

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI YANG BERASOSIASI
DENGAN WERENG COKLAT (*Nilaparvata lugens* Stal.) YANG
BERPOTENSI MENDEGRADASI INSEKTISIDA IMIDAKLOPRID
DAN TRIFLUMEZOPYRIM**

(Skripsi)

Oleh

**Sherly Nur Jannah
2014191018**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2024**

ABSTRAK

ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI YANG BERASOSIASI DENGAN WERENG COKLAT (*Nilaparvata lugens* Stal.) YANG BERPOTENSI MENDEGRADASI INSEKTISIDA IMIDAKLOPRID DAN TRIFLUMEZOPYRIM

Oleh

SHERLY NUR JANNAH

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keberadaan, karakteristik, dan identitas bakteri simbiosis wereng coklat yang dapat menggunakan insektisida imidakloprid dan triflumezopyrim sebagai sumber karbonnya. Penelitian ini dilaksanakan pada Oktober 2023 sampai April 2024 di Laboratorium Bioteknologi Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Sebanyak sepuluh isolat bakteri diduga memiliki kemampuan untuk mendegradasi insektisida imidakloprid dan triflumezopyrim yang digunakan dalam penelitian ini. Karakterisasi dan identifikasi dilakukan berdasarkan hasil uji biokimia dan analisis sekuen 16S rDNA. Hasil uji biokimia menunjukkan bahwa sepuluh isolat bakteri bersifat gram negatif, oksidatif dan fermentatif, negatif hipersensitif, negatif *soft rot*, dan empat isolat bakteri mampu menggunakan beberapa bahan organik seperti *D-melibiose*, *D-raffinose*, *Tri sodium citrate dihydrate*, *Strach*, *D-arabinose*, *Glycerol*, *5-Ketogluconate*, *Inulin*, *Mannitol*, *Myo-inositol*, *Ascorbic acid*, dan *Lactose*. Hasil uji konfirmasi kemampuan bakteri untuk mendegradasi insektisida pada media air steril dan *potato broth* (PB) menunjukkan bahwa terdapat empat isolat bakteri (TL2.1, TL2.2, TL2.3, dan TL2(2).2) memiliki nilai absorbansi perlakuan lebih tinggi dibandingkan kontrol yang menunjukkan terjadinya pertumbuhan bakteri pada media yang ditambahkan insektisida triflumezopyrim, sedangkan pada media *ayer's* terdapat satu isolat bakteri yaitu TL2.3 yang mampu menggunakan insektisida triflumezopyrim sebagai sumber karbonnya. Hasil analisis sekuen 16S rDNA menunjukkan bahwa representasi bakteri simbiosis pada wereng coklat yang mampu mendegradasi insektisida triflumezopyrim adalah *Pseudomonas hibiscicola* dan *Serratia marcescens*.

Kata kunci: imidakloprid, *Pseudomonas hibiscicola*, *Serratia marcescens*, simbiosis, triflumezopyrim.

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI YANG BERASOSIASI
DENGAN WERENG COKLAT (*Nilaparvata lugens* Stal.) YANG
BERPOTENSI MENDEGRADASI INSEKTISIDA IMIDAKLOPRID
DAN TRIFLUMEZOPYRIM**

Oleh

SHERLY NUR JANNAH

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA PERTANIAN

pada

**Jurusan Proteksi Tanaman
Fakultas Pertanian Universitas Lampung**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2024**

Judul skripsi

**: ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI
YANG BERASOSIASI DENGAN WERENG
COKLAT (*Nilaparvata lugens* Stal.) YANG
BERPOTENSI MENDEGRADASI
INSEKTISIDA IMIDAKLOPRID DAN
TRIFLUMEZOPYRIM**

Nama Mahasiswa

: Sherly Nur Jannah

Nomor Pokok Mahasiswa

: 2014191018

Jurusan

: Proteksi Tanaman

Fakultas

: Pertanian



Dr. Yuyun Fitriana, S.P., M.P.
NIP 198108152008122001

Dr. Radix Suharjo, S.P., M.Agr.
NIP 198106212005011003

2. Ketua Jurusan Proteksi Tanaman

Dr. Tri Maryono, S.P., M.Si.
NIP 198002082005011002

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua

: Dr. Yyun Fitriana, S. P., M. P.



.....

Sekretaris

: Dr. Radix Suharjo, S. P., M. Agr.

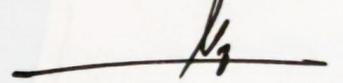


.....

Penguji

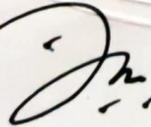
Bukan Pembimbing

: Ir. Solikhin, M.P.



.....

2. Dekan Fakultas Pertanian



Dr. Kuswanta Futas Hidayat, M.P.

NIP. 0641181989021002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 3 Juni 2024

SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertandatangan di bawah ini, menyatakan bahwa skripsi saya yang berjudul **“ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI YANG BERASOSIASI DENGAN WERENG COKLAT (*Nilaparvata lugens* Stal.) YANG BERPOTENSI MENDEGRADASI INSEKTISIDA IMIDAKLOPRID DAN TRIFLUMEZOPYRIM”** merupakan hasil karya sendiri dan bukan hasil karya orang lain. Semua hasil yang tertuang dalam skripsi ini telah mengikuti kaidah penulisan karya ilmiah Universitas Lampung. Apabila di kemudian hari terbukti bahwa skripsi ini merupakan hasil salinan atau dibuat oleh orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan ketentuan akademik yang berlaku.

Bandar Lampung, 13 Juni 2024

Penulis,



Sherly Nur Jannah
NPM 2014191018

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di kota Bandar Lampung, Provinsi Lampung pada tanggal 25 Oktober 2002. Penulis merupakan anak kedua dari tiga saudara, dari Bapak Saryono dan Ibu Suarni. Penulis telah menyelesaikan pendidikan di TK Al Huda pada tahun 2008, SDN 4 Sumberejo pada tahun 2014, SMPN 14 Bandar Lampung pada tahun 2017, dan SMAN 7 Bandar Lampung pada tahun 2020. Pada tahun 2020, penulis terdaftar sebagai mahasiswa Jurusan Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung, melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN).

Pada tahun 2021 penulis melaksanakan Praktik Pengenalan Pertanian di Kecamatan Kemiling, Kota Bandar Lampung. Pada tahun 2023 penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata di Desa Mekarjaya, Kecamatan Gedung Surian, Kabupaten Lampung Barat. Pada tahun yang sama penulis juga melaksanakan Merdeka Belajar – Kampus Merdeka (MBKM) di PT Perkebunan Nusantara VII Unit Cinta Manis, Desa Ketiau, Kecamatan Lubuk Keliat, Kabupaten Ogan Ilir. Penulis pernah aktif dalam organisasi Himpunan Mahasiswa Proteksi Tanaman (HIMAPROTEKTA) sebagai anggota bidang Kewirausahaan (2022/2023). Selama menjadi mahasiswa, penulis pernah menjadi asisten praktikum mata kuliah Fisiologi Tumbuhan (2023), Bakteriologi Tumbuhan (2024), dan Bioteknologi Proteksi Tanaman (2024).

PERSEMBAHAN

Dengan penuh rasa syukur kupersembahkan karya ini sebagai ungkapan terima kasih kepada :

1. Kedua orang tuaku tercinta, Bapak Saryono dan Ibu Suarni, dengan semua pengorbananmu, ketulusan dan kemuliaan hatimu yang telah memberikan semua yang terbaik, mendidik, mendoakan, dan curahan kasih sayangmu kepada penulis.
2. Adikku tersayang, Adam Zidane Al Bukhori terimakasih atas segala doa dan dukungannya selama ini kepada penulis.
3. Almamater tercinta Universitas Lampung tempat penulis menempuh studi.

MOTTO

“Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya.”

(Q.S Al-Baqarah : 286)

“Sesungguhnya bersama kesulitan itu ada kemudahan, maka apabila kamu telah selesai (dari suatu urusan), tetaplah bekerja keras (untuk urusan yang lain).”

(Q.S Al-Insyirah : 6-7)

“Selalu ada harga dalam sebuah proses. Nikmati saja lelah-lelahmu itu. Lebarakan lagi rasa sabar itu. Semua yang kau investasikan untuk menjadikan dirimu serupa yang kau impikan, mungkin tidak akan selalu lancar. Tapi, gelombang-gelombang itu yang nanti bisa kau ceritakan.”

(Boy Candra)

SANWACANA

Puji syukur atas kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“Isolasi dan Karakterisasi Bakteri yang Berasosiasi dengan Wereng Coklat (*Nilaparvata lugens* Stal.) yang Berpotensi Mendegradasi Insektisida Imidakloprid dan Triflumezopyrim”**.

Selama penelitian dan penyusunan skripsi ini penulis banyak mendapatkan bantuan dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin mengucapkan terimakasih kepada :

1. Dr. Ir. Kuswanta Futas Hidayat, M.P., selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Lampung yang memfasilitasi mahasiswa Fakultas Pertanian Universitas Lampung untuk melaksanakan penelitian.
2. Dr. Tri Maryono, S.P., M.Si., selaku Ketua Jurusan Proteksi Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Lampung yang telah memberikan saran, dukungan, dan doa.
3. Dr. Yuyun Fitriana, S.P., M.P., selaku pembimbing utama yang telah memberikan ilmu, dukungan, bimbingan, nasihat, masukan, dan saran selama proses penelitian dan penyusunan skripsi,
4. Dr. Radix Suharjo, S.P., M.Agr., selaku pembimbing kedua yang telah memberikan ilmu, dukungan, bimbingan, nasihat, masukan, dan saran selama proses penelitian dan penyusunan skripsi,
5. Ir. Solikhin, M.P., selaku pembahas dan sekaligus menjadi pembimbing akademik yang telah memberikan ilmu, motivasi, masukan, saran, dan bantuan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik,
6. Kedua orang tuaku Bapak Saryono dan Ibu Suarni yang selalu mendampingi,

memberikan kasih sayang, semangat, dukungan, saran, masukan, nasihat, dan doa yang tiada hentinya sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi ini dan dapat menyelesaikan pendidikan di Universitas Lampung,

7. Adikku tersayang, Adam Zidane Al Bukhori yang telah mendoakan dan memberi semangat kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini,
8. Trinily Squad, Putri Dwi Cahya dan Rani Puspitasari yang selalu memberikan bantuan, doa, dan semangat kepada penulis,
9. Partner penelitian, Aditya Ayu Prasyanti atas seluruh bantuan, motivasi, dan semangat selama penulis melaksanakan penelitian,
10. Mba Tariyati, Mba Yeyen, dan Bang Nando, selaku kakak-kakak Laboratorium Bioteknologi yang telah membantu penulis dalam penelitian ini,
11. Teman-teman seperjuangan biotek 2020, Amanda Nur Latifa, Bagekinita Br Brahmana, Daniel Putra Perdana, Fauziah Rizky Nurfadillah, Holy Martin Rubintang, Noni Dahlia, Maryana, Rosma Nurzi, Ummu Afifah, dan Ummu Khairun Nisa, serta seluruh anggota Laboratorium Bioteknologi yang telah memberikan dukungan dan motivasi selama melaksanakan penelitian,
12. Cima Asloy, Nora Apriska Verdiana, Mila Syafa Gusriyan, dan Yopi Almuhayat atas segala bantuan dan kebersamaan yang telah diberikan kepada penulis,
13. Wonder Woman, Angelia Maisa Parawai, Eva Rahmawati, Izmi Suci Casmayati, Madina Putri Maharani, dan Nora Apriska Verdiana atas dukungan dan motivasi yang telah diberikan kepada penulis,
14. Keluarga Proteksi Tanaman 2020 atas kepedulian, bantuan, dan rasa kekeluargaan selama ini, dan
15. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, baik langsung maupun tidak langsung yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
16. Dan yang terakhir, kepada perempuan sederhana namun terkadang sangat sulit dimengerti isi kepalanya, sang penulis sebuah karya tulis ini, diri saya sendiri, Sherly Nur Jannah. Seorang perempuan yang berumur 21 tahun saat menciptakan karya tulis ini namun terkadang sifatnya seperti anak kecil pada umumnya. Terima kasih telah hadir di dunia walaupun mungkin tidak sedikit

yang tidak ikut serta merayakan hadirmu di dunia namun selalu bersyukur karena banyak pula manusia yang dengan bahagia merayakan kehadiranmu di dunia. Terima kasih sudah bertahan sejauh ini melewati banyaknya rintangan hidup yang tidak tertebak adanya. Terima kasih tetap memilih hidup dan merayakan dirimu sendiri sampai di titik ini, walaupun seringkali merasa putus asa atas apa yang diusahakan dan belum berhasil namun terima kasih tetap menjadi manusia yang selalu mau berusaha dan tidak lelah mencoba. Berbahagialah selalu dimanapun berada, Sherly. Rayakan selalu kehadiranmu di dunia lewat semua hal yang membuatmu hidup. Pastikan jiwamu selalu menjadi bagian dari hal baik di alam semesta, semoga engkau lahir berkali-kali.

Bandar Lampung, Juni 2024
Penulis,

Sherly Nur Jannah
NPM 2014191018

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian	2
1.3 Kerangka Pemikiran	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Tanaman Padi	5
2.2 Wereng Coklat	6
2.3 Resistensi Wereng Coklat terhadap Insektisida	8
2.4 Simbion dan Kemampuannya untuk Mendegradasi Insektisida	9
2.5 Insektisida Imidakloprid	10
2.6 Insektisida Triflumezopyrim	10
III. METODE PENELITIAN	11
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	11
3.2 Alat dan Bahan	11
3.3 Pelaksanaan Penelitian	12
3.3.1 Persiapan Penelitian	12
3.3.2 Isolasi Bakteri Wereng Coklat	13
3.3.3 Pemurnian Bakteri	14
3.3.4 Karakterisasi Bakteri	14

3.3.5 Konfirmasi Kemampuan Isolat Bakteri untuk Mendegradasi Imidaklopid dan Triflumezopyrim	17
3.3.6 Identifikasi Molekuler	19
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	22
4.1 Hasil Penelitian	22
4.1.1 Hasil Isolasi Bakteri Wereng Coklat	22
4.1.2 Isolat Bakteri yang Diduga Mampu Mendegradasi Insektisida ...	22
4.1.3 Karakteristik Isolat Bakteri yang Diduga Mampu Mendegradasi Insektisida	24
4.1.4 Uji Biokimia	25
4.1.5 Konfirmasi Kemampuan Isolat Bakteri untuk Mendegradasi Insektisida Imidaklopid dan Triflumezopyrim	27
4.1.6 Uji Kemampuan Menggunakan Beberapa Jenis Bahan Organik	30
4.1.7 Identifikasi Molekuler	32
4.2 Pembahasan	32
V. SIMPULAN DAN SARAN	37
5.1 Simpulan	37
5.2 Saran	37
DAFTAR PUSTAKA	38

DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
1. Hasil isolasi bakteri dari Wereng Coklat	22
2. Hasil isolasi bakteri yang diduga mampu mendegradasi insektisida	23
3. Karakteristik isolat bakteri Wereng Coklat yang diperoleh	24
4. Nilai absorbansi isolat bakteri Wereng Coklat pada media air steril yang mengandung insektisida triflumezopyrim.....	28
5. Nilai absorbansi isolat bakteri Wereng Coklat pada media air steril yang mengandung insektisida imidakloprid	28
6. Nilai absorbansi isolat bakteri Wereng Coklat pada media <i>potato broth</i> yang mengandung insektisida triflumezopyrim	29
7. Nilai absorbansi isolat bakteri Wereng Coklat pada media <i>potato broth</i> yang mengandung insektisida imidakloprid.....	29
8. Hasil uji kemampuan bakteri Wereng Coklat dalam menggunakan berbagai jenis bahan organik	31

DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
1. Zona bening zona bening dan atau halo berwarna putih di sekitar koloni bakteri yang terbentuk pada media YPA + insektisida yang telah diinokulasi dengan beberapa isolat bakteri : IL4(2).3, IL5(2).2, IL10(2).1, IL10(2).2, TL2.1, TL2.2, TL2.3, TL2(2).1, TL2(2).2, dan TL4.	23
2. Bentuk koloni bakteri hasil isolasi, (a) Bulat dan (b) Iregular.	24
3. Hasil uji gram negatif yang ditunjukkan dengan terbentuknya lendir yang tidak terputus.	25
4. Hasil uji oksidatif/fermentatif, (a) Bakteri aerob (oksidatif), (b) Bakteri anaerob (fermentatif).	26
5. Hasil negatif pada uji hipersensitif pada daun tembakau menunjukkan tidak terbentuknya gejala nekrotik pada daun.	26
6. Hasil negatif pada uji <i>soft rot</i> menunjukkan tidak membusuknya permukaan umbi kentang yang telah diinokulasikan isolat bakteri.	27
7. Isolat bakteri mampu menggunakan insektisida triflumezopyrim.	30
8. Perubahan warna media setelah diinokulasi isolat bakteri.	31
9. Pohon filogeni hasil analisis sekuens 16S rDNA yang dibuat dengan metode Maximum Likelihood.	32

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Padi merupakan tanaman pangan penting yang telah menjadi makanan pokok sebagian besar penduduk dunia. Di Indonesia, padi menjadi komoditas utama dalam menyokong pangan masyarakat (Sanjaya dkk., 2022). Berdasarkan data Badan Pusat Statistik (2022), produksi padi pada tahun 2021 yaitu sebesar 54,42 juta ton Gabah Kering Giling (GKG) atau turun sebesar 233,91 ribu ton (0,43%) dibandingkan produksi padi tahun 2020.

Penurunan produksi padi salah satunya disebabkan oleh hama. Wereng coklat (*Nilaparvata lugens*) merupakan salah satu hama yang menyerang tanaman padi (Alima'fuad dan Jadmiko, 2023). Hama ini sangat merugikan tanaman padi di Indonesia dengan luas serangan mencapai 2,5 juta ha (Oesman, 2020). Populasi *N. lugens* yang tinggi dapat menimbulkan puso/mati terbakar (*hopperburn*) (Senewe dkk., 2020). Sebagian besar petani di Indonesia menggunakan insektisida kimia untuk mengendalikan hama wereng coklat. Namun, penggunaan insektisida kimia memiliki beberapa dampak negatif terhadap komponen ekosistem lain (Mokoginta and Tumbelaka, 2021).

Resistensi hama merupakan salah satu dampak negatif yang ditimbulkan dari penggunaan insektisida yang kurang bijaksana (Trisnaningsih, 2015). Resistensi merupakan suatu fenomena evolusi yang disebabkan oleh seleksi pada serangga yang diberi perlakuan insektisida secara terus menerus (Alfiah, 2011). Durasi proses resistensi pada serangga terhadap insektisida sangat bervariasi, dari hanya satu sampai dua tahun, hingga puluhan tahun. Resistensi insektisida berkembang

setelah adanya proses seleksi yang berlangsung selama banyak generasi (Ishartadiati, 2022).

Insektisida golongan neonikotinoid seperti imidakloprid telah digunakan untuk mengendalikan wereng sejak pertengahan tahun 1990-an di Asia Timur dan Indochina. Namun, diketahui bahwa insektisida tersebut menimbulkan resistensi terhadap wereng di Asia Timur dan Indochina (Matsumura and Sanada-Morimura, 2010). Triflumezopyrim, insektisida golongan mesoionik baru telah menimbulkan resistensi yang rendah terhadap wereng coklat di Cina (Liao *et al.*, 2020).

Resistensi wereng coklat terhadap insektisida disebabkan oleh banyak faktor. Selain mutasi, resistensi wereng coklat diduga terkait dengan adanya bakteri simbiosis dalam tubuh wereng coklat yang mampu menggunakan senyawa insektisida menjadi sumber karbon untuk proses pertumbuhan, sehingga wereng coklat resisten terhadap insektisida (Baehaki dkk., 2016).

Insektisida imidakloprid dan triflumezopyrim merupakan insektisida yang banyak digunakan di Indonesia. Dugaan resistensi akibat dari aplikasi insektisida tersebut sudah banyak dilaporkan. Hingga saat ini, informasi tentang bakteri simbiosis pendegradasi insektisida berbahan aktif imidakloprid dan triflumezopyrim pada wereng coklat belum pernah dilaporkan. Oleh karena itu, penelitian ini perlu dilakukan untuk mempelajari kemungkinan keberadaan bakteri simbiosis pada hama wereng coklat yang mampu menggunakan insektisida imidakloprid dan triflumezopyrim sebagai sumber karbonnya.

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Mempelajari keberadaan bakteri simbiosis wereng coklat yang dapat menggunakan insektisida imidakloprid dan triflumezopyrim sebagai sumber karbonnya,
2. Mempelajari karakteristik bakteri simbiosis wereng coklat yang dapat menggunakan insektisida imidakloprid dan triflumezopyrim sebagai sumber karbonnya, dan

3. Mengidentifikasi bakteri simbiosis wereng coklat yang dapat menggunakan insektisida imidakloprid dan triflumezopyrim sebagai sumber karbonnya.

1.3 Kerangka Pemikiran

Simbiosis merupakan interaksi antara makhluk hidup satu dengan yang lainnya dalam suatu lingkungan hidup yang dapat berupa mutualisme, komensalisme, dan parasitisme (Widiyati dkk., 2009). Simbiosis antara bakteri dengan serangga telah diketahui memberikan dampak biologis pada inangnya. Mikroorganisme yang ada pada tubuh serangga bertujuan untuk mendegradasi beberapa senyawa atau nutrisi dari tumbuhan yang tidak dapat dicerna secara langsung oleh serangga. Dengan adanya bakteri simbiosis dapat meningkatkan proses pencernaan dengan menyediakan enzim-enzim pencernaan yang dapat mendegradasi senyawa tersebut (Dillon and Dillon, 2004). Tang *et al.* (2010) melaporkan bahwa bakteri yang berasosiasi dengan berbagai populasi wereng coklat telah diidentifikasi merupakan anggota filum Proteobacteria, Firmicutes, Actinobacteria dan Bacteroidetes. Ditemukan juga bakteri simbiosis pada kutu daun (*Myzus persicae*) yaitu *Buchnera aphidicola*, *Wolbachia*, *Rickettsia*, *Arsenophonus*, *Serratia symbiotica*, *Regiella insecticola*, *Hamiltonella defensa*, dan *Spiroplasma* (Xu *et al.*, 2021) serta *Wolbachia*, *Cardinium*, dan *Asaia* pada wereng punggung putih (*Sogatella furcifera*) (Li *et al.*, 2019).

Boush and Matsumura (1967) melaporkan adanya degradasi organofosfat oleh *Pseudomonas melophthora* yang merupakan bakteri simbiosis dari *Rhagoletis pomonella*. Penelitian ini menunjukkan degradasi enam bahan aktif insektisida yang berbeda oleh bakteri yang terkait dengan serangga. Degradasi insektisida juga dilaporkan terhadap fenitrothion, pestisida golongan organofosfat oleh *Burkholderia* sp. yang merupakan bakteri simbiosis dari *Riptortus pedestris*. Bakteri ini dapat mendegradasi fenitrothion dan menggunakannya sebagai sumber karbon yang baik untuk pertumbuhannya (Kikuchi *et al.*, 2012).

Resistensi wereng coklat terjadi diduga juga disebabkan oleh adanya mikroorganisme simbiosis pada wereng coklat sehingga dapat mendegradasi

insektisida yang diaplikasi. Berbagai bakteri dilaporkan dapat mendegradasi pestisida dan menggunakannya menjadi nutrisi utama dan sumber energi dalam metabolisme bakteri (Pratiwi dan Asri, 2022). Sulaeman dkk. (2016) melaporkan bahwa kemampuan isolat bakteri dalam mendegradasi insektisida dapat disebabkan karena isolat tersebut mampu beradaptasi di media yang tercemar oleh insektisida dan memanfaatkan insektisida tersebut sebagai sumber karbon untuk pertumbuhannya.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Padi

Padi (*Oryza sativa* L.) merupakan tanaman pangan utama di Indonesia. Produksi padi menempati urutan pertama dari komoditas tanaman pangan lain di Indonesia. Tingkat konsumsi dan produksi padi menempati urutan pertama dari komoditas tanaman pangan lainnya (Mahmud dan Purnomo, 2014). Menurut *Integrated Taxonomic Information System* (2021a), klasifikasi padi adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Division : Tracheophyta
Class : Magnoliopsida
Order : Poales
Family : Poaceae
Genus : *Oryza* L.
Species : *Oryza sativa* L.

Padi termasuk dalam tanaman Graminae dengan ciri akar serabut. Akar primer muncul bersamaan dengan akar lainnya yang disebut akar seminal saat berkecambah. Kemudian, akar adventif yang tumbuh dari buku terbawah batang dan menggantikan akar seminal. Pada saat tanaman padi memasuki fase reproduktif terjadi pemanjangan pada beberapa ruas batang. Daun tanaman padi berbentuk lanset dengan urat tulang daun sejajar dan tertutupi oleh rambut yang halus dan pendek. Pada bagian batang teratas terdapat daun bendera dengan ukuran lebih lebar dibandingkan dengan daun bagian bawah (Makarim dan Suhartatik, 2007).

Bunga pada tanaman padi disebut malai. Tiap unit bunga pada malai disebut spikelet. Bunga tanaman padi terdiri dari tangkai, bakal buah, lemma, palea, putik, benang sari, dan beberapa organ lainnya yang bersifat inferior. Tiap unit bunga pada malai terletak pada cabang-cabang bulir yang terdiri dari cabang primer dan cabang sekunder. Tiap unit bunga padi adalah floret yang terdiri dari satu bunga. Satu bunga terdiri dari satu organ betina dan enam organ jantan (Makarim dan Suhartatik, 2007). Padi mengalami tiga fase pertumbuhan yaitu fase vegetatif, fase reproduktif, dan fase pematangan. Fase vegetatif berlangsung dari awal pertumbuhan hingga pembentukan malai, fase reproduktif berlangsung dari pembentukan malai hingga pembungaan. Sedangkan fase pematangan berlangsung dari pembungaan hingga gabah matang (Muhtar dan Purwandhi, 2019).

2.2 Wereng Coklat

Wereng coklat (*Nilaparvata lugens* Stal.) merupakan salah satu hama utama pada tanaman padi. Serangan wereng coklat dapat menyebabkan tanaman padi menjadi mati atau mengurangi produksi, sehingga menyebabkan kerugian bagi petani (Sembiring dan Mendes, 2022). Menurut *Integrated Taxonomic Information System* (2021b), klasifikasi wereng coklat adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Phylum	: Arthropoda
Class	: Insecta
Order	: Hemiptera
Family	: Delphacidae
Genus	: Nilaparvata
Species	: <i>Nilaparvata lugens</i> Stal.

Wereng coklat mengalami siklus hidup tidak sempurna. Siklus hidup tidak sempurna ini dikenal dengan istilah paurometabola. Siklus hidup paurometabola mengalami fase telur, nimfa dan imago. Lama stadia telur wereng coklat berkisar antara 6-8 hari, nimfa 13-15 hari, dan imago 9-24 tergantung varietas padi yang

menjadi inangnya. Fase nimfa dan imago wereng coklat sama-sama menyerang padi dengan cara menusuk dan menghisap di bagian pangkal batang padi (Wati dkk., 2021).

Selama hidupnya, wereng betina dapat menghasilkan sebanyak 270-902 butir telur. Telur berbentuk lonjong berwarna putih kecoklatan dengan ukuran 1,3 x 0,33 mm yang biasanya ditempatkan pada pelepah daun. Peletakan telurnya dilakukan secara berkelompok dengan jumlah telur tiap kelompok antara 3-21 butir. Telur menetas menjadi nimfa instar pertama antara 7-11 hari. Nimfa mengalami lima kali pergantian kulit (instar) dengan rata-rata waktu yang diperlukan untuk menyelesaikan stadium nimfa adalah 12,8 hari. Nimfa dapat berkembang menjadi dua bentuk wereng dewasa. Bentuk pertama adalah bersayap panjang (*makroptera*), sedangkan bentuk kedua adalah bersayap kerdil (*brakhiptera*). Biasanya wereng brakhiptera bertubuh lebih besar dan memiliki tungkai serta peletak telur lebih panjang (Nurbaeti dkk., 2010). Wereng coklat memiliki tubuh berwarna coklat kekuningan hingga coklat tua. Imagonya ada yang bersayap (*macroptera*) dan tidak bersayap (*brachyptera*). Terdapat bintik berwarna hitam di bagian pertemuan sayap imago wereng tersebut. Telur wereng coklat berbentuk lonjong dan ditempatkan berkelompok pada daun tanaman padi (Wati dkk., 2021).

Wereng coklat dapat menyerang pada pertanaman padi yang telah berumur 10-20 hari setelah tanam. Wereng coklat merusak tanaman dengan cara menghisap cairan pada batang hingga tanaman padi menjadi layu dan kering. Di lapangan, gejala kerusakan yang terlihat yaitu berubahnya warna daun dan batang tanaman menjadi kuning, coklat jerami, dan akhirnya seluruh tanaman seperti disiram air panas berwarna kuning coklat dan mengering (*hopperburn*). Apabila menyerang pada fase generatif akan menyebabkan terjadinya puso (gagal panen). Selain itu, wereng coklat juga berperan sebagai vektor penyakit kerdil rumput (*grassy stunt*) dan kerdil hampa (*ragged stunt*) (Nurbaeti dkk., 2010).

2.3 Resistensi Wereng Coklat terhadap Insektisida

Penggunaan pestisida kimia untuk mengendalikan hama memiliki dampak negatif terhadap ekosistem setempat. Dampak negatif tersebut antara lain: resistensi hama, resurgensi, penumpukan residu bahan kimia di dalam hasil panen, terbunuhnya musuh alami, pencemaran lingkungan oleh residu bahan kimia dan kecelakaan operasi bagi pengguna pestisida kimia (Nurmianti dan Gusmarwani, 2020).

Salah satu dampak negatif yang ditimbulkan akibat penggunaan pestisida seperti insektisida adalah munculnya resistensi pada serangga hama. Resistensi serangga terhadap insektisida didefinisikan sebagai meningkatnya kemampuan strain serangga untuk mentolerir dosis racun yang dapat membunuh sebagian besar individu-individu di dalam populasi yang normal dari spesies yang sama. Resistensi membuat serangga hama menjadi tahan terhadap insektisida. Hal tersebut, biasanya timbul sebagai akibat penggunaan satu jenis insektisida secara terus-menerus dalam waktu yang cukup lama (Purnama, 2015).

Menurunnya kemampuan insektisida untuk mengendalikan hama merupakan tanda terjadinya resistensi. Resistensi adalah peningkatan populasi suatu hama karena proses seleksi yang berlangsung selama beberapa generasi dan memiliki kemampuan untuk tetap hidup meskipun terpapar satu atau lebih senyawa insektisida. Resistensi terhadap insektisida terjadi melalui proses seleksi alami yang dipercepat, sehingga menghasilkan populasi baru yang mempunyai gen-gen resisten (Untung, 1993 dalam Purnama, 2015). Proses ini terjadi karena frekuensi penggunaan pestisida yang sangat intensif, sehingga membunuh individu yang peka dalam populasi, sedangkan individu yang resisten akan bertahan hidup, dan berkembangbiak. Kejadian ini akan berulang dari generasi ke generasi, sehingga populasi didominasi oleh individu resisten (Purnama, 2015).

Beberapa laporan menyebutkan bahwa wereng coklat resisten terhadap beberapa jenis insektisida. Baehaki dkk. (2016) melaporkan bahwa wereng coklat di Sukamandi, Jawa Barat telah resisten terhadap insektisida imidakloprid, buprofezin, tiametoksam, dan sipermethrin. Sedangkan wereng coklat di Juwiring,

Jawa Tengah telah resisten terhadap insektisida imidakloprid, etiprol, buprofezin, fipronil, sipermethrin, dan sihalothrin. Selain itu, Ratna dkk. (2022) melaporkan bahwa wereng coklat di Jambi resisten terhadap insektisida abamektin, BPMC (*buthylphenylmethyl carbamate*), dan fipronil.

2.4 Simbion dan Kemampuannya untuk Mendegradasi Insektisida

Simbiosis merupakan interaksi antara makhluk hidup yang dapat berupa mutualisme, komensalisme, dan parasitisme. Dalam interaksi serangga dengan mikroba, komponen bakteri merupakan simbion dan serangga merupakan inangnya. Simbion dapat berupa mikroba seperti bakteri, archaea, dan jamur. Simbiosis antara bakteri dengan serangga memiliki peran penting dalam toleransi suhu tinggi, resistensi terhadap parasitoid, perlindungan terhadap virus berbahaya, dan sintesis toksin. Mikroba ini memainkan peran penting dalam perkembangan serangga dengan meningkatkan kemampuan beradaptasi mereka terhadap lingkungan yang heterogen (Mondal *et al.*, 2023).

Resistensi insektisida merupakan salah satu masalah terbesar di bidang pertanian. Simbion serangga dapat mengurangi toksisitas insektisida dan menghasilkan berbagai enzim detoksifikasi, seperti sitokrom P450, karboksilesterase, GST, dan asetilkolinesterase. Modulasi enzim dan ekspresi beberapa gen detoksifikasi mikroba dalam usus serangga menyebabkan perkembangan resistensi terhadap pestisida. Bakteri pendegradasi insektisida terkonsentrasi di agroekosistem setelah penggunaan insektisida. Akibatnya, serangga hama dengan cepat memperoleh simbion dan mengembangkan resistensi ketika muncul di agroekosistem (Mondal *et al.*, 2023).

Simbion bakteri pada serangga dalam kemampuannya dalam mendegradasi insektisida belum dilaporkan hingga pertengahan abad ke-20. Pada tahun 1967, telah dilaporkan adanya degradasi organofosfat oleh simbion bakteri (*Pseudomonas melophthora*) dari *Rhagoletis pomonella* (Boush and Matsumura, 1967). Penelitian ini menunjukkan degradasi enam bahan aktif insektisida yang berbeda oleh bakteri yang terkait dengan serangga, namun belum diketahui

apakah ini bermanfaat bagi inang serangga dan memberikan toleransi terhadap pestisida. Degradasi insektisida juga dilaporkan terhadap fenitrothion pestisida golongan organofosfat oleh *Burkholderia* sp. dari *Riptortus pedestris*. Bakteri ini dapat mendegradasi fenitrothion menjadi 3-metil-4-nitrofenol dan memetabolisme produk degradasi sebagai sumber karbon yang baik untuk pertumbuhannya (Kikuchi *et al.*, 2012).

2.5 Insektisida Imidakloprid

Imidakloprid adalah insektisida yang termasuk ke dalam sub kelompok nitroguanidin dari kelompok neonicotinoid yang merupakan jenis insektisida yang sangat kuat untuk digunakan dalam melindungi tanaman. Senyawa ini bekerja pada reseptor nAChR dan mengganggu transmisi impuls saraf pada serangga (Putri dkk., 2021). Insektisida imidakloprid memiliki kemampuan bekerja secara sistemik, efek translaminar (kemampuan menembus jaringan pada akar maupun daun), serta kemampuan sebagai racun kontak dan lambung. Imidakloprid merupakan salah satu bahan aktif yang paling banyak digunakan petani di Indonesia untuk mengendalikan hama pada tanaman seperti wereng coklat (Siswanto dkk., 2019).

2.6 Insektisida Triflumezopyrim

Triflumezopyrim adalah insektisida mesoionik baru yang bekerja melalui penghambatan reseptor nAChR. Penghambatan pada nAChR dengan penggunaan triflumezopyrim menyebabkan keracunan lesu pada wereng yang ditandai dengan gerakan kaki yang lambat namun terkoordinasi, dan serangga menjadi kurang responsif terhadap rangsangan seiring berjalannya waktu. Triflumezopyrim memberikan pengendalian yang luar biasa terhadap wereng coklat, yang sudah menunjukkan resistensi terhadap neonicotinoid seperti imidakloprid (Cordova *et al.*, 2016).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada Oktober 2023 –April 2024 di Laboratorium Bioteknologi Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.

3.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah *laminar air flow* (LAF), *autoclave*, *microwave*, *rotamixer*, *showcase*, *freezer*, *shaker*, *Digi-doc imaging system*, mesin PCR, alat elektroforesis, *microcentrifuge*, *gel documentation*, cetakan gel $20 \times 16 \times 1 \text{ cm}^3$, timbangan elektrik, tabung eppendorf 1,5 mL, cawan petri, tabung reaksi, tabung erlenmeyer, gelas ukur, gelas beaker, pembakar bunsen, jarum ose, jarum ent, pinset, tusuk gigi, nampan plastik, penggaris, *aluminium foil*, plastik tahan panas, gunting, mikropipet, tip, pisau, dan alat tulis.

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah wereng coklat, *phosphate buffer salin* (PBS), akuades, umbi kentang, minyak paraffin, tanaman tembakau, *plastic wrapping*, kertas label, karet gelang, tisu, kapas, alkohol 70%, Klorok 1%, KOH 3%, air steril, ethidium bromide (EtBr), NaCl 5%, MyTaqTM Red Mix, DNA primer, *marker DNA ladder*, *loading dye*, *buffer TE*. Media biakan yang digunakan yaitu *yeast peptone agar* (YPA), dan *potato peptone glucose agar* (PPGA). Media yang digunakan untuk uji yaitu oksidatif/fermentatif (O/F) dan ayer's. Selain itu, digunakan beberapa bahan organik antara lain *D-melibiose*, *D-raffinose*, *Tri sodium citrate dihydrate*, *Strach*, *D-arabinose*, *Glycerol*, *5-Ketogluconate*, *Inulin*, *Mannitol*, *Myo-inositol*, *Ascorbic Acid*, dan *Lactose*.

3.3 Pelaksanaan Penelitian

3.3.1 Persiapan Penelitian

3.3.1.1 Pengambilan Hama Wereng Coklat

Hama wereng coklat diperoleh dari hasil *rearing* Balai Besar Penelitian Tanaman Padi (BBPadi), Jawa Barat. Hama wereng yang digunakan merupakan wereng yang tahan terhadap insektisida bahan aktif imidakloprid dan triflumezopyrim, serta wereng yang masih rentan terhadap kedua insektisida yang digunakan. Hama wereng yang tahan dan rentan sebelumnya sudah dikondisikan oleh BBPadi. Hama wereng dimasukkan ke dalam tabung eppendorf yang telah berisi PBS 500 μ L dan dikirim ke Laboratorium Bioteknologi Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung untuk dilakukan pengujian.

3.3.1.2 Penyiapan Media

(a) Pembuatan Media *Yeast Peptone Agar* (YPA) + Insektisida Berbahan Aktif Imidakloprid dan Triflumezopyrim

Media *yeast peptone agar* (YPA) yang ditambah dengan insektisida bahan aktif imidakloprid dan triflumezopyrim digunakan sebagai media tumbuh bakteri. Bahan-bahan yang digunakan untuk pembuatan media adalah 10 g peptone, 5 g yeast, 20 g agar batang, 1000 mL akuades. Bahan-bahan tersebut dimasukkan ke dalam erlenmeyer, ditutup menggunakan aluminium foil, dan plastik tahan panas, kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121^oC, tekanan 1 atm selama 15 menit. Setelah itu, ditambahkan insektisida imidakloprid dan triflumezopyrim sesuai konsentrasi rekomendasi yaitu, 0,08 g imidakloprid dan 48 μ L triflumezopyrim. Setiap 100 mL media ditambahkan 0,08 g imidakloprid dan 48 μ L triflumezopyrim.

(b) Pembuatan Media *Potato Peptone Glucose Agar* (PPGA)

Media *potato peptone glucose agar* (PPGA) digunakan untuk peremajaan isolat bakteri. Bahan-bahan yang digunakan untuk pembuatan media adalah 200 g kentang, 5 g peptone, 3 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 3 g NaCl, 0,5 g KH_2PO_4 , 5 g *glucose*, 20 g agar dan, 1000 mL akuades. Seluruh bahan dimasukkan ke dalam erlenmeyer, ditutup menggunakan aluminium foil dan plastik tahan panas, kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C , tekanan 1 atm selama 15 menit.

(c) Pembuatan Media Ayer's Mengandung Imidaklopid dan Triflumezopyrim

Media ayer's dibuat dengan bahan yaitu 1 g $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, 0,2 g KCl, 0,2 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 18 mL 2% *Bromothymol Blue* (BTB), 0,1% insektisida (imidaklopid dan triflumezopyrim) dan 20 g agar ke dalam 1000 mL akuades dan dicampurkan sampai homogen. Kemudian, suspensi dimasukkan ke dalam *microwave* hingga agar terlarut dengan sempurna. Setelah itu, media diatur pH nya pada kisaran 6,8 – 7,2 yang ditunjukkan dengan warna media yang menjadi hijau daun.

3.3.2 Isolasi Bakteri Wereng Coklat

Isolasi bakteri wereng coklat dilakukan dari permukaan dan dalam tubuh wereng coklat.

(a) Isolasi Bakteri dari Permukaan Wereng Coklat

Isolasi bakteri dari permukaan wereng coklat dilakukan dengan cara wereng coklat dimasukkan ke dalam tabung eppendorf 1,5 mL yang berisi PBS 500 μL , selanjutnya tabung tersebut dikocok. Sebanyak satu ose suspensi digoreskan ke media YPA dengan metode gores kuadran hingga didapat koloni tunggal.

(b) Isolasi Bakteri dari Dalam Tubuh Wereng Coklat

Isolasi bakteri dari dalam tubuh wereng coklat dilakukan dengan cara wereng coklat yang telah direndam dengan menggunakan klorok 1%, selama 1 menit dan dibilas dengan air steril, dimasukkan ke dalam tube yang berisi *phosphate buffer salin* (PBS) sebanyak 300 μ L. Wereng coklat kemudian digerus menggunakan pinset dan ditunggu selama 5 menit. Sebanyak satu ose suspensi digoreskan ke media YPA dengan metode gores kuadran hingga didapat koloni tunggal.

3.3.3 Pemurnian Bakteri

Bakteri yang tumbuh pada media YPA hasil isolasi diamati dengan cara melihat warna dan bentuk koloni dari setiap bakteri serta dihitung jumlah jenis koloni bakteri yang tumbuh. Koloni bakteri berbeda yang didapat dari media YPA dimurnikan di media YPA+imidaklopid dan YPA+triflumezopyriml dengan cara membagi cawan menjadi 8 bagian sisi menggunakan spidol dan penggaris, Setelah itu, koloni bakteri yang tumbuh diambil dengan menggunakan tusuk gigi steril dan digores pada media YPA+imidaklopid dan YPA+triflumezopyrim pada setiap sisi dan diulangi sebanyak 8 kali dengan koloni bakteri yang berbeda. Kemudian, diremajakan terlebih dahulu bakteri yang ingin diuji di media PPGA miring.

3.3.4 Karakterisasi Bakteri

Karakterisasi bakteri dilakukan dengan pengamatan makroskopis dan uji biokimia.

3.3.4.1 Pengamatan Makroskopis

Bakteri yang didapatkan dari isolasi diidentifikasi bentuk, warna dan tepian koloni bakteri.

3.3.4.2 Uji Biokimia

Uji biokimia dilakukan dengan berbagai macam pengujian antara lain.

(a) Uji Gram menggunakan KOH 3%

Uji ini dilakukan untuk mengetahui isolat bakteri yang diuji tergolong ke dalam gram positif atau gram negatif. Uji gram dilakukan dengan mengambil satu ose bakteri yang berumur 24 jam dan diletakkan di atas kaca preparat yang telah ditetesi dengan KOH 3%. Isolat bakteri dan KOH 3% dicampurkan hingga rata menggunakan jarum ose. Setelah itu jarum ose diangkat secara perlahan hingga tinggi kurang lebih 1 cm. Apabila suspensi tersebut menjadi kental atau berlendir saat diangkat maka isolat bakteri tersebut tergolong ke dalam gram negatif, jika sebaliknya maka isolat bakteri tersebut tergolong ke dalam gram positif (Powers, 1995).

(b) Uji Oksidatif/Fermentatif (O/F)

Uji oksidatif/fermentatif bertujuan untuk mengetahui sifat aerob dan anaerob dari bakteri. Pengujian ini dilakukan menggunakan media O/F yaitu . Bahan untuk membuat media O/F yaitu 0,938 g O/F Basal Medium, 1 g glukosa, dan 100 mL akuades yang dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan dipanaskan menggunakan microwave. Setelah itu, media tersebut dimasukkan ke dalam tabung reaksi steril sebanyak 4 mL dan disterilisasi menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121 °C dan tekanan 1 atm. Isolat bakteri pada media PPGA yang berumur kurang lebih 24 jam diambil menggunakan jarum preparat, kemudian dimasukkan ke dalam media O/F sampai dasar tabung, diulang 2 kali. Salah satu tabung ditutup dengan minyak parafin steril sebanyak 1 mL dan satunya lagi tidak diberi minyak parafin. Pengamatan dilakukan terhadap perubahan warna media O/F selama 7-14 hari. Apabila terjadi perubahan warna dari hijau berubah menjadi kuning terjadi pada media yang ditambah dan tidak ditambah minyak parafin, maka bakteri tersebut bersifat fermentatif. Sebaliknya, apabila terjadi perubahan warna hanya

pada media yang tidak ditambah minyak parafin, maka bakteri tersebut bersifat oksidatif (Suharjo dkk., 2022).

(c) Uji Hipersensitif

Uji hipersensitif bertujuan untuk mengetahui apakah isolat bakteri tersebut merupakan spesifik bakteri patogen pada tanaman. Pengujian dilakukan dengan memasukkan 0,5 mL air steril ke dalam tabung eppendorf 1,5 mL. Satu ose bakteri yang sudah berumur 24 jam diambil dan dihomogenkan menggunakan rotamixer. Setelah itu, suspensi bakteri diambil 0,5 mL dan disuntikkan pada daun tembakau diantara kedua epidermis daun tembakau menggunakan jarum suntik. Kemudian diberi label pada bagian tanaman yang telah disuntikkan suspensi bakteri. Pengamatan dilakukan pada 24-48 jam setelah dilakukan inokulasi. Apabila setelah diinokulasi muncul gejala nekrosis atau mengeringnya daun tembakau di bagian yang disuntikkan suspensi bakteri menunjukkan reaksi positif. Sebaliknya jika tidak muncul gejala nekrosis atau mengeringnya daun tembakau maka menunjukkan reaksi negatif. Uji hipersensitif dengan menggunakan tanaman tembakau disebabkan oleh tanaman tembakau yang dapat mengalokasikan serangan bakteri patogen sebagai respon ketahanan tanaman tembakau terhadap penyakit (Schaad *et al.*, 2001 dalam Prastio dkk., 2022).

(d) Uji *Soft rot*

Uji *soft rot* bertujuan untuk mengetahui apakah isolat bakteri yang diuji tergolong ke dalam kelompok bakteri penyebab busuk lunak atau tidak. Pengujian ini menggunakan umbi kentang yang dipotong kurang lebih setebal 1 cm dan dicuci selama 35 menit dengan air mengalir. Kemudian kentang tersebut diletakkan di dalam cawan petri yang telah diberi tisu yang dilembapkan menggunakan akuades. Pengujian ini dilakukan dengan mengambil satu ose isolat bakteri yang berumur 24 jam, kemudian digoreskan pada bagian tengah umbi kentang. Kemudian, diinkubasi selama 24-48 jam. Reaksi positif ditunjukkan dengan terjadinya pembusukan pada bagian tengah umbi kentang (Oviana dkk., 2015).

(e) Uji kemampuan menggunakan beberapa jenis bahan organik

Uji kemampuan menggunakan beberapa jenis bahan organik bertujuan untuk mengetahui kemampuan isolat bakteri mampu tumbuh pada bahan organik tertentu. Pengujian ini menggunakan media ayer's yang dibuat dengan bahan yaitu 1 g $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, 0,2 g KCl, 0,2 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 2% *Bromothymol Blue* (BTB), 0,1% bahan organik, 20 g agar, dan 1000 mL akuades. Bahan organik yang digunakan yaitu *D-melibiose*, *D-rafrinose*, *Tri sodium citrate dihydrate*, *Strach*, *D-arabinose*, *Glycerol*, *5-Ketogluconate*, *Inulin*, *Mannitol*, *Myo-inositol*, *Ascorbic acid*, dan *Lactose*. Pengujian dilakukan dengan mengambil satu ose isolat bakteri berumur 24 jam dari media PPGA, disuspensikan dengan 0,5 mL air steril dalam tabung eppendorf 1,5 mL dan dihomogenkan menggunakan rotamixer. Jarum preparat dicelupkan ke dalam suspensi bakteri, kemudian ditusukkan pada media ayer's sampai dasar tabung dan diinkubasi pada suhu 28°C. Pengamatan dilakukan pada 2, 4, 7, 14, dan 21 hari. Jika terjadi perubahan warna media dari hijau menjadi kuning atau biru, maka bakteri mampu menggunakan bahan organik (Suharjo, 2013).

3.3.5 Konfirmasi Kemampuan Isolat Bakteri untuk Mendegradasi Insektisida Imidakloprid dan Triflumezopyrim

(a) Uji Kemampuan Tumbuh pada Media Air Steril yang Mengandung Imidakloprid dan Triflumezopyrim

Uji ini diukur menggunakan *UV-VIS*. Pengujian dilakukan dengan menggunakan media air steril yang mengandung insektisida 1x konsentrasi rekomendasi (insektisida imdakloprid (0,08 g/100 mL air) dan insektisida triflumezopyrim (48 μL /100 mL air). Suspensi tersebut dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 5 mL. Lalu, diambil 1 ose bakteri yang berumur 24 jam dari media PPGA, kemudian disuspensikan ke dalam tabung eppendorf 1,5 mL yang telah berisi 0,5 mL air steril dan dihomogenkan menggunakan rotamixer. Satu ose suspensi bakteri kemudian diinokulasikan ke dalam tabung reaksi berisi media dan diinkubasikan (dishaker dengan kecepatan 145 rpm) selama 48 jam. Setelah inkubasi, suspensi diukur absorbansinya pada panjang gelombang 225 nm.

Sebagai kontrol diukur absorbansi media air steril yang diinokulasi bakteri yang sudah diinkubasi selama 48 jam dan kemudian ditambahkan insektisida 1x konsentrasi rekomendasi.

(b) Uji Kemampuan Tumbuh pada Media *Potato Broth* (PB) yang Mengandung Imidaklopid dan Triflumezopyrim

Uji ini diukur menggunakan *UV-VIS*. Pengujian dilakukan dengan menggunakan media *potato broth* (PB) yang mengandung insektisida 1x konsentrasi rekomendasi (insektisida imdaklopid (0,08 g/100 mL air) dan insektisida triflumezopyrim (48 µL/100 mL air)). Suspensi tersebut dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 5 mL. Lalu, diambil 1 ose bakteri yang berumur 24 jam dari media PPGA, kemudian disuspensikan ke dalam tabung eppendorf 1,5 mL yang telah berisi 0,5 mL air steril dan dihomogenkan menggunakan rotamixer. Satu ose suspensi bakteri kemudian diinokulasikan ke dalam tabung reaksi berisi media dan diinkubasikan (dishaker dengan kecepatan 145 rpm) selama 48 jam. Setelah inkubasi, suspensi diukur absorbansinya pada panjang gelombang 225 nm. Sebagai kontrol diukur absorbansi media *potato broth* (PB) yang diinokulasi bakteri yang sudah diinkubasi selama 48 jam dan kemudian ditambahkan insektisida 1x konsentrasi rekomendasi.

(c) Uji Kemampuan Bakteri dalam Menggunakan Imidaklopid dan Triflumezopyrim sebagai Sumber Karbonnya

Pengujian dilakukan dengan mengambil 1 ose isolat bakteri dari media PPGA dan disuspensikan dengan 0,5 mL air steril dalam tabung eppendorf 1,5 mL, yang selanjutnya dihomogenkan dengan menggunakan rotamixer. Inokulasi pada media *ayer's* dengan cara membenamkan jarum preparat pada suspensi bakteri kemudian ditusukkan pada media hingga mencapai dasar tabung, kemudian digoreskan pada permukaan media secara melintang. Setelah itu, diinkubasi pada suhu ruang. Pengamatan dilakukan untuk mengamati perubahan warna media serta pertumbuhan bakteri pada 2, 4, 7, 14 dan 21 hari setelah inokulasi (Suharjo, 2013).

3.3.6 Identifikasi Molekuler

Identifikasi molekuler dilakukan terhadap isolat bakteri terpilih yang memiliki kemampuan dalam menggunakan imidaklopid dan triflumezopyrim sebagai sumber karbonnya. Identifikasi molekuler dilakukan melalui beberapa tahapan yaitu ekstraksi DNA, amplifikasi DNA, elektroforesis, visualisasi hasil PCR, sequencing DNA dan analisis hasil.

(a) Ekstraksi DNA

Ekstraksi bakteri dilakukan dengan cara mengambil satu ose isolat bakteri yang berumur 24 jam dari media PPGA dan dipindahkan ke dalam tube 1,5 mL, dan ditambahkan 20 μ L TE menggunakan mikropipet, kemudian ditambah 10 mL SDS 10% + 3 μ L protinase K dan dihomogenkan. Tube tersebut diinkubasi di *water bath* pada suhu 37 °C selama 1 jam, lalu ditambahkan 100 μ L NaCl, dihomogenkan secara perlahan dan ditambah 80 μ L CTAB 2%. Setelah itu, diinkubasi kembali pada suhu 65°C selama 10-15 menit menggunakan *water bath* (dihomogenkan setiap 10 menit). Setelah diinkubasi, ditambahkan 720 μ L *Chloroform Isoamyl alcohol* (CI) (24:1) ke dalam tube dan dihomogenkan, kemudian disentrifuse 14.000 rpm selama 5 menit.

Supernatant hasil sentrifuse diambil sebanyak 600 μ L dan dimasukkan ke dalam tube 1,5 mL yang baru, lalu ditambahkan *Phenol Chloroform Isoamylalcohol* (PCI) (25:24:1) dengan volume yang sama dengan supernatan, kemudian dihomogenkan dan disentrifuse pada 14.000 rpm selama 5 menit. Setelah disentrifuse supernatan diambil dan dipindahkan ke dalam tube 1,5 mL yang baru, ditambahkan isopropanol 60% dengan volume yang sama dengan supernatan, dihomogenkan dan diinkubasi di dalam refrigerator selama 10 menit. Hasil inkubasi disentrifuse 14.000 rpm selama 15 menit. Setelah sentrifuseselasi supernatan yang di dalam tube dibuang dan ditambahkan ethanol 70% dingin sebanyak 400 μ L, lalu disentrifuse kembali selama 5 menit dengan kecepatan 14.000 rpm. Setelah itu ethanol dibuang dan pelet diinkubasi 1 hari pada suhu ruang. Setelah kering tube berisi pelet ditambahkan 20 μ L TE.

Untuk mengetahui ada tidaknya template DNA yang didapat, dilakukan elektroforesis dan divisualisasikan menggunakan *Digidoc Imaging System*.

(b) Amplifikasi DNA dengan PCR

Amplifikasi DNA dilakukan dengan menggunakan mesin PCR, yaitu dengan cara memasukkan *Master Mix (Red Mix)* sebanyak 12,5 μL ke dalam tabung eppendorf 100 μL . Kemudian primer 16S rDNA ditambahkan masing-masing sebanyak 1 μL , larutan ekstrak DNA bakteri sebanyak 1 μL dan akuades steril 9,5 μL . Setelah itu, larutan tersebut diamplifikasi menggunakan mesin PCR. Ada lima tahapan dalam menggunakan mesin PCR, yaitu inisiasi, denaturasi, annealing, ekstensi, dan elongasi. Tahapan inisiasi merupakan tahapan yang dilakukan pada suhu 95 °C selama 5 menit dan hanya dalam 1 kali siklus, lalu tahap denaturasi pada suhu 95 °C selama 1 menit dalam dengan 30 siklus, kemudian annealing pada suhu 58 °C selama 1 menit dan ekstensi pada suhu 72 °C selama 1 menit serta tahap terakhir yaitu elongasi pada suhu 72 °C selama 5 menit dalam 1 kali siklus (Suharjo *et al.*, 2014).

(c) Elektroforesis dan Visualiasasi Hasil PCR

Elektroforesis dilakukan dengan cara membuat gel agarose 0,5% yang telah diberi 1 μL ethidium bromide (ETBr 10 mg/mL), kemudian dituangkan pada cetakan gel dengan sisir. Setelah itu, dimasukkan gel agarose padat ke dalam alat elektroforesis yang sudah berisi larutan TBE. Pada sumur pertama dalam agarose dimasukkan 3 μL Marker DNA *ladder*. Pada sumur selanjutnya diisi dengan 3 μL hasil PCR, dan dielektroforesis pada tegangan 50 volt selama 60-70 menit. Hasil PCR yang sedang dielektroforesis ditunggu hingga DNA bergerak hingga ditengah-tengah baris 3 dan 4 dari ujung lawan. Hasil elektroforesis divisualisasikan dengan menggunakan *digi doc imaging system*, yang hasilnya dapat disimpan dikomputer. Apabila terdapat profil DNA antar lokus gen maka akan terlihat seperti pita terang (Oktaviana, 2018).

(d) Sekuensing dan Analisis Hasilnya

Hasil PCR nantinya akan dikirim ke PT Genetika Science Jakarta untuk disekuensing. Program MEGA 7 digunakan untuk menganalisis hasil sekuensing. Data sekuen yang telah diolah dibandingkan dengan sekuen yang ada pada Gen Bank menggunakan alat BLAST pada situs NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>).

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

1. Terdapat bakteri simbion wereng coklat yang mampu mendegradasi insektisida triflumezopyrim yaitu TL2.1, TL2.2, TL2.3, dan TL2(2).2. Namun, tidak terdapat bakteri simbion wereng coklat yang mampu mendegradasi insektisida imidaklopid,
2. Bakteri simbion wereng coklat yang mampu mendegradasi insektisida triflumezopyrim bersifat gram negatif, oksidatif dan fermentatif, negatif hipersensitif, negatif *soft rot* dan mampu menggunakan beberapa bahan organik seperti *D-melibiose*, *D-raffinose*, *Tri sodium citrate dihydrate*, *Strach*, *D-arabinose*, *Glycerol*, *5-Ketogluconate*, *Inulin*, *Mannitol*, *Myo-inositol*, *Ascorbic acid*, dan *Lactose*, dan
3. Representasi bakteri simbion pada wereng coklat yang mampu mendegradasi insektisida triflumezopyrim adalah *Pseudomonas hibiscicola* dan *Serratia marcescens*.

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, disarankan untuk melakukan penelitian lebih lanjut mengenai aplikasi bakteri simbion wereng coklat yang mampu mendegradasi insektisida triflumezopyrim pada wereng batang coklat untuk melihat ketahanannya setelah diaplikasikan insektisida tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

- Alfiah, S. 2011. Dikloro difenil trikoloetan (DDT). *Jurnal Vektora*. 3(2): 149-156.
- Alima'fuad, I. R. dan Jadmiko, M. W. 2023. Intensitas serangan wereng batang coklat (*Nilapairvata lugens*) pada beberapa varietas tanaman padi di Kecamatan Kedungadem Kabupaten Bojonegoro. *Berkala Ilmiah Pertanian*. 6(2): 63-67.
- Andayani, A. P., Dermiyati, Suharjo, R., Ivayani, dan Telaumbanua, M. 2019. Efektivitas larutan mikroorganisme lokal dari tandan kosong kelapa sawit secara aerob. *Journal of Tropical Upland Resources (J. Trop. Upland Res.)*. 1(1): 43-50.
- Arfiandi dan Tumbol, R. A. 2020. Isolasi dan identifikasi bakteri patogen pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang dibudidayakan di Kecamatan Dimembe Kabupaten Minahasa Utara Tahun 2019. *Budidaya Perairan*. 8(1): 19-26.
- Badan Pusat Statistik. 2022. *Luas Panen dan Produksi Padi di Indonesia 2021*. Badan Pusat Statistik. Jakarta.
- Baehaki, S. E., Iswanto, E. H., dan Munawar, D. 2016. Resistensi wereng coklat terhadap insektisida yang beredar di sentra produksi padi. *Jurnal Penelitian Pertanian Tanaman Pangan*. 35(2): 99-108.
- Boush, G. M. and Matsumura, F. 1967. Insecticidal degradation by *Pseudomonas melophthora*, the bacterial symbiote of the apple maggot. *Journal of Economic Entomology*. 60(4): 918-920.
- Chandra, T. J. and Mani, P. S. 2011. A study of 2 rapid tests to differentiate Gram positive and Gram negative aerobic bacteria. *Journal of Medical & Allied Sciences*. 1 (2): 84-85.
- Cordova, D., Benner, E. A., Schroeder, M., E., Holyoke, C. W., Zhang, W., Pahutski, T. F., Leighty, R. M., Vincent, D. R., and Hamm, J. C. 2016. Mode of action of triflumezopyrim: A novel mesoionic insecticide which inhibits the nicotinic acetylcholine receptor. *Insect biochemistry and molecular biology*. 74: 32-41.

- Cycoń, M., Wójcik, M., and Piotrowska-Seget, Z. 2009. Biodegradation of the organophosphorus insecticide diazinon by *Serratia* sp. and *Pseudomonas* sp. and their use in bioremediation of contaminated soil. *Chemosphere*. 76: 494-501.
- Cycoń, M., Żmijowska, A., Wójcik, M., and Piotrowska-Seget, Z. 2013. Biodegradation and bioremediation potential of diazinon-degrading *Serratia marcescens* to remove other organophosphorus pesticides from soils. *Journal of environmental management*. 117: 7-16.
- Dillon, R. J. and Dillon, V. M. 2004. The gut bacteria of insects: nonpathogenic interactions. *Annual Review of Entomology*. 49: 71-92.
- Gangola, S., Joshi, S., Bhandari, G., Pant, G., Sharma, A., Perveen, K., Bukhari, N. A., and Rani, R. 2023. Exploring microbial diversity responses in agricultural fields: a comparative analysis under pesticide stress and non-stress conditions. *Frontiers in Microbiology*. 14: 1271129.
- Hemlata, B., Kumar, A., Chokkar, V., Beniwal, V., Dhiman, A., Sweeta, Chauhan, R., Pradeep, and Dudeja, S. 2019. Optimization of *Pseudomonas aeruginosa* for chlorpyrifos degradation using response surface methodology. *Journal of Microbiology and Modern Techniques*. 4(1): 1-8.
- Integrated Taxonomic Information System. 2021^a. *Oryza sativa* L. https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=41976#null. Diakses pada tanggal 7 November 2022.
- Integrated Taxonomic Information System. 2021^b. *Nilaparvata lugens*. https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=902550#null. Diakses pada tanggal 7 November 2022.
- Ishartadiati, K. 2022. Resistensi serangga terhadap DDT. *Jurnal Ilmiah Kedokteran Wijaya Kusuma*. 1: 105-112.
- Kikuchi, Y., Hayatsu, M., Hosokawa, T., Nagayama, A., Tago, K., and Fukatsu, T. 2012. Symbiont-mediated insecticide resistance. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 109(22): 8618-8622.
- Lestari, S. R., Abadi A. L., Himawan, T., Saputra, M. M., and Saadah, F. L. 2023. Novel derivative compound produced from carbofuran insecticide degradation and transformation promoted by *Pseudomonas fluorescens*. *Advanced Agrochem*. In Press.
- Li, F., Li, P., Hua, H., Hou, M., and Wang, F. 2019. Diversity, tissue localization, and infection pattern of bacterial symbionts of the white-backed planthopper, *Sogatella furcifera* (Hemiptera: Delphacidae). *Microbial Ecology*. 79(3): 720-730.

- Liao, X., Xu, P., Gong, P. P., Wan, H., and Li, J. H. 2020. Current susceptibilities of brown planthopper *Nilaparvata lugens* to triflumezopyrim and other frequently used insecticides in China. *Insect Sci.* 28(1): 115-126.
- Mahmud, Y. dan Purnomo, S. S. 2014. Keragaman agronomis beberapa varietas unggul baru tanaman padi (*Oryza sativa* L.) pada model pengelolaan tanaman terpadu. *Jurnal Ilmiah Solusi.* 1(1): 1-10.
- Makarim, A. K. dan Suhartatik, E. 2007. *Morfologi dan Fisiologi Tanaman Padi.* Balai Besar Penelitian Tanaman Padi. pp 295-330.
- Marsaoli, F., Matinahoru, J. M., dan Leiwakabessy, C. 2020. Isolasi, seleksi, dan uji antagonis bakteri endofit diisolasi dari salawaku (*Falcataria mollucana*) dalam menekan pertumbuhan cendawan patogen *Cercospora* spp. *Agrologia.* 8(2): 44-54.
- Matsumura, M. and Sanada-Morimura, S. 2010. Recent status of insecticide resistance in Asian rice planthoppers. *Japan Agricultural Research Quarterly: JARQ.* 44(3): 225-230.
- Mokoginta, R. and Tumbelaka, S. 2021. Pest control brown plathopper (*Nilaparvata lugens*) use of botanical pesticides in rice plantsrice (*Oryza sativa* L.). *Jurnal Agroekoteknologi Terapan.* 2(1): 11-14.
- Mondal, S., Somani, J., Roy, S., Babu, A., and Pandey, A. K. 2023. Insect microbial symbionts: ecology, interactions, and biological significance. *Microorganisms.* 11(11): 1-27.
- Muhtar, G. A. dan Purwandhi, I. 2019. Perubahan fase pertumbuhan padi sawah tadah hujan saat el nino di Kabupaten Gorontalo. *Jurnal Azimut.* 2(1): 95-106.
- Nurbaeti, B., Diratmaja, I. G. P. A., dan Putra, S. 2010. *Hama Wereng Coklat (Nilaparvata lugens Stal) dan Pengendaliannya.* Balai Pengkajian Teknologi Pertanian. Jawa Barat.
- Nurmianti, L. dan Gusmarwani, S. R. 2020. Penentuan lethal dose 50% (LD50) pestisida nabati dari campuran buah bintaro, sereh, bawang putih, lengkuas (variabel waktu pemasakan dan ratio masing-masing bahan). *Jurnal Inovasi Proses.* 5(1): 22-26.
- Oesman, R. 2020. Pembuatan pupuk insektisida dan pengendalian hama wereng padi di Desa Kuta Baru Kecamatan Tebing Tinggi Kabupaten Serdang Bedagai. *Focus Agroteknologi UPMI.* 1(1): 1-9.

- Oktaviana, H. A. 2018. Identifikasi dan Uji Kisaran Inang Penyebab Penyakit Mati Pucuk pada Tanaman Pepaya (*Carica papaya* L.). *Skripsi*. Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Oviana, T., Aeny, T. N., dan Prasetyo, J. 2015. Isolasi dan karakterisasi penyebab penyakit busuk buah pada tanaman nanas (*Ananas comosus* [L.] Merr.). *Jurnal Agrotek Tropika*. 3(2): 220-225.
- Powers, E. M. 1995. Efficacy of the Ryu nonstaining KOH technique for rapidly determining gram reactions of food-borne and waterborne bacteria and yeasts. *Applied and Environmental Microbiology*. 61(10): 3756-3758.
- Prastio, R. A., Isnawati, I., dan Rahayu, D. A. 2022. Isolasi, karakterisasi, dan identifikasi bakteri patogen pada tumbuhan kantong semar (*Nepenthes gracillis*). *LenteraBio: Berkala Ilmiah Biologi*. 11(2): 255-262.
- Pratiwi, W. M. dan Asri, M. T. 2022. Isolasi dan identifikasi bakteri indigenous pendegradasi pestisida profenofos dan klorantraniliprol di Jombang Jawa Timur. *LenteraBio: Berkala Ilmiah Biologi*. 11(2): 300-309.
- Purnama, S. G. 2015. *Buku Ajar Pengendalian Vektor*. Program Studi Ilmu Kesehatan Masyarakat. Fakultas Kedokteran. Universitas Udayana. Bali.
- Putri, S. N. S., Bari, I. N., Wilar, G., dan Ridho, A. 2021. Pengujian iritasi dan sensitisasi bahan aktif imidakloprid dalam formulasi insektisida. *Gunung Djati Conference Series*. 6: 298-307.
- Ratna, Y., Yunita, W., Swari, E. I., Putri, D. D., dan Sinaga, R. H. 2022. Perkembangan resistensi wereng batang padi cokelat (*Nilaparvata lugens* Stal) di sentra produksi padi Kabupaten Tanjung Jabung Barat dan Tanjung Jabung Timur. *Jurnal Media Pertanian*. 7(2): 123-131.
- Rori, B. N. D., Khoman, J. A., dan Supit, A. S. R. 2018. Uji konsentrasi hambat minimum ekstrak daun gedi (*Abelmoschus manihot* L. Medik) terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *Jurnal E-GiGi*. 6(2). 83-90.
- Sanjaya, P., Hendarto, K., Damai, A. A., Syarief, Y. A., Erwanto, Rahmalia, D., dan Hidayat, K. F. 2022. Diseminasi teknologi budidaya padi sawah dengan metode pengelolaan tanaman terpadu (PTT) pada Kelompok Tani Mekar Jaya 1, Kecamatan Ngambur, Kabupaten Pesisir Barat. *Jurnal Pengabdian Fakultas Pertanian Universitas Lampung*. 1(1): 113-120.

- Sembiring, J. A. dan Mendes, J. A. 2022. Padat populasi wereng batang coklat (*Nilaparvata lugens*) dan wereng hijau (*Nephotettix virescens*) pada tanaman padi varietas Inpara 2 di Kampung Bokem Kabupaten Merauke Papua. *Sainmatika: Jurnal Ilmiah Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam*. 19(2): 201-207.
- Senewe, R. E., Permatasari, S., dan Pesireron, M. 2020. Respon hama wereng coklat *Nilaparvata lugens* Stal. (Hemiptera: Delphacidae) terhadap ketahanan dan kerentanan varietas padi. *Jurnal Budidaya Pertanian*. 16(1): 51-55.
- Siswanto, E., Achadian, E. M., dan Kurniastuti, T. 2019. Pengaruh pestisida nabati dan kimia terhadap mortalitas *Lepidiota stigma* Fabricius (Coleoptera : Scarabaeidae) pada tanaman tebu. *Agritrop: Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian (Journal of Agricultural Science)*. 17(2): 198-206.
- Suharjo, R. 2013. Studies on The Taxonomy and Identification of *Dickeya* spp. and *Pectobacterium* spp. Isolated in Japan. *Thesis*. Shizuoka University. Japan.
- Suharjo, R., Fitriana. Y., dan Lestari, P. 2022. *Prosedur Isolasi dan Karakterisasi Biokimia Spesies Dickeya*. Pusaka Media. Bandar Lampung.
- Suharjo, R., Sawada, H., and Takikawa, Y. 2014. Phylogenetic study of Japanese *Dickeya* spp. and development of new rapid identification methods using PCR RFLP. *Journal of General Plant Pathology*. 80(3): 237-254.
- Sulaeman, E., Ardiwinata, A. N., dan Yani, M. 2016. Eksplorasi bakteri pendegradasi insektisida klorpirifos di lahan sayuran kubis Jawa barat. *Jurnal Tanah dan Iklim*. 40(2): 103-112.
- Tang, M., Lv, L., Jing, S., Zhu, L., and He, G. 2010. Bacterial symbionts of the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Homoptera: Delphacidae). *Applied and Environmental Microbiology*. 76(6): 1740-1745.
- Trisnaningsih. 2015. Resurgensi insektisida karbofuran 3% terhadap hama wereng coklat (*Nilaparvata lugens*) pada tanaman padi sawah. *Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia*. 1(6): 1512-1515.
- Wati, C., Arsi, A., Karenina, T., Riyanto, R., Nirwanto, Y., Nurcahya, I., Melani, D., Astuti, D., Septiarini, D., Purba, S. R. F., Ramdan, E. P., dan Nurul D. 2021. *Hama dan Penyakit Tanaman*. Yayasan Kita Menulis. Bogor.
- Widiyati, S., Rochmah, S. N., dan Zubedi. 2009. *Biologi SMA/MA Kelas X*. Pusat Perbukuan Departemen Pendidikan Nasional. Jakarta.

Xu, S., Jiang, L., Qiao, G., And Chen, J. 2021. Diversity of bacterial symbionts associated with *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae: Aphidinae) revealed by 16S rRNA Illumina sequencing. *Microbial Ecology*. 81: 784-794.