Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia, Vol. 7, No. 1, 2001: 16–21.

INFEKSI SUBLETAL *BACILLUS THURINGIENSIS* PADA *HELICOVERPA ARMIGERA*: MUNGKINKAH MENYEBABKAN RESURGENSI ?

SUBLETHAL INFECTION OF BACILLUS THURINGIENSIS *TO* HELICOVERPA ARMIGERA*: IS IT POSSIBLE TO INDUCE RESURGENCE ?*

Tjandra Anggraeni, Ramadhani Eka Putra dan Intan Ahmad
Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Institut Teknologi Bandung
E-mail: tjandra@bi.itb.ac.id

ABSTRACT

Research on the effect of B. thuringiensis *sublethal infection to the chance of* H. armigera *to resurgence has been conducted. Third instar insects were used and the concentration applied were 0 ppm, 150 ppm, 300 ppm, 450 ppm and 600 ppm. The result showed that along with the increase of* B. thuringiensis *infection, the number and the viability of the eggs production declined. In addition, the weight difference between the 3rd and the 4th instar became higher however between the 4th and the 5th became lower, moreover, the weight of female imago decreased, the life longevity of male and female imago were shorter and longer, respectively, along with the increase of* B. thuringiensis *infection. The possibility for resurgence will be discussed.*

Key words: B. thuringiensis, H. armigera, *sublethal, resurgence*

INTISARI

Telah dilakukan penelitian mengenai pengaruh infeksi subletal *B. thuringiensis* pada kemungkinan terjadinya resurgensi hama *H. armigera* (Hubner). Serangga yang diinfeksi adalah instar 3 dan konsentrasi yang digunakan adalah 0 ppm, 150 ppm, 300 ppm, 450 ppm, dan 600 ppm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terjadi penurunan jumlah dan viabilitas telur yang dihasilkan oleh imago betina seiring dengan meningkatnya konsentrasi *B. thuringiensis*. Sebagai tambahan terlihat bahwa selisih pertambahan berat instar 3 dan instar 4 semakin meningkat, sebaliknya selisih pertambahan berat instar 4 dan instar 5 semakin menurun dengan semakin tingginya konsentrasi *B. thuringiensis* yang diinfeksikan. Selanjutnya, juga terlihat bahwa seiring dengan peningkatan konsentrasi *B. thuringiensis* yang diinfeksikan, terjadi penurunan berat tubuh imago betina secara nyata, penurunan masa hidup imago jantan dan peningkatan masa hidup imago betina. Diskusi mengenai kemungkinan terjadi resurgensi, disampaikan dalam tulisan ini.

Kata kunci: *B. thuringiensis*, *H. armigera*, subletal, resurgensi

PENGANTAR

Penggunaan dosis atau konsentrasi insektisida kimia yang lebih rendah daripada yang diharuskan (subletal), akan dapat menimbulkan pengaruh yang merugikan bagi manusia, misalnya kembalinya populasi serangga hama pada jumlah awalnya atau bahkan mungkin lebih tinggi dari jumlah awalnya yang sering disebut resurgensi (McLeod, 1972; Pfadt, 1985; Waterhouse & Norris, 1987).

Untuk mengurangi dampak tersebut, saat ini mulai banyak dilakukan orang pengendalian serangga hama secara biologi yang antara lain digunakannya agen mikroorganisme. Pada kenyataannya ternyata agen mikroorganisme sangat mudah terurai di alam karena pengaruh misalnya sinar ultraviolet dari matahari

(Pedigo, 1999), akibatnya dapat menurunkan dosis atau konsentrasi yang diaplikasikan.

Dari permasalahan tersebut di atas, perlu kiranya dilakukan penelitian secara fisiologis tentang pengaruh subletal agen pengendali biologis mikroorganisme; sehingga dapat diketahui apakah penggunaan agen mikroorganisme yang di alam dapat berubah dosisnya menjadi subletal tersebut, akan dapat menyebabkan terjadinya resurgensi seperti yang diakibatkan oleh penggunaan insektisida kimia.

Salah satu agens pengendali biologi mikroorganisme yang penggunaannya sudah sangat luas adalah *Bacillus thuringiensis* yang terutama digunakan untuk mengendalikan hama-hama pertanian dari kelompok Lepidoptera (Hastowo *et al.*, 1992). *B. thuringiensis* sendiri merupakan bakteri gram positif, bersifat aerob, dan mampu membentuk spora dengan lebih dari 58 serotipe (Ramajohan, 1998); selain itu bakteri ini mampu menghasilkan kristal protein (δ-endotoksin) yang bersifat toksik bagi larva serangga karena dapat merusak saluran pencernaan makanannya (Gill *et al.*, 1992).

Penelitian yang dilakukan ini bertujuan untuk melihat pengaruh infeksi berbagai konsentrasi subletal *B. thuringiensis* pada kemungkinan terjadinya resurgensi hama *Helicoverpa armigera* dengan mengukur jumlah dan viabilitas telur yang dihasilkan; sebagai tambahan akan diukur pula selisih pertambahan berat instar 3 ke 4 dan instar 4 ke 5, berat imago betina, serta masa hidup imago jantan dan betina.

BAHAN DAN METODE

H. armigera *Hubner*. Larva serangga uji diperoleh dari daerah perkebunan rakyat di daerah Lampung Tengah Propinsi Lampung dan selanjutnya dipelihara di Laboratorium Entomologi Jurusan Biologi ITB. Serangga yang digunakan untuk penelitian ini adalah instar 3 yang mempunyai tingkat konsumsi yang tinggi dan berat rata-rata sebesar 110–150 mg.

***Insektisida* B. thuringiensis.** Bioinsektisida yang digunakan adalah *B. thuringiensis* subspesies kurstaki strain kode produksi EG2348 dari *Ecogen Inc.* yang berbentuk bubuk dan dapat larut dalam akuades. Produk ini merupakan produk komersial hasil rekayasa genetika yang dilakukan oleh *Ecogen Inc.* dengan metode konjugasi bakteri.

Metode infeksi. Metode yang digunakan dalam penelitian adalah metode makan. Setelah sebelumnya dipuasakan selama 24 jam, larva diberi pakan berupa buncis dengan ukuran panjang 3 cm yang sebelumnya dicelupkan ke dalam larutan *B. thuringiensis* dengan konsentrasi tertentu selama 5 menit dan dikeringanginkan dalam suhu kamar selama 10 menit. Setelah perlakuan, larva diberi pakan seperti biasa dan dipelihara sampai pengamatan selesai dilakukan.

***Uji konsentrasi subletal insektisida* B. thuringiensis *terhadap* H. armigera.** Konsentrasi yang digunakan adalah antara 0 sampai 1.200 ppm dengan interval 150 ppm serta jumlah individu sebanyak 10 ekor untuk setiap konsentrasi. Nilai LC_{50} selanjutnya ditentukan dengan menggunakan probit berdasarkan tingkat mortalitas untuk tiap konsentrasi.

Setelah nilai LC_{50} diketahui, kemudian ditentukan 5 konsentrasi subletal yang digunakan yang memiliki interval yang sama. Jumlah individu yang digunakan untuk setiap konsentrasi dan kontrol adalah 25 ekor dan metode yang digunakan sama dengan metode pada uji pendahuluan.

Pengamatan pendukung. Pengamatan pendukung ini dilakukan untuk dapat

mendukung hasil yang diperoleh dari pengamatan utama.

1. ***Pengamatan terhadap selisih pertambahan berat larva.*** Perubahan berat dinyatakan sebagai perubahan berat pada setiap instar (dari instar 3 ke instar 4 dan dari instar 4 ke instar 5) dan parameter yang dibandingkan adalah berat rata-rata larva pada setiap instar.
2. ***Pengamatan terhadap berat dan masa hidup imago betina.*** Pengamatan masa hidup imago dilakukan dengan cara memeriksa kandang setiap hari dan dihitung berdasarkan waktu kematian imago. Uji diulang sebanyak 3 kali (Ali & Watson, 1982).

Pengamatan utama: Pengamatan terhadap jumlah dan viabilitas telur (F1). Pengamatan jumlah telur dilakukan setiap hari setelah imago dikawinkan. Pada tiap kandang ditempatkan 2 ekor jantan dan seekor betina dari konsentrasi infeksi yang sama, dan diberi makan larutan sukrosa 5%. Seluruh bagian kandang dilapisi oleh kertas tisu sebagai tempat bertelur. Pengamatan dilakukan sampai betina mati. Hasil pengamatan berupa jumlah telur secara total dan rata-rata jumlah telur yang dihasilkan setiap hari. Uji ini diulang sebanyak 3 kali.

Pengamatan viabilitas telur dilakukan dengan cara mengambil 100 butir telur secara acak dari seluruh telur yang dihasilkan oleh setiap betina yang diberi perlakuan termasuk kontrol. Telur dinyatakan mati bila 6 hari setelah oviposisi tidak menetas (Ali & Watson, 1982). Uji ini diulang sebanyak 3 kali.

Pengolahan data. Data diolah secara statistik dengan menggunakan metoda ANOVA untuk menentukan apakah terdapat perbedaan nyata pengaruh konsentrasi subletal *B. thuringiensis* pada tiap tingkatan konsentrasi dengan kondisi normal tanpa perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

***Uji Konsentrasi Subletal Insektisida* B. thuringiensis *terhadap* H. armigera.** Data yang diperoleh pada uji pendahuluan (Tabel 1), diolah dengan menggunakan program statistik JMP (*SAS Institute Inc.*) dan dengan memasukkan nilai 0,5 untuk kematian ke dalam persamaan:

Kematian = 0,19111 + 0,00048 Konsentrasi

diperoleh nilai LC_{50} adalah sebesar 643,52083 ≈ 644 ppm. Sebagai pembulatan, untuk selanjutnya ditetapkan bahwa batas atas seri konsentrasi subletal yang digunakan adalah 600 ppm.

Tabel 1. Kematian larva *H. armigera* yang diinfeksi berbagai konsentrasi subletal *B. thuringiensis* var. kurstaki

Konsentrasi (ppm)	Kematian (%)
1200	60
1050	60
900	70
750	70
600	60
450	50
300	30
150	30
0	0

Selanjutnya konsentrasi subletal *B. thuringiensis* yang digunakan adalah 0, 150, 300, 450, dan 600 ppm.

***Pengamatan pendukung*:**

1. Pengamatan terhadap selisih pertambahan berat larva. Selisih pertambahan berat larva yang diperoleh pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Rata-rata berat awal (instar 3), rata-rata berat setelah diinfeksi (instar 4 dan instar 5) berbagai konsentrasi subletal *B. thuringiensis* var. kurstaki serta selisih pertambahan berat di antaranya

Konsentrasi (ppm)	Instar 3 (mg)	Selisih pertambahan berat (mg)	Instar 4 (mg)	Selisih pertambahan berat (mg)	Instar 5 (mg)
0	124,38	152,00	276,38	97,01	373,39
150	147,52	176,43	323,95	56,31	380,26
300	116,39	185,13	301,52	40,55	342,07
450	137,35	230,00	367,35	3,64	370,99
600	111,12	250,55	361,67	-7,63	354,04

Terlihat bahwa selisih pertambahan berat instar 3 dan instar 4 semakin meningkat dengan semakin tingginya konsentrasi *B. thuringiensis* yang diinfeksikan yaitu 152,00 mg pada kontrol dan 250,55 mg pada konsentrasi infeksi 600 ppm. Mengingat bahwa target dari *B. thuringiensis* ini adalah rusaknya jaringan pada pencernaan makanan yang disebabkan oleh endotoksin (Pedigo, 1999), diperkirakan bahwa jaringan pada pencernaan makanan dari instar 3 belum rusak tetapi serangga sudah dapat mendeteksi adanya benda asing yang masuk ke dalam tubuhnya. Semakin tinggi konsentrasi infeksi yang diberikan, usaha yang dilakukan untuk menghilangkan pengaruh benda asing tersebut semakin besar, diperkirakan salah satu caranya dengan mekanisme pertahanan tubuh yang melibatkan sistem humoral dan sistem seluler yang memerlukan banyak energi (Anggraeni, 1991). Energi yang diperlukan tersebut didapatkan dengan cara mengkonsumsi makanan lebih banyak, hal ini dapat berpengaruh langsung pada berat tubuh instar.

Sebaliknya selisih pertambahan berat instar 4 dan instar 5 semakin menurun dengan semakin tingginya konsentrasi *B. thuringiensis* yang diinfeksikan yaitu 97,01 mg pada kontrol dan -7,63 mg pada konsentrasi infeksi 600 ppm. Diperkirakan pada saat ini, jaringan pencernaan makanan sudah rusak sebanding dengan konsentrasi infeksi yang diberikan. Akibat hal tersebut, jumlah makanan yang dikonsumsi serangga juga menjadi berkurang bahkan pada konsentrasi infeksi 600 ppm, serangga tidak makan dan untuk mempertahankan hidupnya serangga ini menggunakan cadangan makanan yang ada.

2. Pengamatan terhadap berat tubuh dan masa hidup imago. Seiring dengan peningkatan konsentrasi *B. thuringiensis* yang diinfeksikan, terjadi penurunan berat tubuh imago betina secara nyata seperti terlihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Berat rata-rata imago betina setelah diinfeksi dengan berbagai konsentrasi subletal *B. thuringiensis* var. kurstaki

Konsentrasi (ppm)	Berat rata-rata imago betina (mg)
0	$172,40 \pm 0,20^{a}$
150	$156,65 \pm 0,05^{b}$
300	$144,65 \pm 0,05^{c}$
450	$135,60 \pm 0,20^{d}$
600	$130,10 \pm 0,10^{e}$

Keterangan: Nilai rata-rata dengan huruf yang berbeda menunjukkan berat rata-rata imago betina berbeda nyata ($P \geq 0,05$).

Diduga usaha serangga untuk mempertahankan dirinya baik dari infeksi *B. thuringiensis* maupun kerusakan jaringan pencernaan makanan terus berlanjut melewati masa pupa sampai kemudian menjadi imago. Energi yang digunakan untuk usaha tersebut diduga diambil dari

cadangan makanan yang dimilikinya dan jumlahnya setara dengan konsentrasi infeksi dan kerusakan jaringan pencernaan makanan. Slansky & Rodriguez (1987) menyatakan bahwa larva serangga yang mengalami malnutrisi akan memaksakan diri untuk bermetamorfosis menjadi imago dengan kompensasi ukuran tubuh yang lebih kecil untuk menghindari dampak yang lebih merugikan untuk kelangsungan hidupnya.

Selanjutnya untuk masa hidup imago diketahui bahwa terjadi penurunan masa hidup imago jantan sebaliknya terjadi peningkatan masa hidup imago betina seiring dengan peningkatan konsentrasi *B. thuringiensis* yang diberikan dibandingkan dengan kontrol. Hal ini dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Masa hidup imago *H. armigera* yang diinfeksi dengan berbagai konsentrasi subletal *B. thuringiensis*

Konsentrasi (ppm)	Imago jantan (hari)	Imago betina (hari)
0	20	15
150	18	16
300	16	16
450	15	18
600	13,5	20

Dari hasil tersebut dapat terlihat bahwa imago jantan lebih mudah terpengaruh oleh malnutrisi yang dialaminya bila dibandingkan dengan imago betina. Masa hidup yang lebih pendek ini, diduga akan mengurangi kemungkinan imago jantan untuk mengawini imago betina. Calow (1981) menyatakan bahwa kenyataan imago betina mempunyai masa hidup yang lebih panjang, mungkin karena imago betina mengalokasikan sebagian protein yang berhasil disimpannya pada saat larva untuk mempertahankan hidupnya, dengan mengorbankan kemampuannya memproduksi telur.

Pengamatan utama: Pengamatan terhadap jumlah dan viabilitas telur (F1). Uji statistik yang dilakukan terhadap jumlah telur yang dihasilkan, menunjukkan bahwa sejalan dengan peningkatan konsentrasi subletal yang diberikan, terjadi penurunan jumlah telur yang dihasilkan oleh imago betina, seperti tampak pada Tabel 5.

Tabel 5. Jumlah rata-rata telur yang dihasilkan oleh imago betina yang diinfeksi berbagai konsentrasi subletal *B. thuringiensis*

Konsentrasi (ppm)	Jumlah telur (butir)
0	1.415,3 ± 27,7[a]
150	881,3 ± 42,7[b]
300	405,3 ± 27,6[c]
450	393,3 ± 48,0[d]
600	248,0 ± 102,2[e]

Keterangan: Nilai rata-rata dengan huruf yang berbeda menunjukkan jumlah telur berbeda nyata ($P \geq 0,05$).

Seperti halnya jumlah telur, viabilitas telur yang dihasilkan semakin berkurang seiring dengan peningkatan konsentrasi subletal yang diberikan. Hal ini dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Viabilitas telur yang dihasilkan oleh imago betina yang diinfeksi berbagai konsentrasi subletal *B. thuringiensis*

Konsentrasi (ppm)	Viabilitas telur (%)
0	30 ± 11,55[a]
150	19 ± 2,08[a]
300	15,3 ± 2,73[a]
450	12 ± 1,73[b]
600	8 ± 1,15[c]

Keterangan: Nilai rata-rata dengan huruf yang berbeda menunjukkan viabilitas telur berbeda nyata ($P \geq 0,05$).

Sesuai dengan pernyataan Calow (1981) di atas, yaitu karena sebagian dari protein yang ada digunakan untuk mempertahankan hidupnya yang terganggu oleh adanya kerusakan pada jaringan pencernaan makanan, maka jumlah dan viabilitas telur berkurang bila dibandingkan dengan kontrol. Berkurangnya hal tersebut semakin besar seiring dengan bertambahnya konsentrasi yang diberikan. Hal senada juga diungkapkan oleh Ramajohan *et al.* (1998) yang menyatakan bahwa pengaruh subletal dari δ-endotoksin yang dihasilkan oleh *B. thuringiensis* adalah terjadinya malnutrisi terutama protein pada serangga sasaran, sebagai akibat dari rusaknya ribosom.

Dari penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa infeksi berbagai konsentrasi subletal *B. thuringiensis* pada serangga hama *H. armigera*, kecil kemungkinannya untuk dapat menyebabkan terjadinya peledakan kembali terutama pada generasi 1 mengingat bahwa jumlah dan viabilitas telur yang dihasilkan lebih rendah dibandingkan dengan kontrol.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini merupakan bagian dari penelitian "Penggunaan Entomopatogen untuk Meningkatkan Program Pengendalian Biologis" yang dibiayai oleh QUE Project Jurusan Biologi ITB tahun anggaran 1999/2000, untuk itu kami mengucapkan banyak terima kasih.

DAFTAR PUSTAKA

Ali, Abdul-Sattar & T.F. Watson. 1982. Survival of Tobacco Budworm (Lepidoptera: Noctuidae) Larvae after Short-Term Feeding Periods on Cotton Treated with *Bacillus thuringiensis*. *J. Econ. Entomol.* 75: 630–632.

Anggraeni, T. 1991. *Studies on Insect Immune Systems*. Ph.D Thesis. University of Wales, Swansea. 256 p.

Calow, P. 1981. Resources Utilization and Reproduction, p. 245–272. *In* Townsend, C.R. & P. Calow (eds.), *Physiological Ecology*. Sinauer, Sunderland, MA.

Gill, S.S., E.A. Cowles, & P.V. Pietrantonio. 1992. Mode of Action of *Bacillus thuringiensis* Endotoxin. *Annu. Rev. Entomol.* (37): 615–635.

Hassall, K.A. 1990. *The Biochemistry and Uses of Pesticides. Structure, Metabolism. Mode of Action and Uses in Crop Protection*. Macmilan, London. 536 p.

Hastowo, S., B.W. Lay & M. Ohba. 1992. Naturally Occuring *Bacillus thuringiensis* on the Alimentary Canal of the Sheep Louse, *Bovicola ovis*. *Journal of Invertebrate Pathology* 72 (1): 9–20.

McLeod, J.M. 1972. The Swaine Jack Pine Sawfly, *Neodiprion swaine*, Life System: Evaluating the Long-Term Effects of Insecticide Applications in Quebec. *Environ. Entomol.* 1: 371–381.

Pedigo, L.P. 1999. *Entomology and Pest Management*. Third Edition. Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ. 691 p.

Pfadt, R.E. 1985. *Fundamentals of Applied Entomology*. Fourth Edition. Macmillan Publishing Company, New York. 742 p.

Ramajohan, F., M.K. Lee & D.H. Dean. 1998. *Bacillus thuringiensis* Insecticidal Protein: Molecular Mode of Action. *Progress in Nucleic Research and Molecular Biology* 60: 1–23.

Slansky Jr., F. & J.G. Rodriguez. 1987. Nutritional Ecology of Insects, Mites, Spiders, and Related Invertebrates: an Overview, p. 1–69. *In* Slansky Jr., F. & J.G. Rodriguez (eds.), *Nutritional Ecology of Insects, Mites, Spiders, and Related Invertebrates*. John Willey & Sons, Canada.

Waterhouse, D.F. & K.R. Norris. 1987. *Biological Control Pacific Prospects*. Inkata Press, Melbourne. 454 p.