

## Analisis Keanekaragaman Isolat *Bacillus thuringiensis* yang Patogenik terhadap Serangga Hama Kubis (*Crocidolomia binotalis*) dengan Pendekatan Sistematika Numerik

Analysis on Diversity of *Bacillus thuringiensis* Isolates Pathogenic to Cabbage Pest Insect (*Crocidolomia binotalis*) by using Numerical Systematic Approach

Christina L. Salaki<sup>1</sup>, Jesmandt Situmorang<sup>2</sup>, Langkah Sembiring<sup>3\*</sup>, Niken S.N. Handayani<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Unsrat, Manado

<sup>2</sup>Laboratorium Entomologi, Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

<sup>3</sup>Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

<sup>4</sup>Laboratorium Genetika, Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

E-mail: lsembiring@yahoo.com \*Penulis untuk korespondensi

### Abstract

Diversity of *B. thuringiensis* (*Bt.*) isolates pathogenic to *C. binotalis* was determined by using Numerical Systematic Method. Ten isolates were taken to represent 34 pathogenic isolates along with two reference strains namely *B. thuringiensis* serovar *kurstaki* and *B. thuringiensis* serovar *israelensis*. The test isolates were examined for 89 phenotypic characters by using conventional method for colonial and cell morphology (37 characters) as well as physiological characteristics (3 characters) but biochemical characterization (49 characters) was conducted by using commercial API-50 CHB procedures. All phenotypic characters existed in one of two mutually exclusive states and were either scored plus (1) or minus (0). The binary data were prepared in Programmer's File Editor (PFE) software. The data then were analysed by using the Multi Variate statistical Package (MVSP) Plus-Version 3.1 using the Simple Matching Coefficient ( $S_{SM}$ ). Clustering was achieved using the UPGMA algorithm. The results were presented as dendrograms. It was obtained that the test isolates were clearly assigned to two distinct multimembered clusters defined by 79.6 similarity level (S-level) in the  $S_{SM}$ , UPGMA analysis. The two distinct clusters represented by each of two widely known different group of *Bt.* strains, namely serovar *israelensis* and serovar *kurstaki*. The first cluster contained reference strain of *B. thuringiensis* serovar *israelensis*, and two of the isolates (Slk2.3, and YPPA1) and the second cluster contained another reference strain of *B. thuringiensis* serovar *kurstaki*, and 8 of the isolates. Therefore, it strongly suggested that the application of numerical-phenetic analysis could provide a tool to unravel the strain diversity belong to *B. thuringiensis*.

Key words: Diversity, *Bacillus thuringiensis*, isolates, pathogenic, *Crocidolomia binotalis*, numerical systematic

### Abstrak

Keanekaragaman isolat bakteri *B.thuringiensis* yang patogenik terhadap serangga *C. binotalis* dianalisis dengan pendekatan metode Sistematika Numerik. Sebanyak 10 isolat bakteri yang mewakili 34 isolat patogenik bersama dengan 2 strain acuan yaitu *B. thuringiensis* serovar *israelensis* dan *B. thuringiensis* serovar *kurstaki* dianalisis berdasarkan 89 karakter fenotipik. Karakter fenotipik (89 unit) tersebut meliputi morfologi kononi dan morfologi sel (37 unit) dan karakter fisiologis (3 unit) diperoleh dengan metode konvensional tetapi karakter biokimiawi (49 unit) diperoleh dengan menggunakan metode Kit komersial (API50-CHB). Semua karakter fenotipik dikode ke dalam bentuk biner yaitu positif (1) dan negatif (0) dengan menggunakan program *Programmer File Editor* (PFE). Selanjutnya, data dianalisis dengan menggunakan program MVSP (*Multivariate Statistical Package*) Plus Version 3.1 berdasarkan indeks similaritas SSM. Pengklasteran dilakukan dengan algoritme UPGMA. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semua strain uji mengelompok ke dalam dua kluster yang terpisah pada tingkat similaritas 79,6% yaitu kluster *kurstaki* yang beranggotakan 9 strain terdiri dari strain acuan *B. thuringiensis* serovar *kurstaki* dan 8 isolat uji sedangkan kluster *israelensis* beranggotakan 3 strain, terdiri dari strain acuan *B. thuringiensis* serovar *israelensis* dan 2 isolat

**uji. Dapat disimpulkan bahwa analisis ini dapat membedakan kedua strain acuan dengan jelas dan tegas serta menunjukkan bahwa isolat yang dianalisis cukup beranekaragam. Analisis sistematik numeric dapat digunakan menyingkap keanekaragaman strain anggota *B. thuringiensis*.**

**Kata kunci: Keanekaragaman, *Bacillus thuringiensis*, isolat, patogenik, *Crocidolomia binotalis*, sistematika numerik**

Diterima: 20 Oktober 2009, disetujui: 27 Juli 2010

## Pendahuluan

Selama beberapa tahun terakhir ini, penggunaan dan pengembangan mikroba sebagai insektisida mendapat perhatian besar (Suryanto *et al.*, 2007). Meskipun sesungguhnya ada beberapa tipe mikroba yang dapat digunakan untuk pemberantasan serangga, sejauh ini hanya 3 tipe yang diproduksi secara komersial, yaitu mikroba yang berupa virus, fungi dan bakteri (Chrispeels dan Sadava, 1994).

Banyak strain bakteri anggota genus *Bacillus* telah diisolasi dari bangkai serangga dan dari berbagai sampel tanah. Namun, strain anggota *Bacillus* yang telah dikenal sebagai patogen pada serangga adalah *Bacillus popilliae*, *Bacillus lentimorbus*, *Bacillus larvae*, *Bacillus thuringiensis* dan strain tertentu *Bacillus sphaericus* (Ellar, 1997; Priest dan Dewar, 2000).

Dari berbagai hasil penelitian dan pengalaman para ahli selama ini, pemakaian isolat bakteri tersebut sangat menguntungkan, terutama karena tidak membunuh biota yang bukan sasaran, bersifat persisten dan dapat berkembang di lapang sampai mencapai kondisi *epizootic*. Selain itu, agensia pembasmi serangga yang berupa mikroba ini memiliki keunggulan lain karena virulensinya dapat pula ditingkatkan melalui seleksi dan rekayasa genetik (Martin dan Dean, 1981; Suryanto *et al.*, 2007).

Kendatipun telah banyak strain anggota varitas (serovar) yang ditemukan, diantara serovar yang telah dikenal tersebut, terdapat 2 serovar utama yang dikembangkan dan diproduksi dalam skala industri yaitu *B. thuringiensis* serovar. *israelensis* dan *B. thuringiensis* serovar. *kurstaki*. Kedua serovar anggota spesies *B. thuringiensis* tersebut mempunyai spesifikasi serangga target yang berbeda yaitu *B. thuringiensis* serovar *kurstaki* spesifik terhadap larva serangga anggota ordo

Lepidoptera sedangkan *B. thuringiensis* serovar *israelensis* spesifik terhadap serangga vektor penyakit anggota ordo Diptera, khususnya beberapa jenis nyamuk dan lalat hitam (*black fly*) (Hoofman dan Frodsham, 1993).

Beberapa upaya untuk mengisolasi strain anggota *B. thuringiensis* dari tanah di Indonesia di antaranya berhasil memperoleh sejumlah isolat patogenik terhadap larva serangga anggota ordo Diptera yaitu nyamuk (*Aedes aegypti*, *Culex quiquefasciatum*) dan serangga anggota ordo Lepidoptera yaitu ulat sutra (*Bombyx mori*) (Hastowo *et al.*, 1992). Selanjutnya, Situmorang *et al.*, (1993) telah mengisolasi dari berbagai sampel tanah di Indonesia, dan berhasil menemukan sejumlah isolat *B. thuringiensis* yang patogenik terhadap larva serangga hama anggota *Plutella xylostella*, anggota *Helicoverpa* dan *Spodoptera*.

Berdasarkan pemikiran bahwa bakteri anggota *Bacillus* memiliki karakter yang potensial untuk dikembangkan menjadi agensia pengendali hama dan vektor penyakit maka perlu dilakukan eksplorasi terhadap strain bakteri anggota *Bacillus* untuk lebih mengungkap dan memanfaatkan kekayaan keanekaragaman mikroba Indonesia.

Pada penelitian terdahulu telah diperoleh 10 isolat bakteri yang patogenik terhadap larva serangga hama kubis, *Crocidolomia binotalis* (Salaki *et al.*, 2009). Keanekaragaman strain bakteri tersebut penting untuk dipelajari guna mengetahui identitas, keanekaragaman serta kemiripannya, baik di antara ke 10 isolat tersebut maupun dengan strain *B. thuringiensis* produk komersial yang telah dikenal yaitu strain anggota *B. thuringiensis* serovar *israelensis* (Teknar) dan *B. thuringiensis* serovar *kurstaki* (Dipel). Untuk itu maka analisis sistematika numerik (*Numerical Systematics*) merupakan salah satu instrumen yang andal dalam upaya karakterisasi dan identifikasi bakteri secara kuantitatif dan

objektif berdasarkan penggunaan sebanyak-banyaknya karakter fenotipik (politetik) strain bakteri yang dipelajari (Priest dan Austin, 1993).

## Metode Penelitian

### Karakterisasi dan Identifikasi sebagai Anggota *Bacillus*

Strain Acuan (*reference strains*) yang digunakan adalah *B. thuringiensis* serovar *kurstaki* (DIPEL) dan *B. thuringiensis* serovar *israelensis* (TEKNAR). Strain bakteri diinokulasikan pada medium Nutrien Agar (NA) kemudian diinkubasikan pada suhu 30°C selama 24 jam. Setiap strain bakteri dikarakterisasi sifat-sifat fenotipiknya menurut Skinner dan Lovelock (1979). Berdasarkan karakter kunci genus (*genus key characters*) setiap isolat yang ditemukan diidentifikasi (*generic assignment*) untuk memastikan bahwa isolat tersebut adalah anggota genus *Bacillus* dengan menggunakan analisis *profile matching* (Sneath et al., 1982).

### Karakterisasi dan Identifikasi Fenotipik Strain Bakteri *B. thuringiensis*

Ke 10 strain *B. thuringiensis* yang ditemukan (Srng 2.4, TK 9, TKO 1, SLK 2.3, YPPA, UG1A, BLPPN 8, YWKA 1, BAU 3, LPST 1) hasil isolasi dan 2 strain acuan (*B. thuringiensis* serovar *kurstaki* dan *B. thuringiensis* serovar *israelensis*) berumur 24 jam dikarakterisasi sifat-sifat fenotipiknya yang meliputi karakter morfologis, karakter fisiologis dan karakter biokimiawi baik secara konvensional maupun dengan menggunakan metode Kit komersial API CHB (Logan dan Berkeley, 1981, 1984; Somerville dan Jones, 1972; Seki et al., 1975, 1978; Kaneko et al., 1978; O'Donnell et al., 1980).

Karakter fenotipik yang diperoleh lalu dikonversikan menjadi nilai positif (+) atau nilai negatif (-) dan disajikan dalam bentuk matriks n x t menggunakan program *Excell*. Selanjutnya, data yang memiliki nilai (+) diubah menjadi (1) dan nilai (-) menjadi (0) dengan menggunakan program PFE (*Programmer File Editor*).

Data yang telah disusun dalam program PFE kemudian dianalisis dengan menggunakan program MVSP (*Multivariate Statistical Package*) versi 3.1 (Kovach, 1990). Untuk

menentukan nilai similaritas di antara strain-strain yang diuji digunakan Koefisien  $S_{SM}$  (*Simple Matching Coefficient*). Pengelompokan (*Clustering analysis*) dilakukan dengan menggunakan Algoritma UPGMA (*Unweight Pair Group Method with Averages*) sehingga hasil analisis diekspresikan dalam bentuk dendrogram menurut Sneath dan Sokal (1973) *cit.* Sembiring (2002). Selanjutnya, dendrogram digunakan sebagai dasar untuk menentukan keaslian identitas, keanekaragaman, serta kemiripan antara strain uji.

## Hasil dan Pembahasan

### Karakterisasi dan Identifikasi sebagai Anggota *Bacillus*

Berdasarkan hasil analisis *profile matching* terhadap karakter kunci genus maka ke-10 isolat bakteri yang patogenik terhadap serangga hama kubis (*C. binotalis*) dipastikan sebagai anggota *Bacillus* (Tabel 1) karena semua isolat tersebut menunjukkan kemiripan karakter yang identik dengan karakter kunci *Bacillus*. Karakter kunci genus tersebut meliputi gram positif, sel berbentuk batang, memiliki endospora, sel motil, bersifat aerob, dan katalase positif.

### Karakterisasi dan Identifikasi Fenotipik Strain Bakteri *B. thuringiensis*

Hasil analisis kluster dengan metode klasifikasi numerik-fenetik terhadap strain-strain uji anggota bakteri *B. thuringiensis* yang dilakukan berdasarkan nilai similaritas sejumlah besar karakter fenotipiknya (89 karakter : Tabel 2) disajikan dalam bentuk dendrogram pada Gambar 1. Semua strain uji bergabung pada nilai similaritas > 79,6%.

Menurut Goodfellow dan O'Donnell (1993) apabila nilai similaritas antar strain  $\geq 70\%$  maka berdasarkan *taxospecies concept* strain-strain tersebut dapat dimasukkan ke dalam spesies yang sama. Hal ini berarti bahwa semua strain uji masuk dalam satu spesies yang sama yaitu *Bacillus thuringiensis*.

Berdasarkan analisis selanjutnya terhadap dendrogram (Gambar 1), strain-strain tersebut dapat dikelompokkan menjadi 2 *cluster* utama yaitu *Cluster Israelensis* yang terbentuk pada

tingkat similaritas 80,4% dan anggotanya terdiri dari 3 strain (SLK 2.3, YPPA 1, *B. thuringiensis* serovar *israelensis*) dan *Cluster* Kurstaki yang terbentuk pada tingkat similaritas 80,7% dan anggotanya terdiri 9 strain (SRNG 2.4, *B. thuringiensis* serovar *kurstaki*, BAU 3.2, TKO 1, BLPPN 8.2, TK 9, UG1A, LPST 1, dan YWKA 1). Strain anggota kedua *Cluster* ini dapat dibedakan dengan jelas berdasarkan karakter biokimiawi yaitu bahwa *Cluster* *Israelensis* tidak mampu menggunakan sumber karbon berupa sellobiose sedangkan strain anggota *Cluster* Kurstaki bersifat sebaliknya.

Berdasarkan konsep taksospecies bahwa strain dianggap anggota satu jenis yang sama jika memiliki indeks similaritas  $\geq 70\%$ . Dengan analisis numerik berdasarkan karakter fenotipik ini ditemukan bahwa strain acuan *B. thuringiensis* serovar *israelensis* dan *B. thuringiensis* serovar *kurstaki* ternyata dapat dibedakan secara jelas. Hal ini berarti kongruen dengan sifat utama ke dua strain yang berbeda patogenisitas spesifiknya yaitu *B. thuringiensis* serovar *israelensis* spesifik terhadap serangga anggota ordo Diptera sedangkan *B. thuringiensis* serovar *kurstaki* spesifik terhadap serangga anggota Lepidoptera.

Berdasarkan dendrogram tersebut tampak jelas bahwa ke 10 isolat yang dipelajari sangat beranekaragam karena tidak ada satupun di antaranya yang memiliki tingkat similaritas yang mencapai 100%. Sebagian besar isolat (8 isolat) yang diteliti yaitu SRNG 2.4, BAU 3.2, TKO 1, BLPPN 8.2, TK 9, UG1A, LPST 1, dan YWKA

1 lebih mirip dengan strain acuan *B. thuringiensis* serovar *kurstaki* sedangkan sebagian kecil isolat (2 isolat) yaitu SLK 2.3 dan YPPA 1 lebih mirip dengan strain acuan *B. thuringiensis* serovar *israelensis*. Hal yang menarik dari penelitian ini bahwa isolat SLK 2.3 dan YPPA 1 yang lebih mirip dengan *B. thuringiensis* serovar *israelensis* tetapi sangat patogenik terhadap serangga anggota Lepidoptera yaitu *C. binotalis* pada hal *B. thuringiensis* serovar *israelensis* dikenal sebagai bakteri yang patogen spesifik terhadap serangga anggota Diptera. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian selanjutnya mengenai spektrum patogenisitas isolat ini terhadap serangga anggota Diptera misalnya nyamuk. Apabila ternyata kedua isolat ini juga patogenik terhadap nyamuk fakta yang selama ini diterima bahwa *B. thuringiensis* serovar *israelensis* memiliki patogenisitas spesifik terhadap serangga anggota Diptera dapat dipertanyakan kebenarannya atau mungkin memang ada strain *B. thuringiensis* memiliki spektrum patogenisitas yang lebih luas sehingga mencakup ke dua anggota Diptera maupun Lepidoptera.

Selanjutnya, ternyata hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pendekatan analisis sistematis numerik mampu memisahkan dan membedakan secara tegas antara strain anggota spesies *B. thuringiensis*. Hal ini berarti pula bahwa metode ini cukup ampuh sebagai dasar untuk mengarakterisasi dan mengidentifikasi keanekaragaman isolat-isolat *B. thuringiensis* yang diperoleh dari habitat alami.

**Tabel 1.** Profile matching antara karakter kunci *Bacillus* dengan karakter isolat uji.

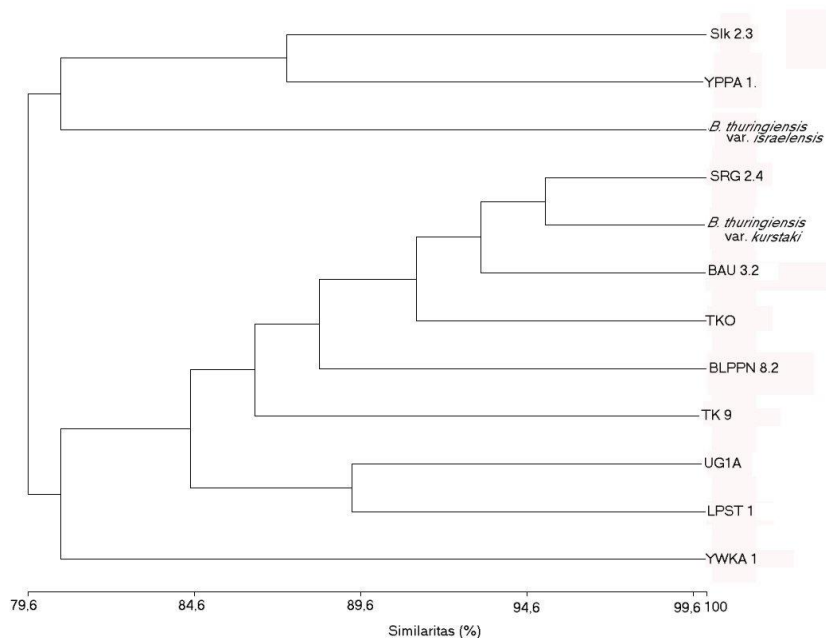
Karakter Kunci	<i>Bacillus</i>	SLK 2.3	SRNG2.4	TKO1	TK 9	YPPA 1	UG1A	BLPPN 8.2	YWKA1	BAU	LPST 1
Bentuk batang	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Punya endospore	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Gram Positif	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Sel Motil	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Anaerob	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Katalase positif	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Susunan Sel berantai	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Diameter >2,5 µl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabel 2. Karakter fenotik strain bakteri uji.

No.	Karakter	Strain Uji ( <i>Operational Taxonomic Unit</i> )										
		SLK2.3	SRNG2.4	TKO.1	TK9	YPPA.1	UG1A	BLPPN8.2	YWKA.1	BAU3.2	LPST.1	<i>B.thuringiensis</i> ser. <i>kurstaki</i>
<b>Morfologi Koloni dan Morfologi Sel</b>												
1.	Gram positif	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2.	Membentuk endospora	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3.	Sel bentuk batang	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4.	Panjang sel >2,5µm	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5.	Diameter sel > 1 µm	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6.	Koloni berwarna putih	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-
7.	Koloni berwarna krem	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8.	Koloni berwarna kuning	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+
9.	Diameter koloni > 2,5 mm	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10.	Elevasi koloni datar	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11.	Elevasi koloni cembung	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
12.	Tepi koloni <i>entire</i>	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+
13.	Tepi koloni <i>undulate</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
14.	Struktur dalam <i>transparent</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15.	Struktur dalam <i>Translucent</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16.	Struktur dalam <i>filamentous</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17.	Struktur dalam <i>arborescent</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
18.	Bentuk koloni <i>circular</i>	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+
19.	Bentuk koloni <i>Irregulair</i>	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-
20.	Bentuk koloni <i>curled</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
21.	Bentuk koloni <i>filamentous</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22.	Bentuk koloni NA tegak <i>filiform</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
23.	Bentuk koloni NA tegak <i>arborescent</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
24.	Bentuk koloni NA miring <i>filiform</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
25.	Bentuk koloni NA miring <i>spreading</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
26.	Spores ellipsoidal atau cylindrical	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
27.	Spores round	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
28.	Central atau paracentral	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
29.	Swelling the sporangium	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
30.	Crystalline parasporal bodies	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
31.	Sel motil	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
32.	Subterminal atau terminal	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
33.	Permukaan koloni mengkilap	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+
34.	Permukaan koloni tidak mengkilap	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-
35.	Bentuk kristal <i>rhomboidal</i>	+	+	-	-	+	-	+	-	+	-	-
36.	Bentuk kristal <i>spherical</i>	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	+
37.	Bentuk kristal <i>cuboid</i>	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Sifat Biokimiawi</b>												
38.	Glycerol	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-
39.	Erythritol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
40.	D- Arabinose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
41.	L-Arabinose	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+
42.	Ribose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
43.	D-Xylose	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-
44.	L-Xylose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

**Tabel 2. (lanjutan)**

45.	Adonitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
46.	β-Methyl-D-Xyloside	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
47.	Galactose	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-
48.	Glucose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
49.	Fructose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
50.	Manose	-	-	-	+	-	+	+	-	-	+	-
51.	Sorbose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
52.	Rhamnose	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
53.	Dulcitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
54.	Inositol	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
55.	Mannitol	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-
56.	Sorbitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
57.	αMethyl-D-Mannoside	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-
58.	αMethyl-D-Glucoside	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+	-
59.	N-Acetyl Glucosamine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
60.	Amygdalin	-	+	+	-	-	+	-	-	-	+	+
61.	Arbutin	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
62.	Esculin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
63.	Salicin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
64.	Cellobiose	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
65.	Maltose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
66.	Lactose	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-
67.	Melibiose	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-
68.	Sucrose	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+
69.	Trehalose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
70.	Inulin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
71.	Melezitose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
72.	Raffinose	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+
73.	Starch	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
74.	Glycogen	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
75.	Xylitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
76.	Gentiobiose	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-
77.	D-Turanose	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-
78.	D-Lyxose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
79.	D-Tagatose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
80.	D-Fucose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
81.	L-Fucose	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
82.	D-Arabitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
83.	L-Arabitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
84.	Gluconate	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
85.	2Keto-Gluconate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
86.	5 Keto-Gluconate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Fisiologis</b>												
87.	Anaerob fakultatif	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
88.	Max tempratur (25-50°C)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
89.	Min tempratur (3-20°C)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+



**Gambar 1.** Dendrogram yang menunjukkan hubungan antara 12 Strain *B. thuringiensis* yang didasarkan atas Analisis SSm dan Algoritma UPGMA.

## Simpulan

Berdasarkan analisis numerik-fenetik terhadap sejumlah besar karakter fenotipik dapat disimpulkan bahwa strain-strain yang dianalisis sangat beranekaragam dan dapat dibedakan secara jelas ke dalam *Cluster* Kurstaki dan *Cluster* Israelensis. Proses karakterisasi dan identifikasi isolat *B. Thuringiensis* dapat menggunakan analisis sistematik numerik-fenetik.

## Daftar Pustaka

- Chrispeels, M.J. dan Sadava, D.E. (Eds.). 1994. *Plants, Genes, and Agriculture*. Jones & Bartlett, Boston, MA.
- Ellar, D.J. 1997. The Structure and Function of *Bacillus thuringiensis*  $\delta$ -endotoxin and Prospects for Biopesticide Improvement. In: *Microbial Insecticide: Novelty or Necessity?* (ed. British Crop Protection Council), *Symposium Proceedings* 68, Pp. 83–100. British Crop Protection Council, Farnham.
- Goodfellow, M. dan O'Donnell, A.G. 1993. *Handbook of New Bacterial Systematics*. Academic Press Limited.
- Hastowo, S., Lay, B.W. dan Ohba, M. 1992. Naturally Occuring *Bacillus thuringiensis* in Indonesia. *J. of Appl. Bacteriology*, 73: 108–113.
- Hoofmann, M.P. dan Frodsham, A.C. 1993. *Biological Control: A Guide to Natural Enemies in North Amerika*. <http://www.nysaes.cornell.edu>. 17/09/2008.
- Kaneko, T., Nozaki, R. dan Aizawa, K. 1978. Deoxyribonucleic Acid Relatedness between *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis*. *Microbiology and Immunology*, 22: 639–641.
- Logan, N.A. dan Berkeley, R.C.W. 1981. Classification and Identification of Members of The Genus *Bacillus*. In: Berkeley, R.C.W. & Goodfellow, M (Eds.). *The Aerobic Endospore-Forming Bacteria*. Pp.105–140. Academic Press, London.
- Logan, N.A. dan Berkeley, R.C.W. 1984. Identification of *Bacillus* Strain using The API System. *J. of General Microbiology*, 130: 1871–1882.
- Martin, P.A.W. dan Dean, D.H. 1981. Genetics and Genetic Manipulation of *Bacillus thuringiensis*. In: H.D. Burges (Eds.). *Microbial Control of Pest and Plant Disease*. Academic Press Inc. London.
- O'Donnell, A.G., Norris, J.R. dan Berkeley, R.C.W. 1980. Characterisation of *Bacillus subtilis*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus licheniformis* and *Bacillus amyloliquefacians*, by pyrolysis gas-liquid chromatography: characterisation tested by using DNA-DNA hybridisation, biochemical tests and API systems. *International J. of Systematic Bacteriology*, 30: 448–459.

*Analisis Keanekaragaman Isolat Bacillus thuringiensis*

- Priest, F.G. dan Dewar, S.J. 2000. Bacteria and Insect. In: Priest, F.G. & Goodfellow, M. (Eds.). *Applied Microbial Systematics* 165-202. Kluwer, Dordrecht.
- Salaki, C.L., Situmorang, J., Sembiring, L. dan Niken, S.N.H. 2009. Uji Patogenisitas Isolat Bakteri Indigenus (*Bacillus thuringiensis*) terhadap Serangga Hama Kubis (*Crociodolomia binotalis* Zell). *Biota*, 14 (3): 192–197.
- Seki, T., Oshima, T. dan Oshima, Y. 1975. Taxonomic study of *Bacillus* by deoxyribonucleic acid-deoxyribonucleic acid hybridisation and interspecific transformation. *International J. of Systematic Bacteriology*, 25: 258–270.
- Seki, T., Chung, C.K., Mikami, H. dan Oshima, Y. 1978. Deoxyribonucleic Acid Homology and Taxonomy of The Genus *Bacillus*. *International J. of Systematic Bacteriology*, 28: 182–189.
- Sembiring, L. 2002. *Petunjuk Praktikum Sistematika Mikroba*. Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Biologi UGM, Yogyakarta.
- Situmorang, J., Sembiring, L. dan Sumarmi, S. 1993. Eksplorasi Bakteri Entomopatogenik sebagai Agen Pengendali Hayati Serangga Hama *Plutella*, *Spodoptera* dan *Heliothis*. *J. Matematika & Sains*. 1: 1–10.
- Skinner, F.A. dan Lovelock, D.W. 1979. *Identification Methods for Microbiologist*, 2<sup>nd</sup> ed. Academic Press, London.
- Sneath, H.A.P., Mair, N.S., Sharpe, M.E. dan Holt, J.G. 1986. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Vol.2. Williams & Wilkins Company. Baltimore.
- Sommerville, H.J. dan Jones, M.L. 1972. DNA Competition Studies within The *Bacillus cereus* Group of Bacilli. *J. of General Microbiology*, 73: 257–265.
- Suryanto, D., Chairani, Rusika, D., Lubis, N.A. dan Yurnaliza. 2007. Eksplorasi dan Bioasai Berbagai Isolat *Bacillus thuringiensis* Lokal terhadap Larva Beberapa Jenis Serangga. *Biota*, 12 (1): 61–67.