

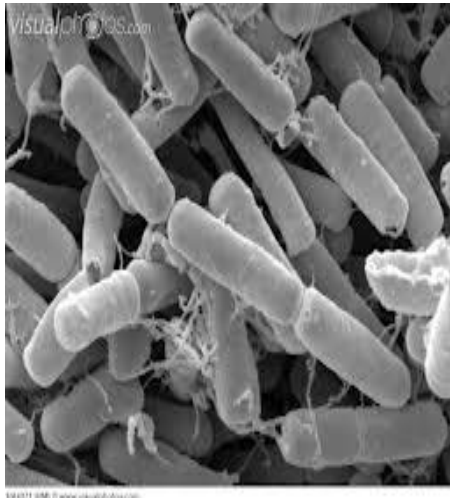
II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Umum Bakteri *Bacillus thuringiensis* (Bt)

Bacillus thuringiensis (Bt) merupakan bakteri gram-positif, berbentuk batang, dan tersebar secara luas di berbagai negara. Bakteri ini termasuk patogen fakultatif dan dapat hidup di daun tanaman konifer maupun dalam tanah. Apabila kondisi lingkungan tidak menguntungkan maka bakteri ini akan membentuk fase sporulasi. Saat sporulasi terjadi, tubuhnya akan terdiri dari protein Cry yang termasuk ke dalam protein kristal yang disebut δ -endotoksin. Apabila serangga memakan toksin tersebut maka serangga tersebut dapat mati. Oleh karena itu, protein atau toksin Cry dapat dimanfaatkan sebagai pestisida alami (Bravo, *et al.*, 1998).

Berbagai macam spesies Bt telah diisolasi dari serangga golongan Koleoptera, Diptera, dan Lepidoptera, baik yang sudah mati maupun dalam kondisi sekarat. Bangkai serangga sering mengandung spora dan *Insecticidal Crystal Protein* (ICP) Bt dalam jumlah besar. Bakteri ini juga didapatkan dari air, permukaan tumbuhan, dan biji-bijian (Bravo, *et al.*, 1998). Pada lingkungan dengan kondisi yang baik dan nutrisi yang cukup, spora bakteri ini dapat terus hidup dan melanjutkan pertumbuhan vegetatifnya.

B. Klasifikasi Bakteri *Bacillus thuringiensis* (Bt)



Gambar 1. *Bacillus thuringiensis*

Kerajaan	: Prokariota
Filum	: Bakteria
Kelas	: Bacilli
Bangsa	: Bacillales
Keluarga	: Bacillaceae
Marga	: <i>Bacillus</i>
Jenis	: <i>Bacillus</i>

thuringiensis

(Holt, *et al.*, 1994).

C. Ciri-Ciri *Bacillus thuringiensis* (Bt)

Bacillus thuringiensis (Bt) merupakan bakteri gram-positif yang mempunyai sel vegetatif berbentuk batang dengan ukuran panjang 3-5 µm dan lebar 1,0-1,2 µm serta memiliki flagella. Spora Bt berbentuk oval, letaknya subterminal, berwarna hijau kebiruan, dan berukuran 1,0-1,3 µm (Bravo, *et al.*, 1998). Spora mengandung asam dipikolinik dan terbentuk dengan cepat pada suhu 35°-37°C. Suhu optimum untuk pertumbuhan Bt berkisar antara 10°-50°C (Hatmanti, 2000).

Ciri khas yang terdapat pada Bt adalah kemampuannya membentuk kristal (*parasporal body*) bersamaan dengan pembentukan spora, yaitu pada waktu sel mengalami sporulasi. Kristal tersebut merupakan kompleks protein yang

mengandung toksin (δ - endotoksin) yang terbentuk di dalam sel 2-3 jam setelah akhir fase eksponensial dan baru keluar dari sel pada waktu sel mengalami autolisis setelah sporulasi sempurna (Pigott, *et al.*, 2008).

Toksisitas *Bt* terhadap serangga dipengaruhi oleh strain bakteri dan spesies serangga yang terinfeksi. Faktor yang mempengaruhi toksisitas *Bt* adalah struktur kristalnya, yang pada salah satu strain mempunyai ikatan yang lebih mudah dipecah oleh enzim yang dihasilkan serangga dan ukuran molekul protein yang menyusun kristal, serta susunan molekul asam amino dan kandungan karbohidrat dalam kristal. Selama pertumbuhan vegetatif terjadi, berbagai galur *Bt* menghasilkan bermacam-macam antibiotik, enzim, metabolit, dan toksin, yang dapat merugikan organisme lain. Pengembangan bioinsektisida *Bt* didasarkan pada kemampuan *Bt* dalam menghasilkan kristal protein yang toksik terhadap serangga sasaran. Oleh karena itu, *Bt* tidak toksik terhadap tumbuhan, manusia ataupun organisme yang bukan sasarannya (Brotonegoro, *et al.*, 1997).

Menurut Swadener (1994), terdapat 34 subspecies *Bt* yang disebut serotype atau varietas *Bt* telah diisolasi. Sifat δ -endotoksin dari *Bt* tersebut dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu komposisi protoksin dan nilai nutritif media kultur yang bersangkutan (Mummigatti, 1990).

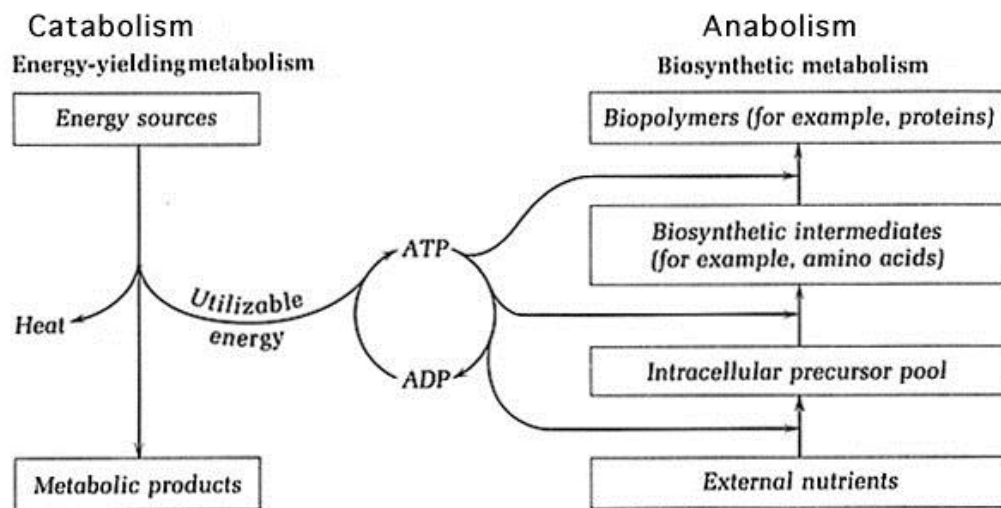
D. Toksisitas *Bacillus thuringiensis* (Bt) Pada Larva Insekta

Bacillus thuringiensis (Bt) merupakan bakteri yang paling banyak digunakan untuk produksi bioinsektisida dan paling penting secara ekonomi, sehingga bioinsektisida komersial Bt digunakan secara luas untuk mengendalikan larva hama serangga (Feitelson, *et al.*, 1992). Bt yang dikomersialkan dalam bentuk spora membentuk inklusi bodi. Inklusi bodi ini mengandung kristal protein yang dikeluarkan pada saat bakteri lisis pada masa fase *stationary*. Bt memiliki kristal protein yang mengandung gen toksik yang disebut dengan gen Cry. Kristal protein yang bersifat insektisida ini sebenarnya hanya protoksin yang jika larut dalam usus serangga akan berubah menjadi polipeptida yang lebih pendek sehingga bersifat toksik. Toksin yang telah aktif berinteraksi dengan sel-sel epitelium di usus tengah serangga sehingga menyebabkan terbentuknya pori-pori di sel membran saluran pencernaan serangga (Bahagiawati, 2002).

Proses toksisitas kristal protein (δ -endotoksin) sebagai bioinsektisida dimulai ketika serangga memakan kristal protein tersebut, maka kristal tersebut akan larut di dalam usus tengah serangga. Dengan bantuan enzim protease pada pencernaan serangga, maka kristal protein tersebut akan terpecah struktur kristalnya. Toksin aktif yang dihasilkan akan berinteraksi dengan reseptor pada sel-sel epitelium usus tengah larva serangga, sehingga akan membentuk pori-pori kecil berukuran 0,5 – 1,0 nm. Hal ini akan mengganggu keseimbangan osmotik sel di dalam usus serangga. Larva akan berhenti makan dan akhirnya mati (Gill *et al.*, 1992).

E. Metabolisme *Bacillus thuringiensis* (Bt)

Bacillus thuringiensis (Bt) sebagai makhluk hidup melakukan serangkaian reaksi metabolisme di dalam selnya. Metabolisme terdiri dari proses sintesis (anabolisme) antara lain sintesis enzim dan proses penguraian (katabolisme) diantaranya fermentasi, proteolitik, lipolitik, yang dikatalis oleh enzim (Darkuni, 2001).



Gambar 2. Metabolisme *Bacillus thuringiensis* (Bt)

Bt yang berasal dari habitat yang berbeda memiliki perbedaan sifat metabolisme yang dilihat dari karakter biokimianya. Hasil penelitian Jamilah (2011), menyatakan bahwa isolat *Bacillus sp* yang digunakan untuk degradasi sisa pakan pada budidaya udang termasuk ke dalam bakteri amilolitik dan proteolitik. *Bt* termasuk bakteri proteolitik dari genus *Bacillus* yang memproduksi enzim protease ekstraseluler.

Menurut penelitian Baehaki, *et al.* (2011), isolat *Bt* yang diisolasi dari tanah rawa Indralaya, Sumatera Selatan memiliki indeks proteolitik >1 dengan aktivitas protease sebesar 0,385 U/ml. Berbeda dengan hasil penelitian Susanti (2003), yang menyatakan bahwa isolat *Bacillus spp* dari pencernaan ayam broiler memiliki aktivitas protease sebesar 0,010 U/ml.

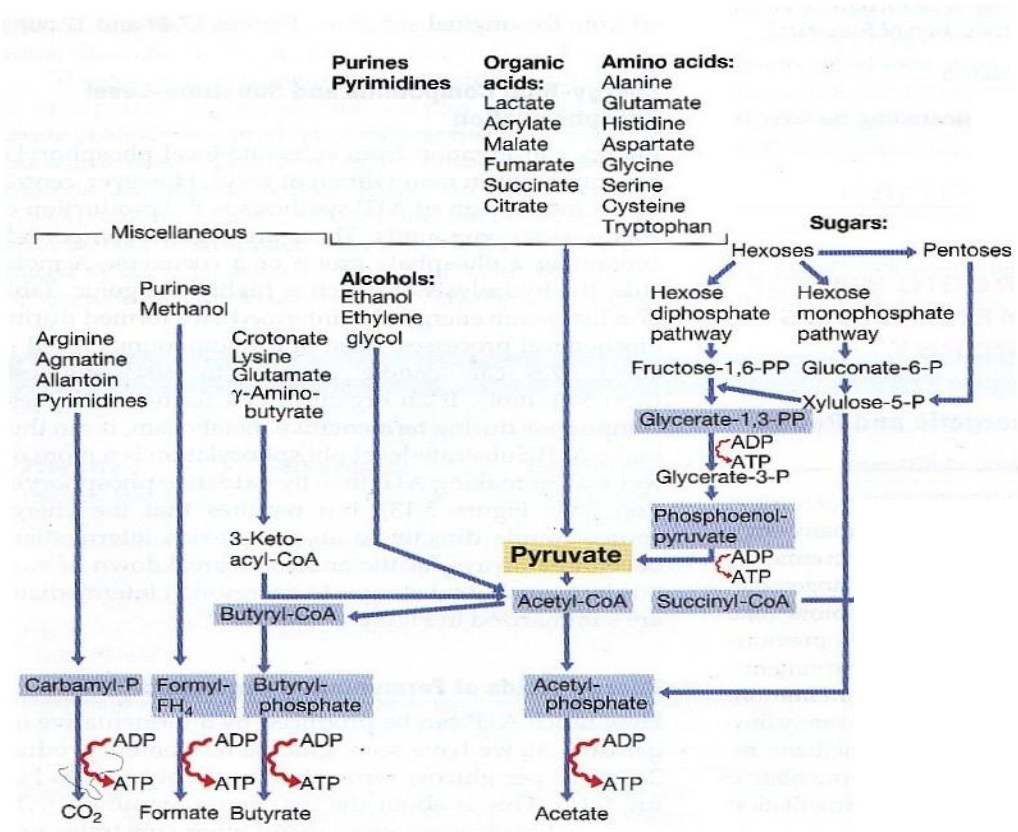
Enzim protease ekstraseluler adalah enzim yang digunakan untuk memecah protein yang diproduksi di dalam sel kemudian dilepaskan keluar dari sel. Aktivitas proteolitik merupakan tingkat keaktifan enzim untuk menghidrolisis protein. Semua bakteri mempunyai enzim protease di dalam sel, tetapi tidak semua mempunyai enzim protease ekstraseluler. Melalui suatu sistem enzim yang kompleks, *Bt* memecah protein menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana (Rao, *et al.*, 1998).

Pemecahan protein menjadi bentuk yang sederhana (asam amino) dari substrat bertujuan agar dapat diserap oleh *Bt*. Enzim protease adalah enzim yang mengubah proteosa, pepton, dan polipeptida menjadi asam amino.

Proteosa itu sendiri adalah suatu modifikasi dari asam amino yang susunannya lebih sederhana daripada susunan asam amino dalam protein sehingga dapat lebih mudah diubah menjadi asam amino penyusunnya.

Untuk mengubah protein menjadi proteosa, pepton, dan polipeptida diperlukan bantuan dari enzim pepsin (Rao, *et al.*, 1998).

Di alam, *Bt* tidak hanya bersifat aerob, tetapi juga bersifat anaerob fakultatif, artinya *Bt* dapat tetap hidup pada lingkungan dengan sedikit atau tanpa oksigen. Untuk mendapatkan energi pada kondisi lingkungan yang miskin oksigen, *Bt* akan melakukan proses fermentasi. Fermentasi merupakan proses produksi energi dalam sel dalam keadaan anaerobik (tanpa oksigen). Karbohidrat merupakan bahan yang umum dalam fermentasi. Umumnya, proses fermentasi menghasilkan asam dan gas atau hanya asam saja (Adawyah, 2007).



Gambar 3. Proses fermentasi

Oleh karena *Bt* termasuk ke dalam bakteri fermentatif, maka *Bt* dapat digolongkan menjadi bakteri homofermentatif dan bakteri heterofermentatif. Bakteri homofermentatif hanya menghasilkan sedikit atau bahkan sama sekali

tidak menghasilkan CO₂. Jalur metabolisme yang digunakan pada bakteri homofermentatif adalah lintasan Embden-Meyerhof-Parnas (Fardiaz, 1989). Bakteri heterofermentatif melakukan fermentasi campuran yaitu selain menghasilkan asam laktat, juga menghasilkan etanol, asam asetat dan CO₂ (Desmazeaud, 1996).

Keberadaan *Bt* dalam tanah mengindikasikan bahwa *Bt* juga berperan dalam proses dekomposisi. Salah satunya melalui proses hidrolisis selulosa yang berasal dari unsur organik seperti seresah daun di tanah. Selulosa merupakan polisakarida yang terdiri dari beberapa molekul glukosa. Selulosa akan diuraikan oleh enzim selulase menjadi selobiosa dan glukosa sehingga dapat diserap oleh *Bt* sebagai sumber karbon dan sumber energi (Ni'mah, 2012).

F. Tanah Naungan dan Bakteri Tanah

Tanah tersusun dari komponen anorganik yaitu mineral, air, dan udara, serta komponen organik diantaranya seresah daun. Jumlah komponen-komponen tersebut berbeda-beda pada setiap jenis dan lapisan tanah (Kurniawan, 2010). Tanah naungan merupakan tanah yang berada dibawah kanopi tumbuhan baik yang berukuran besar maupun yang berukuran kecil. Adanya kanopi menyebabkan intensitas cahaya lebih sedikit, suhu lebih rendah, kandungan air dan unsur hara yang lebih banyak dibandingkan dengan tanah yang tidak dinaungi. Hal ini yang menyebabkan bakteri di dalam tanah naungan lebih banyak daripada tanah yang tidak dinaungi (Perez, 2010).

Perbedaan vegetasi yang menutupi tanah juga dapat mempengaruhi sifat-sifat tanah diantaranya pH tanah. Adanya variasi jenis-jenis vegetasi pada lahan secara umum dapat berpengaruh terhadap sifat-sifat tanah dan hubungan timbal balik ekosistem. Perbedaan sifat akibat tipe vegetasi penutup tanah yang berbeda secara langsung berpengaruh terhadap distribusi bahan organik tanah dan aktivitas bakteri tanah (Barchia, *et al.*, 2007).