

Isolation, Purification, and Toxicity Test of *Bacillus thuringiensis* from Cows Cage Soil Against *Drosophila melanogaster*

Syamsul Bahri^{*}, Lalu Zulkifli¹, Dewa Ayu Citra Rasmi¹, Prapti Sedijani¹

¹Biology Education Study Program, Faculty of Teacher Training and Education, University of Mataram, Indonesia

Article History

Received : December 02th, 2021

Revised : December 10th, 2021

Accepted : December 23th, 2021

Published : December 31th, 2021

*Corresponding Author:

Syamsul Bahri,

Biology Education Study Program, Faculty of Teacher Training and Education, University of Mataram, Indonesia

Email:

syamsulsalihu@gmail.com

Abstract : *Bacillus thuringiensis* is one of the bacteriae species that be able to kill insects. The latest research showed that the cell plasm of this bacteria contains crystalline protein with natural insecticides properties. Therefore the insecticidal effect of this species on insects which is decreasing cultivation plant production is interest to be examined. One of the insect species that are well-known causes of loss of farm production in fruit flies (*Drosophila melanogaster*). Therefore this research is designed to isolate, purify, and then assess *Bacillus thuringiensis* toxicity against *Drosophila melanogaster* as animal treatment. *Bacillus thuringiensis* was successfully isolated from soil of cows cage by using Lauria Bertani medium contain 0,25 M buffer solution Acetic, pH 6.8. The result shows that *Bacillus thuringiensis* isolate is a gram-positive bacteria. Position of endospore is located between the middle and the end of the cell (subterminal spore). Toxicity test was conducted by mixing 0.5 g/L, 1 g/L, 2 g/L, 4 g/L of pure *Bacillus thuringiensis* isolate into *Drosophila melanogaster* medium. The treatments effect were monitored for 15 consecutive days. Toxicity test shows that the treatment has no significant effect on the treated animal mortality. This result shows that crystal-producing *Bacillus thuringiensis* strain isolated from cows cage soil do not have insecticidal properties for *Drosophila melanogaster*. It is concluded that *Drosophila melanogaster* is a non-target species of *Bacillus thuringiensis*.

Keywords: *Bacillus thuringiensis*, *Drosophila melanogaster*, Toxicity test

Pendahuluan

Bacillus thuringiensis adalah salah satu spesies bakteri yang diketahui memiliki kemampuan membunuh serangga yang tergolong ke dalam ordo Lepidoptera, Diptera, Coleoptera dan Hymenoptera, serta nematoda (Schneep, *et al.*, 1998; Wei, *et al.* 2003). Penelitian yang dilakukan oleh Crickmore *et al.* (1998) menunjukkan bahwa bakteri ini bekerja sebagai insektisida alami dengan menggunakan protein kristal yang terkandung di dalam selnya. Dengan demikian bakteri ini menarik untuk diteliti lebih lanjut untuk mengetahui efektifitasnya terhadap spesies-spesies serangga hama seperti Lalat buah (Diptera: Tephritidae) *Drosophila melanogaster* yang mengganggu dan menurunkan produksi tanaman-tanaman budidaya. Lalat buah (Diptera: Tephritidae) termasuk salah satu hama potensial yang sangat merugikan produksi sayuran dan buah-buahan, baik dari sisi kualitas maupun kuantitas

(Copeland *et al.*, 2006). Jenis hama ini menjadi hama utama pada buah-buahan di seluruh dunia (Vargas *et al.*, 2005), termasuk di Indonesia (Siwi *et al.*, 2006). Berdasarkan PP Nomor 14 Tahun 2002, lalat buah termasuk Organisme Pengganggu Tumbuhan Karantina (OPTK) yang ditetapkan oleh Kementerian Pertanian untuk dicegah masuknya ke dalam dan tersebarnya di wilayah Negara Republik Indonesia (Suwanda, 2005).

Usaha yang diupayakan untuk mengatasi serangan lalat buah diantaranya dengan umpan protein (BAT), teknik jantan mandul (SIT), atraktan, pemanfaatan musuh alami, dan insektisida. Penggunaan insektisida kimia menjadi salah satu teknik pengendalian hama yang sangat berbahaya karena residunya akan mencemari lingkungan. Disamping itu, insektisida kimia menyisakan residu racun pada tanaman yang bila kemudian dikonsumsi oleh manusia dapat mengganggu kesehatan, atau bahkan mematikan. Oleh sebab itu penelitian-

penelitian yang terkait dengan penggantian insektisida kimia yang sangat berbahaya ini dengan insektisida alami penting dilakukan. Bahan insektisida alami dapat didaur ulang sehingga ramah lingkungan dan tidak menyebabkan dampak negatif jika diaplikasikan dalam dosis banyak seperti terjadinya resistensi hama ataupun toksik pada hasil pertanian (WHO, 1990; Hayes *et al*, 2006; Zheng, *et al*, 2016).

Penemuan, penggunaan, dan pengembangan insektisida alami dalam upaya pengendalian hama tanaman budidaya penting untuk segera dilakukan. Hal tersebut disebabkan karena insektisida kimia berpotensi merusak lingkungan dan mengganggu kesehatan konsumen. Hasil-hasil penelitian tentang penemuan dan pengembangan insektisida alami sangat penting untuk segera tersedia dalam upaya menekan atau bahkan menghindari penggunaan insektisida kimiawi. Penelitian ini dilakukan selama 8 bulan (Mei s/d Desember 2016) dengan tujuan mengisolasi, memurnikan, dan menguji toksisitas *Bacillus thuringiensis* terhadap lalat buah. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat digunakan untuk mengetahui teknik isolasi dan purifikasi *Bacillus thuringiensis*, serta kemungkinan pengembangannya sebagai insektisida alami dalam upaya pengendalian hama Lalat buah.

Bahan dan Metode

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei sampai Desember 2016. Pengambilan sampel tanah dilakukan di kandang sapi milik warga yang ada di daerah Sandik, Lombok Barat. Identifikasi, Isolasi dan Purifikasi serta Pengecatan Gram dan Spora dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi FKIP Universitas Mataram, sedangkan uji toksisitas dilakukan di Ruang Kultur *Drosophila* FKIP Universitas Mataram.

Adapun alat yang dibutuhkan pada penelitian ini adalah ose, tabung reaksi, tabung Erlenmeyer, kertas jagung, karet gelang, autoclave, laminar air flow, kaca preparat, petridish, mikro pipet, mikroskop, vortex, inkubator, pH meter, kamera, botol kultur *Drosophila*, Syring 50 ml. Bahan yang digunakan diantaranya sampel tanah sebanyak 10 gram, media nutrient agar, trypton (oxoid), yeast extract (oxoid), NaCl, larutan asam asetat, larutan

NaOH, iodin, safranin, kristal violet, aquadest, malachite green, spiritus, pisang, gula merah, agar-agar, dan ragi roti.

Koleksi Sampel sumber *Bacillus thuringiensis*

Diambil sebanyak 100 gram sampel tanah dengan kedalaman 20 cm dari atas permukaan tanah yang berada di daerah kandang sapi yang berada di Sandik. Kemudian dimasukkan kedalam kantong plastik berukuran 250 gram. Sampel tanah yang sudah ada diberikan label yang berisi keterangan tentang tanggal pengambilan dan lokasi pengambilan. Sebelum digunakan untuk isolasi bakteri dan pemurnian, sampel tanah tersebut disimpan dalam ruang dingin yang bersuhu 4⁰ C.

Isolasi dan Pemurnian *Bacillus thuringiensis*

Media yang digunakan dalam percobaan ini adalah Nutrient Agar (NA) modifikasi yang diperkaya ekstrak yeast 0,3% (b/v) sesuai metode (Brotonegoro *et al.*, 1997) yang berfungsi sebagai media isolasi, pemurnian dan pemeliharaan .

Induksi sporulasi

Untuk menginduksi terjadinya sporulasi maka kultur murni *Bacillus thuringiensis* di pelihara pada media yang mengandung tryptose. Dalam 2–5 hari *Bacillus thuringiensis* akan bersporulasi dalam media ini dengan pengocokan pada suhu 30°C



Uji toksisitas

Koloni *Bacillus thuringiensis* murni yang telah dikultur pada medium yang mengandung tryptose hingga mengalami sporulasi dicampur homogen dengan medium lalat buah hingga diperoleh 5 konsentrasi perlakuan yaitu 0,5 g/L, 1 g/L, 2 g/L, dan 4 g/L. Medium lalat buah terbuat dari campuran bubur pisang ambon, gula merah, tepung agar-agar, dan gist yang dimasak hingga mendidih selama 30 menit. Sebanyak 20 ekor imago *Drosophila melanogaster* dimasukkan ke dalam setiap botol medium untuk selanjutnya diamati tingkat mortalitasnya.



Hasil dan Pembahasan

Hasil yang diperoleh dari percobaan ini antara lain sbb;

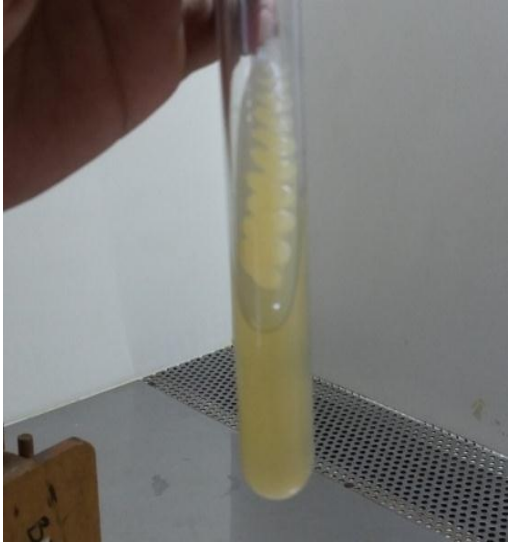
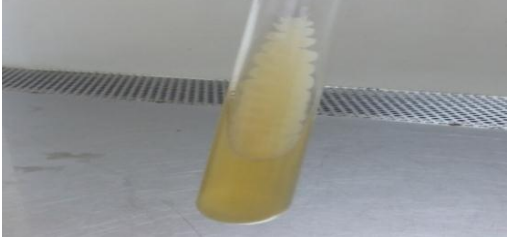
Tabel 1. Hasil Pengamatan Morfologi Bakteri pada Medium NA

Gambar	Keterangan
<p data-bbox="204 286 411 320">Pengenceran 10^{-1}</p> 	<p data-bbox="774 562 1321 629">Kedua gambar pengenceran 10^{-1} dan 10^{-2} memiliki ciri bentuk koloni yang sama maka:</p> <ol data-bbox="774 629 1321 831" style="list-style-type: none"> 1. Bentuk koloni : circular 2. Elevasi : effuse 3. Warna koloni : Putih kekuningan 4. Tepi koloni : entire 5. Kenampakan Permukaan Koloni: Sedikit kasar dan mengkilap
<p data-bbox="371 678 579 712">Pengenceran 10^{-2}</p> 	

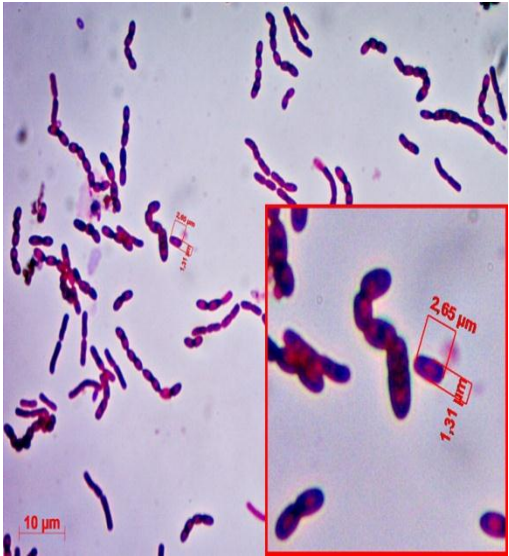
Tabel 2. Hasil Pengamatan Morfologi Bakteri pada Campuran Medium NA dengan LB Dapar Asetat


Gambar	Keterangan
<p data-bbox="371 1236 579 1270">Pengenceran 10^{-3}</p> 	<p data-bbox="774 1480 1321 1547">Kedua gambar penegnceran 10^{-3} dan 10^{-5} memiliki ciri bentuk koloni yang sama maka:</p> <ol data-bbox="774 1547 1321 1749" style="list-style-type: none"> 1. Bentuk koloni : circular 2. Elevasi : effuse 3. Warna koloni : Putih kekuningan 4. Tepi koloni : entire 5. Kenampakan Permukaan Koloni: Sedikit kasar dan mengkilap
<p data-bbox="204 1594 411 1628">Pengenceran 10^{-5}</p> 	

Tabel 3. Hasil Pengamatan Bakteri pada Medium LB Agar Miring

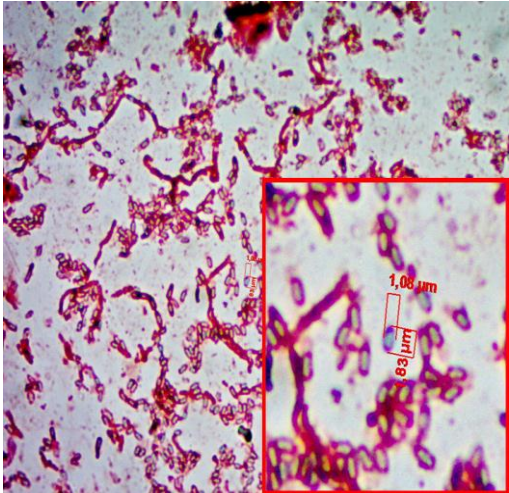
Gambar	Keterangan
<p data-bbox="193 275 762 315">Hasil Penelitian Penegnceran 10^{-3}</p> 	<p data-bbox="762 412 1331 517">Pada gambar terlihat bahwa kenampakan koloni mengkilap serta pertumbuhannya banyak.</p>
<p data-bbox="193 882 762 922">Hasil Penelitian Pengenceran 10^{-5}</p> 	<p data-bbox="762 987 1331 1093">Gambar kenampakan koloni gambar sama seperti gambar pada pengenceran 10^{-3} yaitu mengkilap dan banyak.</p>

Tabel 4. Hasil Pengecatan Gram

Gambar	Keterangan
<p data-bbox="193 1337 762 1377">Hasil Penelitian Pengenceran 10^{-3}</p> 	<p data-bbox="762 1413 1331 1644">Gambar dari hasil pengecatan gram pada sampel koloni dengan pengenceran 10^{-3} merupakan bakteri Gram Positif (+). Adapun ciri dari bakteri yang terlihat dari hasil pengecatan gram yaitu berbentuk batang dan juga terlihat ada spora yang terletak subterminal.</p>

<p>Hasil Penelitian Pengenceran 10^{-5}</p> 	<p>Sama pada gambar pada pengenceran 10^{-3}, gambar hasil pengencatan gram dari sampel koloni dengan pengenceran 10-5 merupakan bakteri gram positif terlihat bewarna ungu dengan ciri bakteri berbentuk batang dan terdapat spora pada bagian subterminal</p>
--	--

Tabel 5. Hasil Pengamatan Spora

Gambar	Keterangan
<p>Hasil Penelitian</p> 	<p>Spora yang tampak pada gambar setelah dilakukan pengecatan adalah yang berwarna hijau. Ciri dari spora yang tampak adalah terletak dibagian subterminal.</p>

Hasil uji toksisitas isolat *Bacillus thuringiensis* murni yang dicampurkan dengan medium lalat buah pada konsentrasi 0,5 g/L, 1 g/L, 2 g/L, dan 4 g/L tidak menunjukkan efek toksik pada imago *Drosophila melanogaster* hingga hari ke 15 pengamatan. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi, memurnikan, dan menguji toksisitas bakteri *Bacillus thuringiensis* dari tanah kandang sapi terhadap lalat buah. Untuk mengidentifikasi setiap mikroorganisme yang ada diperlukan teknik isolasi. Pada penelitian kali ini, sampel yang digunakan untuk mengisolasi bakteri adalah tanah kandang sapi yang berada di daerah Sandik, Lombok Barat.

Tekstur tanah cukup padat dan lembab sehingga memungkinkan untuk tumbuh bakteri *Bacillus thuringiensis* mengingat habitat alami dari bakteri *Bacillus thuringiensis* adalah pada tanah. Perlakuan pertama adalah menimbang sampel sebanyak 10 gram tanah kemudian dicampur dengan 90 ml aquadest dan di vortex hingga homogen. Setelah itu dipanaskan pada waterbath pada suhu 80°C selama 5 menit. Fungsi pemanasan adalah untuk menghilangkan bakteri lain selain *Bacillus thuringiensis* yang tidak mampu hidup pada suhu 80°C. Pengaruh suhu sangat penting bagi bakteri *Bacillus thuringiensis*. Setiap strain bakteri memiliki

rentang suhu pertumbuhan yang berbeda-beda sehingga suhu lingkungan menjadi salah satu faktor yang sangat penting menentukan kecepatan pertumbuhan bakteri. Bila berada di luar rentang suhu pertumbuhannya, akan berakibat pada melambatnya kecepatan pertumbuhan strain bakteri tersebut. Fenomena ini terkait dengan kinerja enzim. Ketika bakteri tersebut masih berada rentang suhu lingkungannya maka peningkatan suhu akan diikuti dengan kecepatan pertumbuhan. Suhu lingkungan yang lebih tinggi dari rentang suhu pertumbuhan akan menyebabkan denaturasi protein enzim yang berakibat pada turunya kinerja enzim yang berdampak pada melambatnya pertumbuhan bakteri.

Berdasarkan rentang suhunya, mikroba dikelompokkan kedalam 3 kelompok yaitu mikroba psikrofil, mikroba mesofil, dan mikroba termofil. Bakteri *Bacillus thuringiensis* termasuk dalam kategori termofilik, dengan rentang suhu pertumbuhan $40^{\circ}\text{C} - 75^{\circ}\text{C}$ dengan suhu optimum $55^{\circ}\text{C} - 60^{\circ}\text{C}$ (Hidayat, 2006). Suhu lingkungan maksimum *Bacillus thuringiensis* untuk dapat hidup hanya sampai $55^{\circ}\text{C} - 60^{\circ}\text{C}$, namun karena memiliki kemampuan membentuk endospora dalam lingkungan ekstrim, maka bakteri *Bacillus thuringiensis* mampu bertahan pada suhu tinggi. Setelah sampel tanah yang telah diencerkan dengan aquadest dipanaskan, selanjutnya dibuat seri pengenceran dengan konsentrasi $10^{-1} - 10^{-5}$. Tujuan dari pembuatan seri pengenceran adalah untuk mengurangi kepadatan jumlah bakteri yang akan diisolasi sehingga tidak terjadi spreader dan morfologi koloni bakteri dapat teramati dengan mudah. Setelah itu dilanjutkan dengan menginokulasi bakteri dari seri pengenceran ke dalam media NA yang mengandung nutrisi agar bakteri dapat tumbuh dengan optimal. Menurut Priadie, et al (2004) bahwa jenis media yang digunakan tergantung tujuan yang ingin dicapai. Hampir semua jenis medium kultur dapat ditumbuhi dengan baik oleh sejumlah spesies bakteri. Meskipun demikian beberapa spesies bakteri yang lain justru memerlukan medium kultur yang diperkaya dengan tambahan suplemen tertentu (Benson, 2001).

Pada penelitian yang dilakukan, bakteri *Bacillus thuringiensis* diinokulasikan menggunakan teknik *pour plate*, dan diinkubasi selama 1 hari pada suhu 28°C . Tujuan inkubasi adalah untuk mengoptimalkan pertumbuhan *Bacillus thuringiensis* sehingga morfologi koloni dapat diamati dengan jelas. Hasil pengamatan yang dilakukan setelah proses inkubasi selama 1

hari adalah terdapat koloni yang berbentuk circular, warna putih kekuningan dan kenampakan permukaan koloni sedikit kasar dan mengkilap (Tabel 1). Hasil yang ada menunjukkan bahwa ciri-ciri yang ditunjukkan adalah merupakan ciri-ciri *Bacillus thuringiensis* (Zeigler, 1999). Hasil koloni yang didapatkan pada media NA masih sangat padat dan menumpuk sehingga perlu dikultur untuk mendapatkan hasil yang lebih baik. Untuk lebih memastikan apakah koloni yang didapatkan pada media NA merupakan *Bacillus thuringiensis*, maka diambil satu ose koloni yang ada pada media NA dan dimasukkan ke dalam larutan LB dapar asetat 10 ml dengan pH 6,8.

Derajat keasaman medium (pH) turut berperan penting dalam menentukan pertumbuhan bakteri (Kataren, 1990). Perubahan pH medium jamak terjadi saat mikroba sedang bertumbuh. Perubahan pH tersebut bisa disebabkan oleh terbrtuknya ion amonium terkait dengan metabolisme protein atau asam amino. Pada mikroba tanah perubahan pH ini dapat menghentikan metabolisme mikroba yang bersangkutan (Lay, 1994). Benhard dan Utz (1993) menyatakan bahwa *Bacillus thuringiensis* dapat tumbuh pada medium yang memiliki pH pada kisaran 5.5 – 8.5 dan tumbuh optimum pada pH 6.5 – 7.5. Media LB dapar asetat dengan pH 6.8 yang digunakan merupakan media dengan pH optimum sehingga larutan ini merupakan media selektif dari *Bacillus thuringiensis*. Menurut Yusilman (2014) bahwa media selektif adalah media yang mampu menumbuhkan bakteri tertentu dan menghambat pertumbuhan bakteri lain (bakteri non target). Sehingga bakteri yang dapat hidup pada media selektif yang digunakan adalah bakteri *Bacillus thuringiensis*.

Setelah koloni tunggal dipindahkan kedalam media selektif, selanjutnya diinkubasi dengan cara digoyangkan pada kecepatan 150 rpm selama 1 hari. Setelah satu hari, terlihat hasil koloni berada di dasar tabung dan selanjutnya dipanaskan pada suhu 80°C selama 5 menit dan setelah itu divoetx agar homogen. Pemanasan dilakukan agar bakteri lain selain *Bacillus thuringiensis* tidak dapat hidup atau mati. Kemudian dilakukan penengenceran $10^{-1} - 10^{-5}$ agar mendapat hasil koloni yang bagus dan tidak terlalu padat dan selanjutnya ditumbuhkan ke media NA yang ditambah dengan larutan LB dapar asetat. Setelah itu diinkubasi selama 1 hari untuk melihat koloni yang tumbuh. Berdasarkan hasil inkubasi selama 1 hari didapatkan bahwa pada pengenceran 10^{-3} dan 10^{-5} terdapat koloni

yang tidak terlalu padat sehingga dapat teramati dengan baik. Berdasarkan hasil pengamatan didapatkan bahwa koloni pada media tumbuh merupakan koloni dari *Bacillus thuringiensis* dengan ciri-ciri yaitu bentuk circular berwarna putih kekuningan, kenampakan dari koloni mengkilap dan sedikit kasar (Zeigler, 1999). Hasil koloni yang didapatkan dapat terlihat pada tabel 4.2. Selanjutnya diambil satu ose koloni yang ada kemudian distreak pada media LB agar miring setelah itu diinkubasi selama 1 hari. Hasil yang didapatkan yaitu kenampakan koloni mengkilap dengan pertumbuhan yang banyak (Tabel 3).

Berdasarkan hasil pengamatan koloni, selanjutnya dilakukan pengecatan gram. Bakteri dapat dikelompokkan ke dalam kelompok gram positif atau kelompok gram negatif dengan teknik pewarnaan Gram (Waluyo, 2010). Dari hasil pewarnaan Gram yang telah dilakukan, sampel pada pengenceran 10^{-3} dan 10^{-5} merupakan bakteri gram positif. Pewarnaan Gram pada *Bacillus thuringiensis* yang telah dilakukan pada penelitian ini seperti yang disajikan pada table 4, berwarna keunguan dan berbentuk basil. Hal ini sesuai dengan literatur yang mengatakan bahwa *Bacillus thuringiensis* merupakan bakteri gram positif dan berbentuk basil dan dapat pembentukan spora (Hatmanti, 2000). Peptidoglikan, asam teikuronat serta asam teikoat yang terkandung dalam dinding sel bakteri Gram positif lah yang menentukan warna yang muncul pada bakteri golongan ini (Klien, *et al.*, 2007).

Selain pengecatan gram, pengecatan spora juga dilakukan untuk melihat adanya spora pada bakteri *Bacillus thuringiensis*. Hasil dari uji pewarnaan spora dapat terlihat dengan jelas pada Tabel 5 yaitu adanya spora yang terbentuk didalam sel berwarna hijau yang meneyarap larutan malachit green. Untuk mengamati spora dibutuhkan pewarna yang mampu menembus dinding spora yang tebal. Malachit green adalah salah satu jenis pewarna yang mampu menembus dinding spora bakteri. Untuk memperjelas pengamatan, sel vegetatif juga diwarnai dengan larutan safranin sehingga sel vegetatif bewarna merah. Dengan demikian ada atau tidaknya spora dapat teramati bahkan posisi spora dalam tubuh sel vegetatif juga dapat diidentifikasi. Asam duplikonat adalah senyawa khas yang selalu terkandung dalam semua spora bakteri. Senyawa ini hanya bisa diwarnai oleh pewarna tertentu, seperti malachite green (Volk & Wheeler, 1988).

Pada penelitian ini ukuran spora yang ada yaitu 1,83 μm dengan bentuk spora bulat memanjang dan terletak subterminal. Berbeda dengan jamur dan tumbuhan paku, spora bakteri tidak berperan dalam perkembangbiakan. Tipe spora pada bakteri bisa berupa endospora karena terbentuk di dalam sel, atau berupa eksospora karena terletak di luar sel. Bentuk spora juga bisa bervariasi, tergantung spesies bakterinya. Bentuknya bisa bulat atau bulat panjang (Waluyo, 2007). Diameter endospora bisa berukuran lebih besar atau lebih kecil dibandingkan dengan diameter sel induknya. Spora bakteri sebagian besar ditemukan pada bakteri tanah. Ukuran spora bisa berbeda pada spesies bakteri yang berbeda. Letaknya pun bisa bervariasi, di bagian tengah sel (sentral), di ujung sel (terminal), atau di dekat ujung sel (sub terminal). Identifikasi bakteri ikut ditentukan oleh ukuran dan letak spora tersebut (Pelczar & Chan, 1986). Pada awalnya bakteri penghasil endospora masih terbagi ke dalam 2 golongan yaitu genus *Clostridium* termasuk dalam golongan gram negatif, dan *Bacillus* yang termasuk ke dalam golongan gram positif. Setelah itu bakteri penghasil endospora kemudian dikelompokkan ke dalam 6 genus yaitu *Bacillus*, *Sporolactobacillus*, *Clostridium*, *Desulfotomaculum*, *Sporosarcina*, dan *Thermoactinomyces* (Hatmanti, 2000).

Kemampuan *Bacillus thuringiensis* bertahan hidup hingga beberapa generasi dalam kondisi yang ekstrim disebabkan oleh kemampuannya membentuk spora. Spora tersebut terbentuk melalui sintesis protoplasma baru di dalam sitoplasma sel vegetatifnya (Pelczar, 1986). Tahapan pembeentukan spora bakteri atau sporulasi terbagi ke dalam tujuh tahap. Proses ini diawali dengan terhentinya proses penggandaan DNA dan diakhiri dengan penghancuran dinding sel secara enzimatik untuk membebaskan spora (Ray, 2004). Hasil uji toksisitas isolat *Bacillus thuringiensis* murni yang dicampurkan dengan medium lalat buah pada konsentrasi 0,5 g/L, 1 g/L, 2 g/L, dan 4 g/L tidak menunjukkan efek toksik pada imago *Drosophila melanogaster* hingga hari ke 15 pengamatan. Hal tersebut menunjukkan bahwa imago *Drosophila melanogaster* bukan merupakan spesies target isolat *Bacillus* yang diperoleh.

Kesimpulan

Berdasarkan tujuan dari penelitian ini, maka kami dapat menyimpulkan yaitu sebagai

berikut: 1). *Bacillus thuringiensis* berhasil diisolasi dari tanah daerah kandang dengan menggunakan media selektif Luria Bertani (LB) yang mengandung larutan dapar asetat 0,25 M dengan pH 6,8. 2). Isolat *Bacillus thuringiensis* yang diperoleh menunjukkan karakteristik dari bakteri gram-positif dan memiliki spora yang terletak pada bagian subterminal. 3). Isolat *Bacillus thuringiensis* murni yang dicampurkan dengan medium lalat buah pada konsentrasi 0,5 g/L, 1 g/L, 2 g/L, dan 4 g/L tidak menunjukkan efek toksik pada imago *Drosophila melanogaster* hingga hari ke 15 pengamatan.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kami sampaikan kepada semua pihak yang telah membantu pelaksanaan kegiatan Penelitian ini. Ucapan terima kasih juga ditujukan kepada Bapak Rektor Universitas Mataram, Ketua Lembaga Pengabdian kepada masyarakat Universitas Mataram dan Dekan FKIP Universitas Mataram.

Referensi

- Bravo, A., S. Sarabia, L. Lopez, H. Ontiveros, C. Abarca, A. Ortiz, L.Lina, F.J. Villalobus, G. Pena, M. Nunez-Valdez, M. Soberon, & R. Quintero. (1998). Characterization of cry genes in a Mexican *Bacillus thuringiensis* strain collection. *Appl. Environ. Microbiol.* 64(12): 4965-4972
- Brotonegoro, S., Sutrisno., Sugiarto, B., Listanto, B., & Santoso. (1997). *Perbaikan Sifat Beberapa Isolat Bacillus thuringiensis untuk Mendukung pemanfaatannya sebagai Insektisida Mikroba*. Laporan Hasil Penelitian APBN. Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan Bogor.
- Copeland RS., RA. Wharton, Q. Luke, MD. Meyer, S. Lux, N. Zenz, P. Machera and M. Okumu (2006). Geographic Distribution, Host Fruit, and Parasitoids of African Fruit Fly Pest *Ceratitis anonae*, *Ceratitis cosyra*, *Ceratitis fasciventris*, and *Ceratitis rosa* (Diptera: Tephritidae) in Kenya. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 99(2) : 261-278 (2006).
- Crickmore N., DR. Zeigler., J. Feitelson., E. Schnep., J Van Rie., D. Lerectus., J. Baum., DH. Dean. 1998. *Bacillus thuringiensis* toxin nomenclature. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 62: 807-813
- Deptan (2002). *Panduan Lalat Buah*. http://www.deptan.go.id/ditlinhorti/makalah/lalat_buah.htm. Diakses 13 September 2005.
- Hayes TB., P. Case., S. Chui., D. Chung., C. Haeffele., & K. Haston. (2006). Pesticide mixtures, endocrine disruption, and amphibian declines: are we underestimating the impact? *Environ Health Perspect*, 114: 40-50
- Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P.H.A., Stanley, J.T., & William, S.T. (1994). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Maryland USA, William & Wilkins.
- Hammanti, A. (2000). *Pengenalan Bacillus sp.* Puslitbang Oseanologi LIPI, Jakarta
- Mummigati & Raghunatan (1990). Influence of Media Composition on the Production of Delta-endotoxin by *Bacillus thuringiensis* var israeliensis. *J. Intervent. Pathol.* 55: 147 – 155
- Pigott (2008). *Ciri-Ciri Bacillus thuringiensis (Bt)*. <http://digilib.unila.ac.id/1943/7BAB%2011.pdf>. Diakses pada 29 Oktober 2015
- Schnep. E., N. Crickmore., J. Van Rie., D. Lerectus., J. Baum., J. Feitelson., DR. Zeigler., & DH. Dean (1998). *Bacillus thuringiensis* and its pesticidal crystal protein. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 62 (3); 775-806
- Siwi SS., P. Hidayat, & Suputa (2006). *Taksonomi dan Bioekologi Lalat Buah Penting, Bactrocera spp. (Diptera : Tephritidae) di Indonesia*. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik, Bogor
- Suwanda (2005). *Karantina Pertanian Negara Kepulauan*. Sosialisasi Karantina, Cirebon 29 Nopember 2005.

- Swadener, C. (1994). *Bacillus thuringiensis*. *Journal of Pesticides Reform*, 14(3): 13 – 20. Northwest Coalition for Alternative to Pesticides. Ottawa
- Vargas RI., JD. Stark, B. Mackey and R. Bull. (2005). Weathering Trials of Amulet Cue-Lure and Amulet Methyl Eugenol “Attract-and-Kill” Stations with Male Melon Flies and Oriental Fruit Flies (Diptera:tephritidae) in Hawaii. *J. Econ. Entomol.* 98(5): 1551-1559 (2005).
- Wei JZ., K. Hale., L. Carta., E. Platzer., C. Wong., SC. Fang., & RV. Aroian (2003). *Bacillus thuringiensis* crustal protein that target nematodes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 100(5): 2760-2765
- White IM and MM Elson-Harris (1992). *Fruit Flies of Economic Significance : Their Identification and Bionomics*. CABI and ACIAR, UK.
- World Health Organization (1990). *Public Health Impact of Pesticides Used in Agriculture*. England: World Health Organization
- Zeigler, D.R. (1999). *Bacillus Genetic Stock Center of Strains, Part 2: Bacillus thuringiensis and Bacillus cereus*. The Ohio University. Ohio.
- Zheng S., B. Chen B., X. Qiu., M. Chen., Z. Ma., & X. Yu (2016). Distribution and risk assessment of 82 pesticides in Jiulong River and estuary. *Chemosphere*, 144: 1177 - 1192