutella maculipennis* Curt. Pemberitaan Balai Besar Penyelidikan Pertanian Bogor. No 134. hlm 32.

Winarto, L., dan D. Nazir. 2004. Teknologi Pengendalian Hama *Plutella xylostella* dengan Insektisida dan Agensia Hayati pada Kubis di Kabupaten Karo. Jurnal Pengkajian dan Pengembangan Teknologi Pertanian 7: 27-33.

Winarto, L., dan Sebayang L. 2015. Teknologi Pengendalian Hama Terpadu Pada Tanaman Kubis. Balai Pengkajian Teknologi Pertanian. Sumatera Utara.

Xia, X., Zheng, D., Zhong, H., Qin, B., Gurr, G.M., Vasseur, L., Lin, H., Bai, J., He, W., dan You, M. 2013. DNA Sequencing Reveals the Midgut Microbiota of Diamondback Moth, *Plutella xylostella* (L.) and a Possible Relationship with Insecticide Resistance. PLoS ONE 8(7): e68852. doi:10.1371/journal.pone.0068852.

Yusra, Y., Azima, F., Novelina, dan Periadnadi. 2014. Isolasi Dan Identifikasi Mikroflora Indigenus Dalam Budu. Padang. AGRITECH. Vol. 34, No. 3.

Zaenuri, M., Hidayat, S., Roestijawati, N., Satrio, R., dan Prihastuti, C.C. 2018. Bakteri Penyebab Infeksi Nosokomial Di Rumah Sakit Gigi Dan Mulut Universitas Jenderal Soedirman. Dental Hospital Jenderal Soedirman University. Purwokerto. No. ISBN: 978-602-1643-617.

Zhang, L., dan Birch, R.G. 1997, The gene for albicidin detoxification from *Pantoea dispersa* encodes an esterase and attenuates pathogenicity of *Xanthomonas albilineans* to sugarcane, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94:9.984–9.989.

Zuraidah. 2013. Pengujian Beberapa Bakteri Penghambat pertumbuhan *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* Pada Tanaman Padi. Jurnal Ilmiah Pendidikan Biologi, Biologi Edukasi, 5(1), 18-24.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Analisis Ragam Uji Biodegradasi

A) Pengamatan 24 Jam

a) Konsentrasi 0,75 ml/L

Sumber Keragaman	JK	DB	KT	F hitung	F Tabel	Sig.
Perlakuan	0,000	14	0,000	0,000	2,05	1,000
Galat	0,000	45	0,000			
Total	0,000	59				

b) Konsentrasi 1,5 ml/L

Sumber Keragaman	JK	DB	KT	F hitung	F Tabel	Sig.
Perlakuan	0,000	14	0,000	0,000	2,05	1,000
Galat	0,000	45	0,000			
Total	0,000	59				

c) Konsentrasi 3 ml/L

Sumber Keragaman	JK	DB	KT	F hitung	F Tabel	Sig.
Perlakuan	0,000	14	0,000	0,000	2,05	1,000
Galat	0,000	45	0,000			
Total	0,000	59				

B) Pengamatan 48 Jam

a) Konsentrasi 0,75 ml/L

Sumber Keragaman	JK	DB	KT	F hitung	F Tabel	Sig.
Perlakuan	3,543	14	0,253	425,971	2,05	0,000
Galat	0,027	45	0,001			
Total	3,569	59				

b) Konsentrasi 1,5 ml/L

Sumber Keragaman	JK	DB	KT	F hitung	F Tabel	Sig.
Perlakuan	3,116	14	0,226	4475,865	2,05	0,000
Galat	0,002	45	0,000			
Total	3,168	59				

c) Konsentrasi 3 ml/L

Sumber Keragaman	JK	DB	KT	F hitung	F Tabel	Sig.
Perlakuan	0,000	14	0,000	0,000	2,05	1,000
Galat	0,000	45	0,000			
Total	0,000	59				



## C) Pengamatan 72 Jam

## a) Konsentrasi 0,75 ml/L

Sumber Keragaman	JK	DB	KT	F hitung	F Tabel	Sig.
Perlakuan	4,847	14	0,346	5522,192	2,05	0,000
Galat	0,003	45	0,000			
Total	4,850	59				

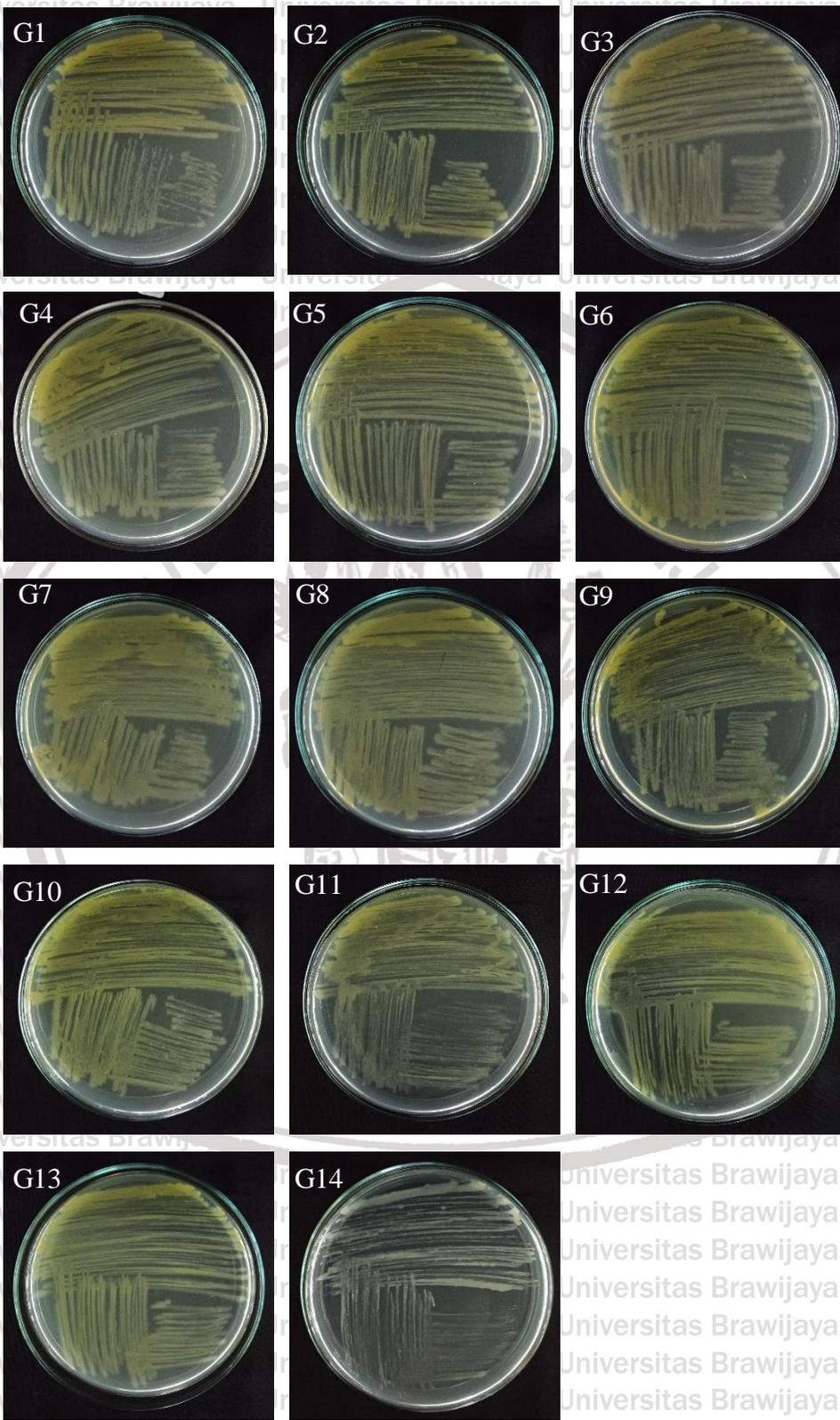
## b) Konsentrasi 1,5 ml/L

Sumber Keragaman	JK	DB	KT	F hitung	F Tabel	Sig.
Perlakuan	4,705	14	0,336	15130,247	2,05	0,000
Galat	0,001	45	0,000			
Total	4,706	59				

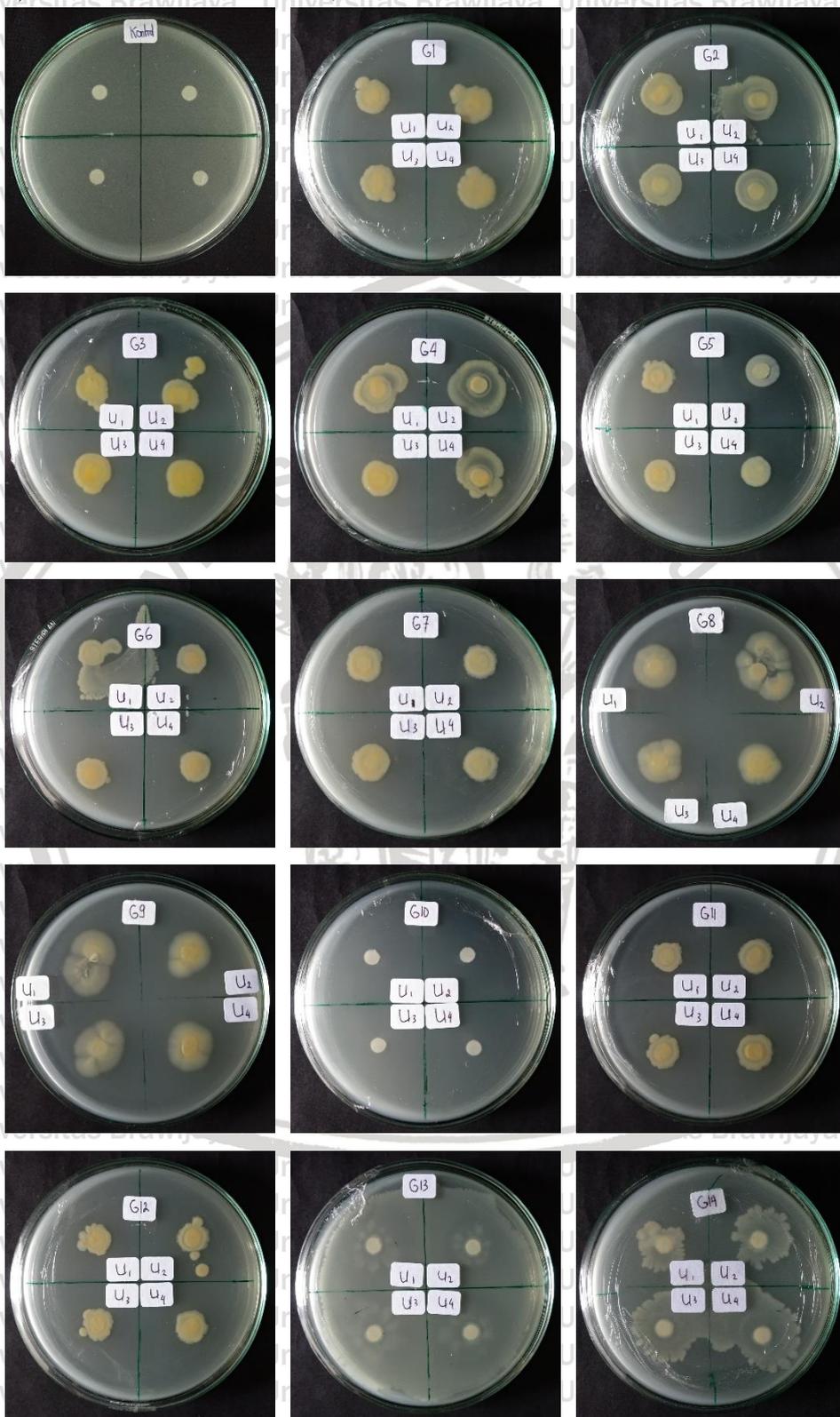
## c) Konsentrasi 3 ml/L

Sumber Keragaman	JK	DB	KT	F hitung	F Tabel	Sig.
Perlakuan	3,586	14	0,256	10272,214	2,05	0,000
Galat	0,001	45	0,000			
Total	3,588	59				

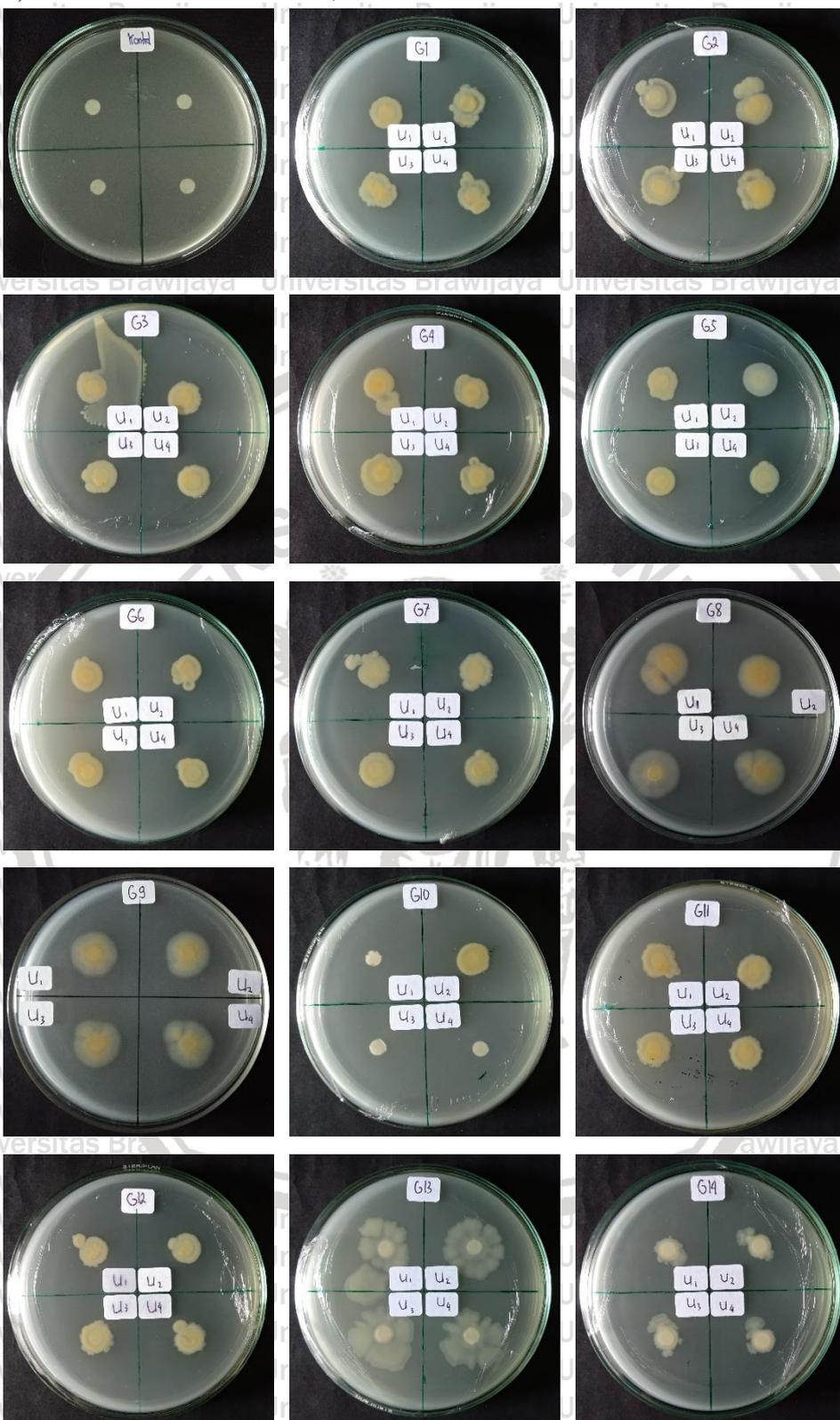
Lampiran 2. Streak Tunggal Bakteri Terpilih Hasil Pada Media NA Isolat G1, G2, G3, G4, G5, G6, G7, G8, G9, G10, G11, G12, G13 dan G14



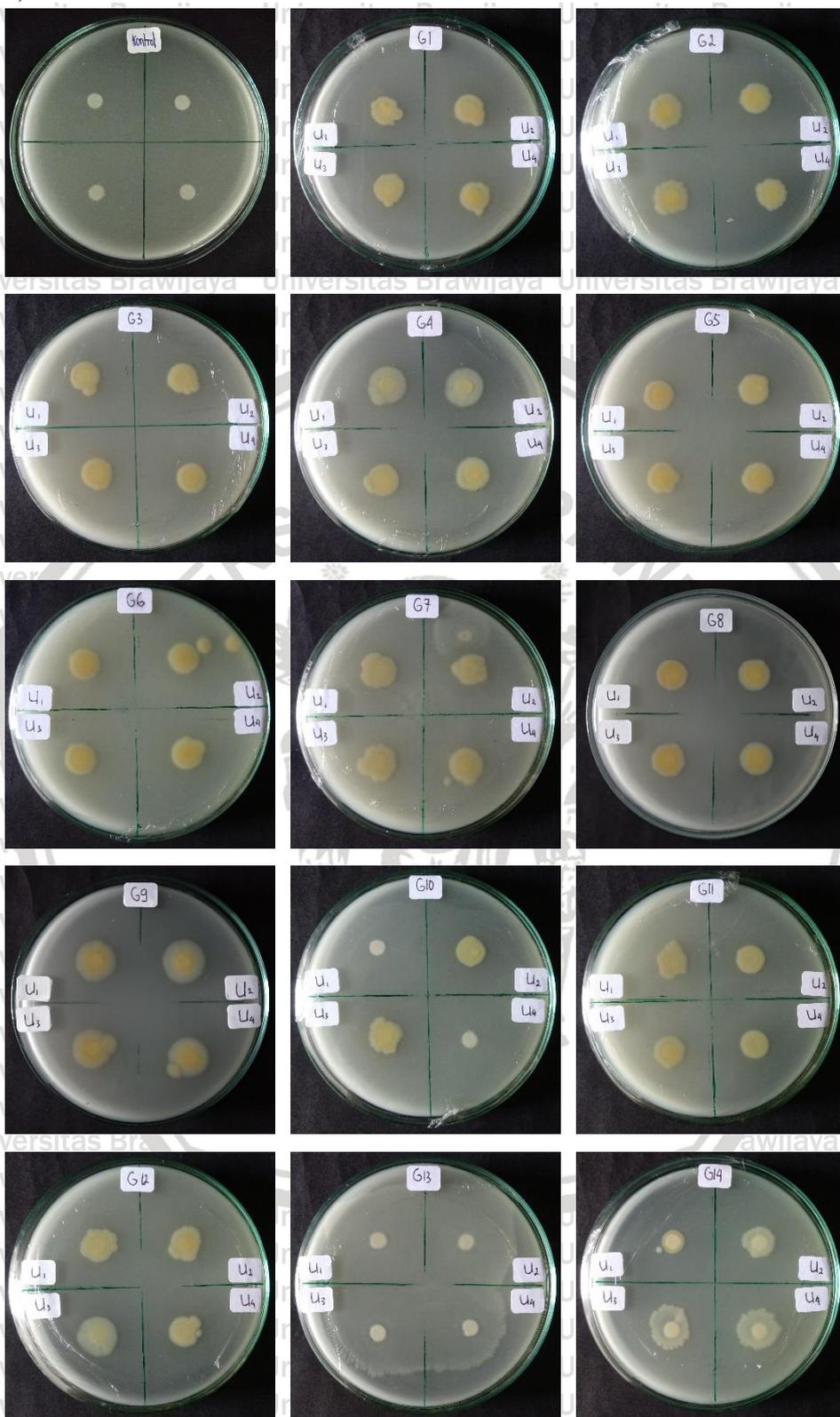
Lampiran 3. Hasil Uji Biodegradasi Bakteri Terpilih Pengamatan 72 Jam.  
a). Konsentrasi Insektisida 0,75 ml/L



b). Konsentrasi Insektisida 1,5 ml/L



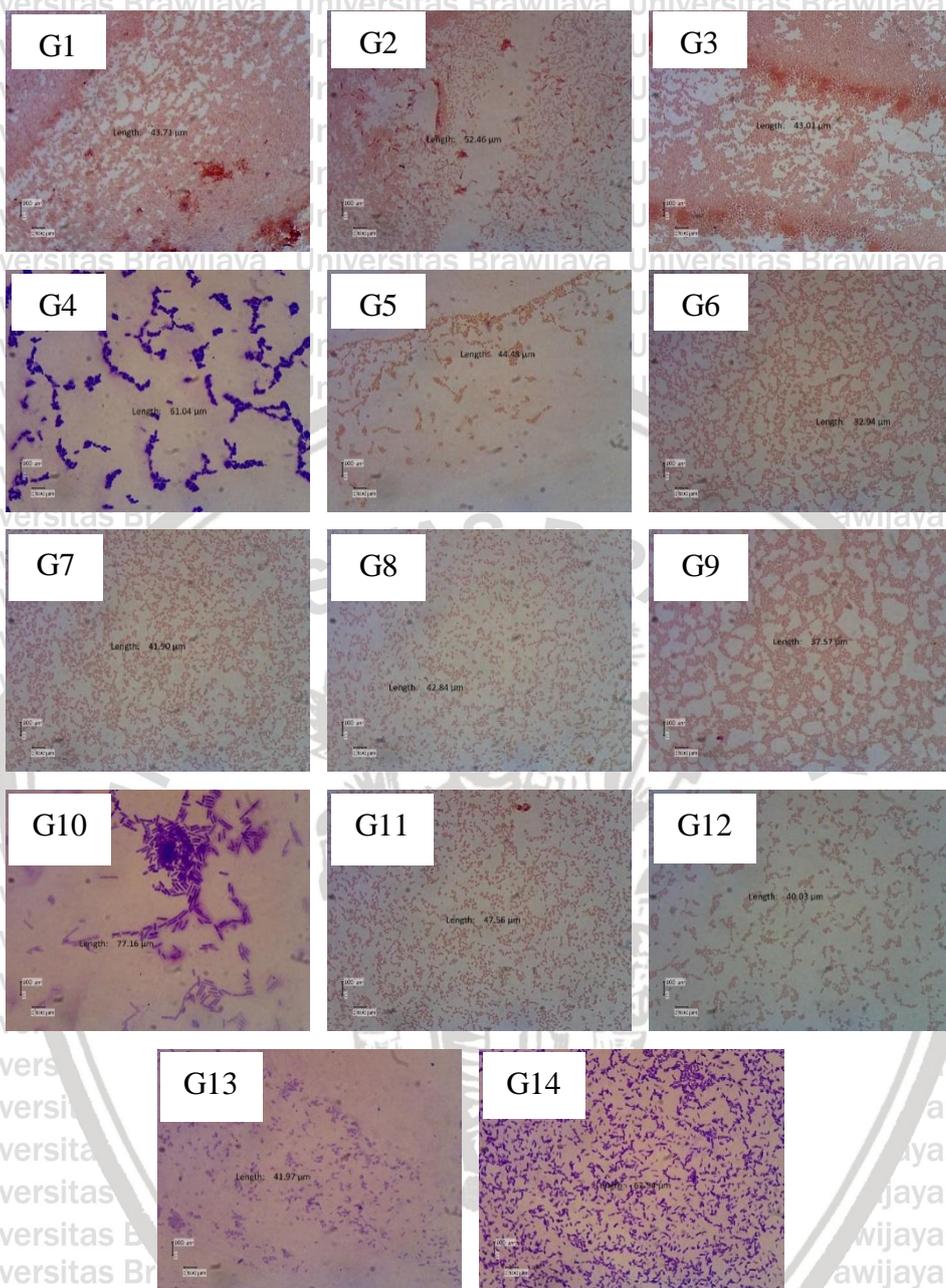
c). Konsentrasi Insektisida 3 ml/L



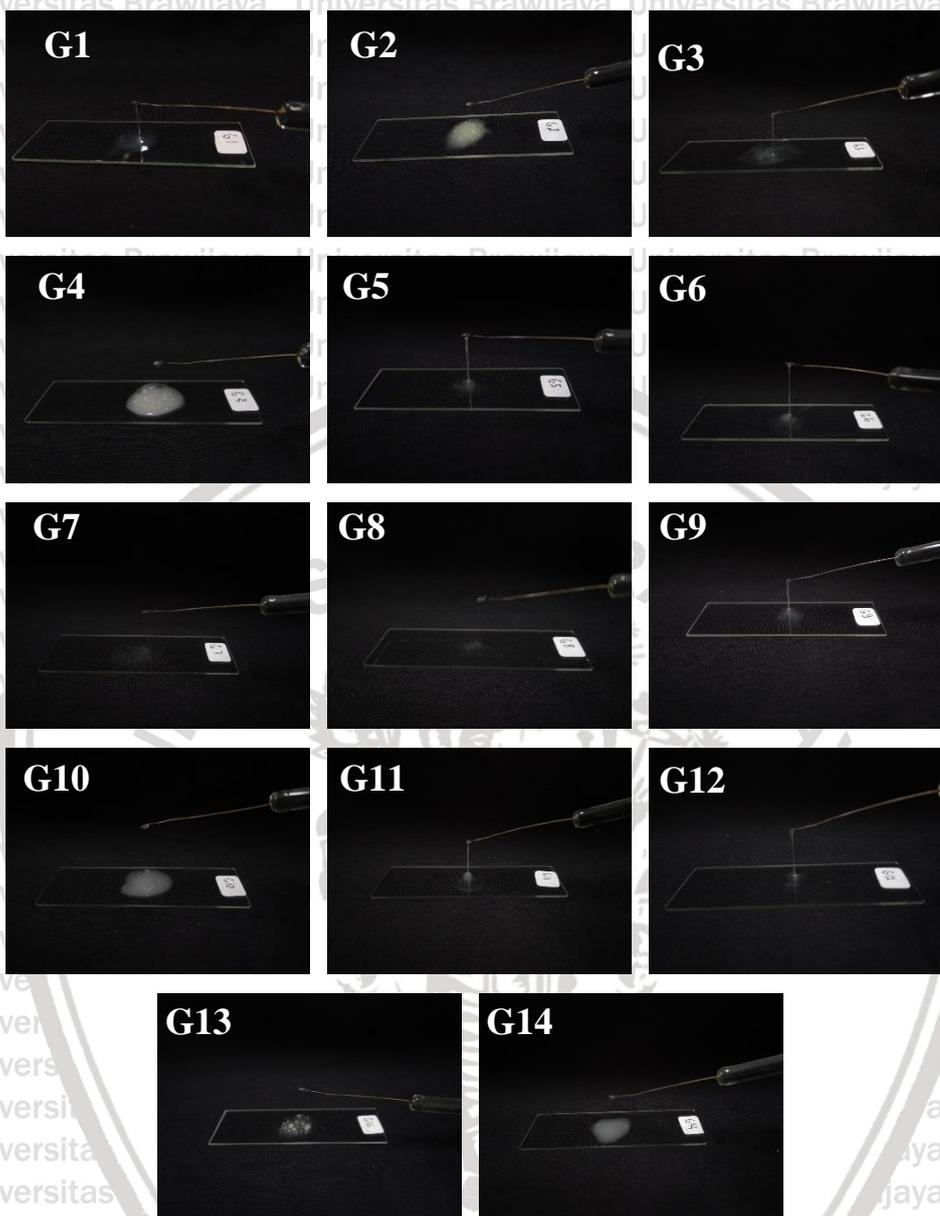
Lampiran 4. Hasil Uji Hipersensitif Bakteri Terpilih Pengamatan 48 Jam



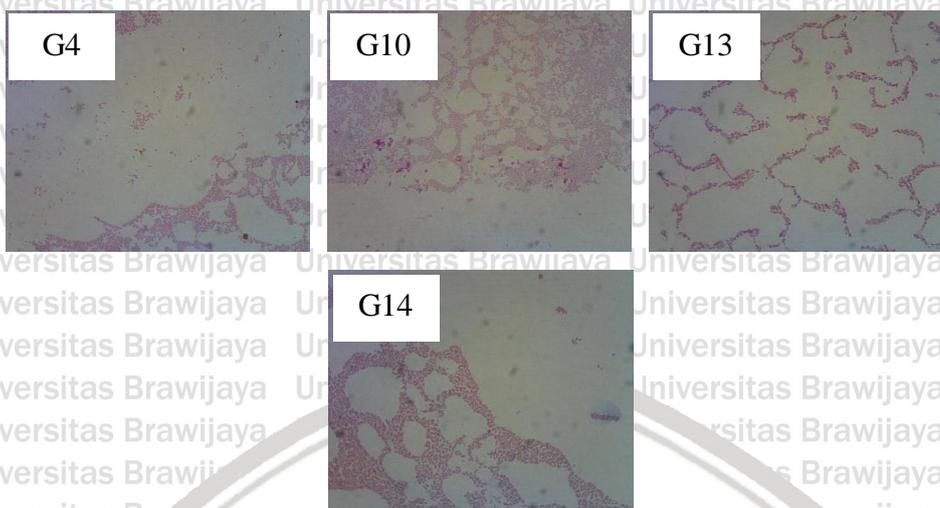
Lampiran 5. Hasil Uji Gram Bakteri Terpilih.



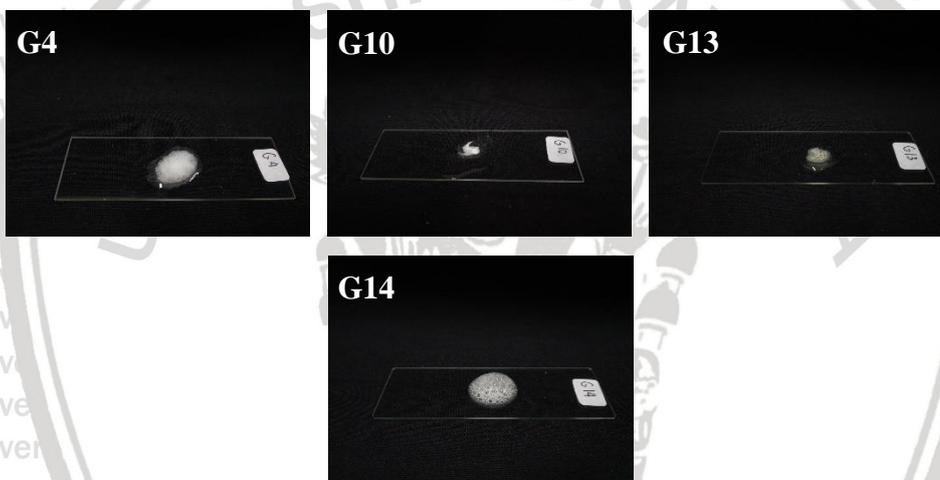
Lampiran 6. Hasil Uji KOH 3% Bakteri Terpilih



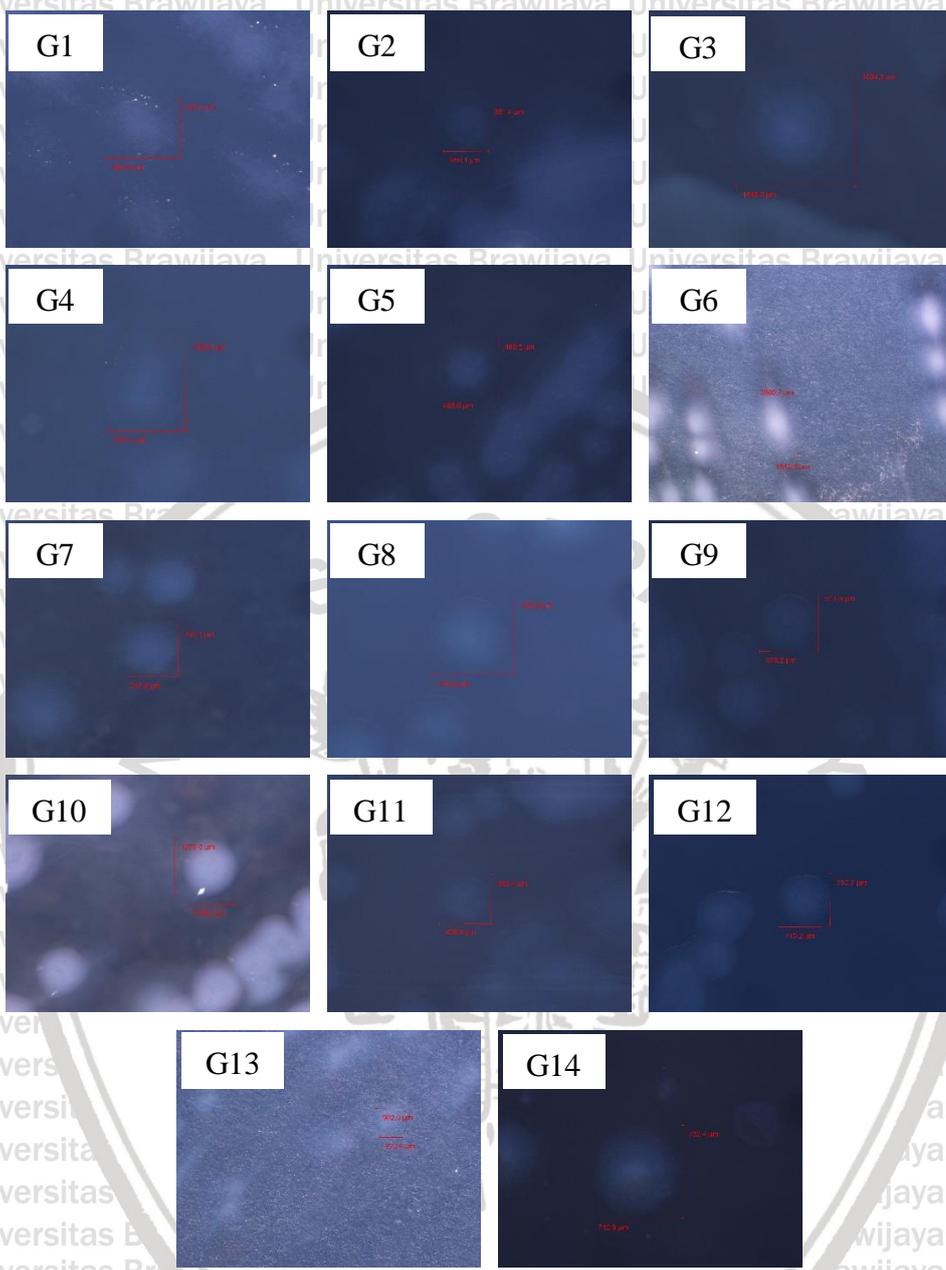
Lampiran 7. Hasil Uji Pewarnaan Spora Bakteri Terpilih



Lampiran 8. Hasil Uji Katalase Bakteri Terpilih



### Lampiran 9. Bentuk Koloni Tunggal Isolat Bakteri



Lampiran 10. Hasil Uji Oksidatif-Fermentatif



Lampiran 11. Hasil Uji Media YDC Bakteri Terpilih

