FORMULASI BIOINSEKTISIDA DARI BAKTERI BACILLUS THURINGIENSIS

Oleh

*Emmy Ratnawati *)*

Rahyani Ermawati

Rahayu Susilowati

Abstract.

Among the pathogenic bacteria, *Bacillus Thuringiensis* is the one of potential bacterial insecticides which has the capability in crystallizing protein in the cell as an entomoxycyn or active agent of bioinsecticides.

The advantages of bioinsecticides usage are toxic only to the insect target, and it is not creating bioinsecticides are toxic.

The commercial form of *Bacillus Thuringiensis* is made from the active bacteria agent as mixing of spora and protein crystal and carrier. The active bacteria agent prepared by two kinds of fermentation methods, sub merged fermentation and semi solid fermentation.

There are 7 bioinsecticide form available in Indonesia such as Granule, Flowable Concentrate, Wettable Powder, Suspension, Aqueous Suspension, Water Dispersible Granule and Ultra Low Volume. There product are not produce yet in Indonesia, just repacking for commercial purposes.

I. PENDAHULUAN.

Dalam PHT (Pengendalian Hama Terpadu) salah satu cara pengendalian yang banyak dianjurkan adalah pengendalian biologi yaitu pengendalian hama menggunakan organisme hidup sebagai musuh alaminya untuk membunuh sasaran. Penerapan PHT ini dirasakan perlu sehubungan dengan makin banyak laporan tentang akibat negatif penggunaan insektisida sintetik terhadap kesehatan manusia dan lingkungan. Berpijak dari kenyataan tersebut, pengembangan dalam mencari berbagai alternatif untuk pengendalian hama -

telah banyak dilakukan, salah satunya adalah penggunaan toksin bakteri *Bacillus Thuringiensis* sebagai bioinsektisida. Keuntungan penggunaan bioinsektisida mikroorganisme antara lain tidak menimbulkan pencemaran lingkungan, residu kimia dan sifat (toksik terhadap serangga sasaran). Dalam perannya sebagai pengganti insektisida kimia, insektisida mikroba harus memiliki sifat-sifat pestisida kimiawi yang menguntungkan seperti berdaya bunuh tinggi terhadap organisme sasaran, dapat diproduksi secara masal dalam skala industri, memiliki daya tahan yang lama, dan mudah ditransportasikan. Bentuk formulasi insektisida bakteri *Bacillus Thuringiensis* yang

*) Staf Peneliti

Balai Penelitian Pupuk dan Petrokimia

Balai Besar Industri Kimia

ada di Indonesia sampai saat ini ada 7 jenis yaitu : Granule (G), Flowable Concentrate (FC), Wettable Powder (WP), Suspension (S), Aqueous Suspension (AS), Water Dispersible Granule dan Ultra Low Volume (ULV), dimana semua bentuk formulasi tersebut belum ada yang diformulasi di dalam negeri. Semua formulasi komersial *Bacillus Thuringiensis* merupakan campuran antara bahan aktif bakteri dengan bahan pembawa (carrier). Bahan aktif itu sendiri merupakan campuran antara spora dan kristal protein.

II. BACILLUS THURINGIENSIS SEBAGAI INSEKTISIDA BIOLOGI (BIOINSEKTISIDA).

II.1. Struktur Dan Sifat Bakteri Bacillus Thuringiensis.

Bakteri patogenik ini pertama kali diisolasi oleh Berliner pada tahun 1915 dari ulat *Ephestia Kuhnella* Zell. Sel vegetatif bakteri berbentuk batang dengan kedua ujungnya tumpul. Sel-sel dapat bergerak dalam media setengah encer. Pada saat memperbanyak diri mereka masih melekat satu sama lain membentuk rantai. Jumlah sel yang membentuk rantai tidak sama. Kadang-kadang 5 - 6 sel atau lebih.

Di dalam medium agar tauge tanpa glukosa pertumbuhannya kurang subur, tetapi pembentukan spora telah mulai pada umur ± 46 jam. Ukuran sel vegetatif panjang 5 - 6 μ dan lebar 1,25 - 1,50 μ .

Sifat patogenitas dari *Bacillus Thuringiensis* sangat kompleks karena mempunyai beberapa bahan toksik yang dapat berinteraksi dengan beberapa cara tergantung pada jenis bakterinya. Komponen yang penting yang menyebabkan sifat patogen

adalah spora, kristal yang berupa α endotoksin α , β dan γ .

α endotoksin adalah kristal protein yang larut pada pH 9 - 10 untuk memproduksi toksin. Kristal ini memegang peranan penting dalam patogenitasnya karena efek langsung dari toksin ini adalah menyebabkan kerusakan integritas menekan sel epitel saluran pencernaan, sehingga menyebabkan septicemia yang diakhiri dengan kematian larva serangga tersebut.

II.2. Sasaran.

II.2.1. Cara Kerja (Mode of Action) Dari Bacillus Thuringiensis.

Bakteri ini menghasilkan endospora yang mampu bertahan dalam keadaan dorman atau pasif di luar inang. Apabila spora ini tertelan oleh inang akan tumbuh didalam perut spora membentuk sel dan berkembang dengan cepat merusak jaringan. Keadaan yang demikian dinamakan "Septicemia" Selama proses infeksi kondisi inang diperlemah oleh kristal protein. Selain mati inang menjadi kering, menyusut dan berwarna coklat kehitaman.

II.2.2. Faktor Yang Mempengaruhi Efektivitas Bakteri Bacillus Thuringiensis.

1. Cahaya.

Cahaya matahari merupakan faktor utama pada aplikasi yang menyebabkan *Bacillus Thuringiensis* tidak aktif sampai 50 % selama 30 menit dan 80 % selama 60 menit. Di laboratorium, spora bakteri ini bila diperlakukan dengan sinar ultra violet menunjukkan tidak ada kegiatan sampai 12

% selama 1 menit, 50 % selama 2 menit dan 99,9 % selama 10 menit.

2. S u h u.

Suhu berpengaruh selain terhadap serangga dan perkembangannya, juga terhadap spora bakteri. Suhu optimum untuk aplikasi dilapangan adalah 18°-20 °C, biasanya pada waktu sore hari atau cuaca mendung. Suhu yang lebih rendah atau lebih tinggi dari suhu optimum di atas dapat menurunkan efektifitasnya.

3. Faktor lain yang perlu dipertimbangkan agar penggunaan bakteri ini efektif adalah dosis, formulasi, kondisi lingkungan, serangga sasaran.

II.3. Metode Pembiakan Bakteri Bacillus Thuringiensis.

Sebelum diformulasi kedalam berbagai bentuk formulasi bioinsektisida, bakteri Bacillus Thuringiensis diproduksi masal atau dibiakkan dengan dua macam fermentasi yaitu cair (Submerged Fermentation) dan fermentasi semi padat (Semi Solid Fermentation). Kedua cara fermentasi ini masing-masing mempunyai kelemahan dan kelebihan. Hasil akhir dari fermentasi semi padat berupa bubuk yang mengandung semua toksin yaitu : α -endotoksin (kristal protein), γ , β dan α eksotoksin serta spora hasil akhir fermentasi cair hanya berupa campuran α - endotoksin dan spora. Dari segi jumlah toksin hasil fermentasi semi padat lebih efektif dari pada hasil fermentasi cair, tetapi hasil bubuk dan fermentasi semi padat sulit disuspensikan pada waktu akan dipakai -

dalam penyemprotan. Berbeda halnya dengan hasil fermentasi cair yang bisa langsung dipakai atau diendapkan terlebih dahulu untuk dikeringkan kemudian hasil ini bisa tersuspensi dengan baik.

II.3.1. Fermentasi Semi Padat.

Dalam fermentasi semi padat, Bacillus Thuringiensis ditumbuhkan dalam media cair yang terabsorpsi oleh permukaan partikel-partikel kecil dari suatu "carrier" Dengan jalan ini dicapai suatu ratio yang tinggi antara luas permukaan interfase gas cair dengan volume media, hingga aerasi bisa berjalan secara efektif. Jenis "carrier" yang biasa dipakai adalah dedak, gandum, bubuk jagung, kulit padi, tepung kelapa dan tepung alfalfa. "carrier" organik ini dicampur dengan "carrier" anorganik seperti batu apung, tanah diatomae dan lain-lain. "Carrier" organik dalam hal ini berperan juga sebagai sumber nutrisi. Kedua "carrier" ini dicampur dengan air dan sumber nutrisi lainnya, kemudian disterilkan dengan uap air jernih. Inokulum diberikan dari starter yang dibuat dengan fermentasi cair. Kelembaban dari campuran harus mencapai 50 - 70 %. Selama fermentasi campuran ini diacraasi dengan udara yang mempunyai kelembaban 80 - 100 %. Pada tahap akhir fermentasi, aerasi diganti dengan udara kering hingga kultur mengering sampai dicapai kadar air ± 4 %, baru dipanen. Kelebihan fermentasi semi padat adalah prosesnya tidak terlalu canggih sehingga biaya produksinya tidak setinggi fermentasi cair. Disamping itu proses ini tidak memerlukan sterilitas yang absolut.

II.3.2. Fermentasi Cair.

Pada proses ini biakan murni Bacillus Thuringiensis tumbuh dalam media cair dengan dispersi yang merata. Biasanya dengan memakai fermenter dengan ukuran berkisar 5 liter untuk skala lab sampai 200.000 liter untuk skala industri. Udara steril dimasukkan melalui dasar fermenter. Selama fermenter berjalan, kontrol terhadap suhu, pH, aerasi dan busa dilakukan dengan ketat untuk menjaga agar selalu dalam keadaan optimum. Dibandingkan dengan cara fermentasi semi padat, proses fermentasi cair dan cara memperoleh hasil akhir memerlukan biaya yang lebih mahal.

II.3.3. Kondisi Untuk Pertumbuhan Mikroba.

Bacillus Thuringiensis termasuk bakteri mesofil yang mempunyai kisaran suhu optimum antara 25 °C - 37 °C dengan suhu maksimum 45 ° - 55 °C. Batas-batas pH untuk pertumbuhan mikroba merupakan gambaran batas pH untuk kegiatan enzimnya. Umumnya bakteri hidup pada daerah pH sedang (batas pH 5 - 8) dan batas daerah pH tinggi (pH 8,4 - 9,5). Dalam fermentasi semi padat air sangat menentukan keberhasilan pertumbuhan sel Bacillus Thuringiensis. Kadar air optimum berkisar antara 50 % sampai 70 % tergantung pada varietas bakterinya dan "carrier" yang digunakan. Aerasi dibutuhkan untuk pertumbuhan sel bakteri, khususnya bagi bakteri aerob seperti Bacillus Thuringiensis. Oksigen bebas dibutuhkan sebagai akseptor elektron terakhir dalam proses oksidasi biologis selama pertumbuhannya.

II.3.4. Medium Fermentasi Sebagai Sarana Peningkatan Produksi Insektisida Bacillus Thuringiensis.

Produksi bioinsektisida Bacillus Thuringiensis dapat ditingkatkan dengan seleksi strain atau dengan mengatur medium. Salah satu faktor keberhasilan memperdagangkan insektisida Bacillus Thuringiensis adalah dengan pengembangan medium fermentasi. Aktivitas toksin dapat bervariasi tergantung pada jenis media yang digunakan. Produksi hasil fermentasi dalam medium non sintesis umumnya lebih baik dari pada dalam medium sintesis. Sebagai contoh ber macam limbah industri dan limbah pertanian, dapat digunakan sebagai medium fermentasi. Berdasarkan penelitian Scherrer et al (1973) yang membuktikan bahwa kenaikan konsentrasi glukosa dalam medium dapat memperbesar aktivitas insektisida Bacillus Thuringiensis, maka upaya mengganti glukosa dengan sumber karbon telah banyak dilakukan. Penggantian beberapa macam sumber karbon untuk fermentasi mampu memberi efek tambahan keuntungan dibandingkan bila hanya menggunakan satu macam sumber. Molase sebagai hasil samping industri gula mampu menyediakan sumber karbon yang sangat dibutuhkan mikroba, mudah didapat dan lebih murah bila dibandingkan dengan sumber karbon murni (glukosa atau dektrosa). Jenis-jenis media yang potensial di negara-negara berkembang antara lain ampas kelapa, molase, tepung jagung, tepung kedelai, tepung singkong dan tepung kentang.

III. FORMULASI PEMBASMI HAMA (INSEKTISIDA) DARI BACILLUS THURINGIENSIS.

III.1. Jenis Formulasi.

Sebagai mikroorganisme patogen serangga, *Bacillus Thuringiensis* telah dikenal -

sejak awal abad 20. Formulasi komersial pertama kali muncul dipasaran pada dekade tahun 1950 - 1960. Sejak tahun 1980 an di Indonesia tercatat beberapa merk dagang pestisida berbahan aktif *Bacillus Thuringiensis* yang terdaftar pada Komisi Pestisida seperti terlihat pada tabel 1 berikut :

Tabel 1. Daftar Pestisida Berbahan Aktif *Bacillus Thuringiensis* yang telah terdaftar di Indonesia

Varietas	Nama Produksi	Pemegang Pendaftaran
1. Aizawai	Centari Florbac FC Turex WP	PT. Abbot Indonesia PT. Sinarindo Kimianusa PT. Citraguna Saranatama
2. Israelensis	Beempe 12 AS Bactis WP Bactis S Bactimos WP Teknar 1500 AS Vectobac 4 G Vectobac 100 AS	PT. Montrose Pestindo Nusantara PT. Petrokimia Kayaku PT. Petrokimia Kayaku PT. Sinarindo Kimianusa PT. Sandi Aneka Warna PT. Abbot Indonesia PT. Abbot Indonesia
3.	Dipel WP Delfin WDG Bactospeine WP Bactospeine ULV Thuricide HP	PT. Abbot Indonesia PT. Sandi Aneka Warna PT. Sinarindo Kimianusa PT. Sinarindo Kimianusa PT. Sandi Aneka Warna

Sumber : Komisi Pestisida.

Semua formulasi komersial *Bacillus Thuringiensis* merupakan campuran antara bahan aktif bakteri dengan bahan pembawa (carrier) serta bahan tambahan lainnya. Bahan aktif itu sendiri merupakan campuran antara spora dan tubuh paraspora yang populer dengan nama kristal. Saat ini produk formulasi insektisida *Bacillus Thuringiensis* yang diperdagang-

kan umumnya berdasarkan strain dari alam yang mengandung spora yang masih aktif dan kristal protein yang toksik atau bersifat insektisida. Toksin dari kristal protein yang digunakan dalam formulasi ini sampai sekarang belum ada laporan tentang efek negatifnya terhadap lingkungan. Secara kimiawi kristal adalah protein yang labil terhadap pengaruh sinar matahari, baik

melalui sinar UV maupun suhu tinggi yang diakibatkan. Ini yang menyebabkan persistensi dan stabilitas Bacillus Thuringiensis di lapangan tidak lama. Oleh karena itu perlu adanya protektan yang dapat mengurangi efek sinar UV. Saat ini Monsanto dan Mycogen sedang mengembangkan produk baru Bacillus Thuringiensis diencapsulasi Pseudomonas Fluorescence untuk melindungi kristal Bacillus Thuringiensis dari radiasi UV. Bacillus Thuringiensis mempunyai beberapa varietas atau subspecies. Beberapa varietas mempunyai kisaran inang (serangga sasaran) yang berbeda. Biasanya produk formulasi komersial lama (sebelum tahun 1980) menggunakan varietas berliner atau krustaki yang terbatas kisaran inangnya. Produk formulasi yang lebih baik baru menggunakan varietas Aizawi yang mempunyai keunggulan efektif untuk mengendalikan hama yang tidak dapat dikendalikan oleh varietas berliner dan kuastaki.

III.2. Sifat Formulasi dan Bahan Penyusunnya.

Formulasi mikroba seperti Bacillus Thuringiensis mempunyai beberapa perbedaan dengan formulasi pestisida kimia karena mengandung beberapa bahan organik seperti protein yang diproduksi oleh mikroba dan sisa/residu media fermentasi, karbohidrat, gula dan garam. Bahan tambahan seperti stabilizer protein dan stabilizer mikroba ditambahkan seperti pada produk biologi lain. Disamping itu surfaktan, carrier, spreader dan sticker ditambahkan untuk menjamin kenampakan (appearance) pada saat pemakaian. Bahan baku berasal dari hasil yang keluar dari -

fermentasi berupa krim atau konsentrasi bubuk. Krim ini diproduksi dengan penguapan, ultrafikasi, sentrifusi, atau kombinasi dari ketiganya. Penambahan inert/carrier kedalam formulasi mempunyai berbagai tujuan. Inert mempunyai peranan yang dapat mempengaruhi dalam pemakaian, penanganan dan sifat dalam penyimpanan produk. Jenis inert dipilih sesuai dengan target yang akan dicapai dan metode pemakaian, serta tidak berpengaruh terhadap sifat biologi dari protein aktif. Ini berarti bahwa sifat racun (toksik) dari surfaktan, pelarut dan lainnya harus diperhatikan. Inert juga harus bersifat kompatibel dengan protein Bacillus Thuringiensis tidak berbahaya bagi manusia sehingga hasil formulasi akhirpun tidak beresiko terhadap manusia dan lingkungan. Misalnya untuk produk bentuk dust, harus dapat dijamin bahwa debu yang ditimbulkan tidak toksik terhadap manusia dan hewan. Untuk bentuk formulasi yang pemakaiannya dilarutkan, produk harus mudah untuk dituang dari wadah, mudah terdispersi dalam diluent dan tetap tersuspensi untuk waktu yang lama. Ini berarti bahwa viskositas, dispersibilitas dan suspensibilitas adalah parameter penting untuk formulasi di atas (Flowable Concentrate).

III.3. FORMULA DAN SPESIFIKASI DARI BEBERAPA BENTUK FORMULASI BACILLUS THURINGIENSIS.

III.3.1. Formulasi Insektisida Bacillus Thuringiensis bentuk Wettable Powder (WP).

BMP 123 (2 x WP) adalah formulasi

Bacillus Thuringiensis varietas *kurstaski* dalam bentuk wettable Powder.

Bahan aktif : <i>Bacillus Thuringiensis</i> -	
varietas <i>kurstaski</i>	: 6,4 %
Bahan inert (carrier)	: 93,6 %
Jumlah	: 100 %

Spesifikasi :

- Kenampakan	: Bubuk berwarna coklat sedang
- Bahan aktif	: Kristal protein <i>Bacillus Thuringiensis</i> varietas <i>kurstaski</i> , fermentasi padat, spora minimal 25 juta/gram.
- pH	: 6,0 - 7,0
- Dispersibilitas	: Mudah terdispersi dalam air
- Susapensibilitas	: tersuspensi baik dalam air
- Phytotoksitas	: Tidak ada
- Daya basah	: Basah sempurna < 30 detik (wettability).
- Daya simpan	: 2 tahun pada temperatur ruang
- Potensi insektisida	: 23000 ITU/mg.

III.3.2. Formulasi Bioinsektisida *Bacillus* Bentuk Aqueousa Suspensi.

BMP 144 (2 x AS) : adalah formulasi *Bacillus Thuringiensis* varietas *israelensis* dalam bentuk Aqueous Suspension.

Bahan aktif : <i>B. Thuringiensis</i> varietas-	
<i>israelensis</i>	: 1,2 %
Bahan inert :	: 98,8 %
Jumlah	: 100 %

Spesifikasi :

- Kenampakan	: Suspensi dalam air berwarna coklat muda
- Bahan aktif	: Kristal protein <i>B. Thuringiensis</i> varietas <i>israelensis</i> , fermentasi padat.
- Potensi insektisida	: 1200 ITU/mg
- S. Gravity	: 1,05
- pH	: 4,0 - 4,5
- Persen padatan	: 10 %
- Viskositas	: 600 cps pada suhu 25 °C
- Dispersibilitas	: Mudah terdispersi dalam air
- Susapensibilitas	: Tersuspensi baik setelah pengadukan
- Phytotoksitas	: Tidak ada
- Daya simpan	: 2 tahun pada temperatur ruang.

IV. KESIMPULAN.

1. Formulasi komersial bioinsektisida dari *Bacillus Thuringiensis* merupakan campuran antara bahan aktif spora yang masih aktif dan kristal protein serta bahan pembawa (carrier). Bahan carrier yang disarankan untuk formulasi adalah bahan inert yang tidak toksik dan tidak mempengaruhi mutu produk sampai saat aplikasi, handling dan penyimpanan. Bahan tambahan lain yang diperlukan dalam formulasi antara lain protein stabilizer, microbial stabilizers, surfactants, spreaders dan stickers. Formulasi bioinsektisida ini belum ada efek negatifnya terhadap lingkungan sampai saat ini.
2. Produksi formulasi yang lebih baru cenderung menggunakan varietas *Aizawai* yang mempunyai keunggulan efektif untuk mengendalikan hama yang tidak dapat dikendalikan oleh varietas *Berliner* dan *Kurstaski*.
3. Bentuk formulasi bioinsektisida dari *Bacillus Thuringiensis* yang ada di Indonesia sampai saat ini ada 7 jenis yaitu : Granule (G), Flowable Concentrate (FC), Wettable Powder (WP), Suspension (S), Aqueous Suspension (AS), Water Dispersible Granule (WDG) dan Ultra Low Volume (ULV). Semua bentuk formulasi tersebut belum ada yang diformulasi didalam negeri.

V. DAFTAR PUSTAKA.

1. Ali Sjamsuriputra, A. et al 1976. Evaluasi Penggunaan *Bacillus Thuringiensis* Berliner di Laboratorium Untuk Memasmi Hama Sayuran Larva *Plutella Maculipennis* Curtis dan *Crocidolomia Binotalis* Zael. Badan Riset Institut Teknologi Bandung.
2. Dulamage T, Yousten A.A, Singer S and Lacey L. A. 1990. Guidenlines for Production of *Bacillus Thuringiensis* H-14 and *Bacillus Sphaericus*. UNDP/WHO. Special Programme for Research and Training in Tropical Disease, New York.
3. Sarject S.G et al 1992. Mode of Action of *Bacillus Thuringiensis* Endotoxin Ann, Rev. Entomol.

-----00000000000000000000-----