

## **Produksi Spora *Bacillus Thuringiensis* pada Media Limbah dengan Penambahan Tepung Cangkang Keong Mas dan Toksisitasnya terhadap *Spodoptera Litura* Fabr. (Lepidoptera: Noctuidae)**

*Production of Bacillus thuringiensis Spores in Agricultural Waste with Addition of Golden Snail Shell Powder and its Toxicity Against Spodoptera litura Fabr. (Lepidoptera: Noctuidae)*

Yulia Pujiastuti<sup>1\*)</sup>, Triyansyah Triyansyah<sup>1</sup>, Harman Hamidson<sup>1</sup>, E Effendy ffendy<sup>1</sup>,  
Suparman Suparman<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Program Studi Proteksi Tanaman  
Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya, Indralaya 30662

\*Penulis untuk korespondensi: ypujiastuti@unsri.ac.id

### **ABSTRACT**

Armyworm or *Spodoptera litura* is an important pest on the cultivation of plants. Controlling by using biological agents such as *Bacillus thuringiensis* is an alternative to the use of chemical insecticides which cause a negative impact on insects and environment. *B. thuringiensis*-based bio insecticide can be reproduced by using agricultural waste with the addition of golden snail shell flour. The study was aimed to investigate the production of *B. thuringiensis* spores on agricultural waste media and the addition of golden snail shell flour and its toxicity to armyworm, as well. The research design was a completely randomized design with 10 treatments and 3 replications. Treatment were the media of agricultural waste: 50 mL coconut water, 50 mL of tofu liquid waste, 50 mL of rice wash water and mixture of three media (v/v/v, 1:1:1) with the addition of golden shell flour as much as 5 g and mineral salt of CaCl<sub>2</sub>, MgSO<sub>4</sub>, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>. The results showed the production of bacterial spores ranged from 8.90x10<sup>7</sup> spores/mL to 9.51x10<sup>7</sup> spores/mL with the highest production in the mixed treatment of the three waste media (coconut water, tofu waste and rice laundry water). In this treatment the level of toxicity was 40% in larvae of armyworm. The weight of leaf feed consumed by armyworm at various treatments was ranged from 36.33 to 46.67 g/10 larvae. The addition of mashed shell flour to growth media of *B. thuringiensis* did not increase the number of spores.

Keywords: armyworm *Spodoptera litura*, bioinsecticide, growth medium, mortality, toxicity

### **ABSTRAK**

Ulat grayak atau *Spodoptera litura* merupakan hama penting pada budidaya tanaman. Pengendalian menggunakan agens hayati seperti *Bacillus thuringiensis* merupakan alternatif dari penggunaan insektisida kimia yang membawa dampak negatif pada serangga dan lingkungan. *B. thuringiensis* bioinsektisida dapat diperbanyak dengan menggunakan limbah pertanian dan penambahan tepung cangkang keong emas. Penelitian bertujuan untuk mempelajari produksi spora *B. thuringiensis* pada limbah pertanian dan penambahan tepung cangkang keong emas dan toksisitasnya terhadap ulat grayak. Desain penelitian berupa rancangan acak lengkap dengan 10 perlakuan dan 3 ulangan. Perlakuan berupa limbah pertanian: 50 mL air kelapa, 50 mL limbah cair tahu, 50 ml air cucian beras dan campuran ketiganya (vol/vol/vol: 1:1:1) dengan penambahan tepung cangkang keong emas sebanyak 5 g dan garam mineral berupa CaCl<sub>2</sub>, MgSO<sub>4</sub>, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>. Hasil penelitian menunjukkan bahwa produksi spora bakteri berkisar antara 8.90x10<sup>7</sup>

spora/mL sampai  $9.51 \times 10^7$  spora/mL dengan produksi tertinggi pada perlakuan campuran ketiga media limbah (air kelapa, limbah cair tahu dan air cucian beras). Pada perlakuan ini tingkat toksisitas sebanyak 40% pada ulat grayak. Berat pakan daun yang dikonsumsi oleh ulat grayak pada berbagai perlakuan berkisar 36.33-46.67 g/10 larva. Penambahan tepung cangkang keong mas pada media pertumbuhan *B. thuringiensis* tidak meningkatkan jumlah spora.

Kata kunci: bioinsektisida, media tumbuh, mortalitas, ulat grayak *Spodoptera litura*

## PENDAHULUAN

Pengendalian hama tanaman merupakan salah satu cara untuk mengurangi penurunan produksi tanaman yang disebabkan oleh serangan serangga hama. *Spodoptera litura* merupakan salah satu hama penting pada berbagai jenis tanaman seperti kedelai, tembakau dan jagung (Singh *et al.* 2015, Marwoto dan Suharsono 2008). Hama tersebut bersifat polifag dan kosmopolitan, penyebarannya dari wilayah subtropis sampai tropis. Apabila tidak dikendalikan akan menyebabkan penurunan produksi yang berdampak pada kerugian secara ekonomi. Arifin (2012) melaporkan bahwa pengendalian ulat grayak yang dilakukan sebagian besar petani hingga saat ini kebanyakan dengan mengandalkan insektisida sintesis yang diaplikasikan dengan dosis yang cenderung berlebihan sehingga berpotensi menimbulkan dampak negatif terhadap lingkungan. Pengendalian secara kimia sebaiknya digunakan sebagai cara terakhir dalam pengendalian hama terpadu (PHT) (Untung 2006). Oleh karena itu perlu dicarikan cara alternatif lain yang lebih aman terhadap lingkungan, organisme non target serta untuk manusia. Salah satu alternatif dengan menggunakan bakteri yang bersifat entomopatogenik *Bacillus thuringiensis*.

Bakteri *Bacillus thuringiensis* bersifat gram positif menghasilkan spora dan protein yang bersifat toksik saat sporulasi. Cara mematikan serangga target secara selektif melalui pencernaan makanan yang mempunyai tingkat pH yang tinggi, sehingga bagi serangga yang tidak memiliki pH pencernaan yang tinggi (bersifat) tidak akan sensitif terhadap *B. thuringiensis*. Oleh karena itu penelitian tentang *B.*

*thuringiensis*, terutama untuk produksinya, merupakan obyek penelitian yang masih sangat terbuka. Penggunaan bahan limbah pertanian banyak dimanfaatkan untuk memproduksi spora dan Kristal protein. Morris *et al.* (1997) melaporkan penggunaan 30 jenis limbah pertanian untuk memproduksi *B. thuringiensis*. Blondine dan Widyastuti (2013) menyebutkan penggunaan air kelapa yang banyak mengandung protein dan karbohidrat dapat merangsang pertumbuhan dan perkembangbiakan *B. thuringiensis*. Sedangkan Sarfat (2010) melaporkan bahwa limbah tahu cair dapat digunakan untuk memproduksi bioinsektisida dari bakteri *B. thuringiensis* karena memiliki kandungan protein.

*Bacillus thuringiensis* digunakan sebagai bahan aktif untuk memproduksi bio-insektisida. Bahan yang digunakan adalah isolat atau strain yang sudah teruji secara laboratorium terbukti mematikan serangga hama target. Pada umumnya kristal protein dan spora dapat dipanen setelah 48-72 jam. Penambahan bahan lainnya dalam perbanyakan *B. thuringiensis* masih sedikit dilakukan. Dalam penelitian ini dicoba menambahkan tepung cangkang keong emas yang mengandung chitin dan bahan lainnya. Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui produksi spora *B. thuringiensis* yang diperbanyak pada berbagai media tumbuh dari limbah dengan penambahan tepung cangkang keong emas serta toksisitasnya terhadap ulat grayak *Spodoptera litura* di laboratorium.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Entomologi dan Fitopatologi Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan

Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya, mulai bulan Juli sampai dengan September 2017. Isolat *B. thuringiensis* kode SMR-04 yang digunakan merupakan isolat dari tanah di lahan rawa Sumatera Selatan dan menjadi koleksi Lab. Entomologi.

Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 10 perlakuan dan setiap perlakuan diulang sebanyak 3 kali. Perlakuan berupa jenis media dan penambahan tepung cangkang keong emas sebagai berikut:

Tabel 1. Komposisi media cair pada setiap perlakuan

Perlakuan	Media tumbuh
TA	Air Kelapa (50 mL) + garam mineral
TB	Limbah Cair Tahu (50 mL) + garam mineral
TC	Air Cucian Beras (50 mL) + garam mineral
TD	Nutrient Broth (50 mL) + garam mineral
TE	Air Kelapa (25 mL) + Limbah Cair Tahu (25 mL) + Air Cucian Beras (25 mL) + garam mineral
CA	Air Kelapa (50 mL) + TCK (5 g) + garam mineral
CB	Limbah Cair Tahu (50 mL) + TCK (5 g) + garam mineral
CC	Air Cucian Beras (50 mL) + TCK (5 g) + garam mineral
CD	Air Kelapa (25 mL) + Limbah Cair Tahu (25 mL) + Air Cucian Beras (25 mL) + TCK (5 g) + garam mineral
CE	Nutrient Broth (50 mL) + TCK (5 g) + garam mineral

Keterangan : TCK = Tepung Cangkang Keong Emas

### Persiapan Tepung Cangkang Keong Emas

Keong emas dikumpulkan dari lahan rawa lebak di desa Pemulutan Ulu Kecamatan Pemulutan Kabupaten Ogan Ilir. Keong emas dimasukkan ke dalam ember berukuran diameter 50 cm dan tinggi 30 cm dan digenangi air. Setelah dipuaskan selama 48 jam keong mas dibersihkan kemudian direbus sampai mendidih selama 15-20 menit. Selanjutnya cangkang, daging dan alat pencernaanya dipisahkan. Cangkang yang sudah terpisah dikeringkan kedalam oven pada suhu 100°C selama 18 jam. Selanjutnya cangkang dihaluskan dengan menggunakan blender sampai halus dan diayak untuk mendapatkan hasil tepung yang halus. Tepung cangkang keong emas siap digunakan untuk pembuatan biopestisida.

### Persiapan Serangga Uji

Telur dan larva diperoleh dari kebun kedelai di desa Pelabuhan Dalam Kecamatan Pemulutan Kabupaten Ogan Ilir. Selanjutnya, dibawa ke laboratorium dan dipelihara dalam wadah pemeliharaan (diameter 20 cm dan tinggi 25 cm). Pemberian pakan dilakukan setiap hari

dengan menggunakan daun kangkung dan wadah pemeliharaan dibersihkan setiap hari. Pada waktu akan ulat mencapai pre pupa, ke dalam wadah pemeliharaan dimasukkan tanah yg sudah disetrilkan sebagai tempat untuk berkepompong. Apabila sudah menjadi imago, ngengat *S. litura* diberi pakan berupa larutan madu 10%. Serangga uji yang digunakan adalah generasi ketiga (F2) pada saat larva mencapai instar ketiga.

### Pembuatan Bioinsektisida

Produksi spora *B. thuringiensis* pada media limbah dimulai dengan penyiapan bahan-bahan berupa air kelapa, limbah cair tahu, air cucian beras. Air kelapa diperoleh dari pasar Indralaya, limbah cair tahu diperoleh dari industri rumah tangga tahu Sumedang di Jalan Raya Palembang-Prabumulih Km 20 sedangkan air cucian beras diperoleh dengan cara merendam beras selama 5 menit dan airnya diambil sebagai bahan percobaan. Untuk isolate *B. thuringiensis* disiapkan dengan cara membuat *seed culture* yaitu dengan mengambil 1 loop jarum ose isolat *B. thuringiensis* SMR-04, dimasukkan dalam 10 mL media *Nutrient Broth* (NB)

kemudian dikocok dengan menggunakan shaker selama 12 jam dengan kecepatan 200 rpm. Selanjutnya diambil 5 mL untuk dimasukkan dalam 10 mL NB, dikocok dengan shaker selama 12 jam dengan kecepatan 200 rpm *seed culture* siap digunakan untuk pembuatan bioinsektisida. Campuran media air kelapa, limbah cair tahu, limbah cucian beras dan tepung cangkang keong mas pada masing-masing perlakuan dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer 250 mL sebanyak 50 mL, kemudian tambahkan garam-garam mineral mengikuti prosedur Dulmage dan Rhodes (1971) dalam Pujiastuti (2013a) sebanyak 50 mg  $\text{CaCl}_2$ , 50 mg  $\text{MgSO}_4$ , 50 mg  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , dan 50 mg  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ . Selanjutnya ditutup dengan aluminium foil dan diikat karet gelang, disterilkan dengan cara dimasukkan ke dalam autoclaf dengan suhu  $121^\circ\text{C}$  selama 20 menit pada tekanan 1 atm. Setelah dingin, tambahkan *seed culture* sebanyak 5 mL dimasukkan pada setiap labu Erlenmeyer. Selanjutnya, dikocok dengan shaker selama 72 jam dengan kecepatan 200 rpm.

Perhitungan spora dilakukan dengan cara mengambil sebanyak 1 mL bioinsektisida, kemudian dilakukan pengenceran sampai  $10^{-7}$ . Hasil pengenceran kemudian diteteskan pada *haemocytometer* dan ditutup dengan *cover glass*. Selanjutnya hitung dan catat jumlah sporanya.

### Bioassay

Uji mortalitas menggunakan daun kangkung sebagai pakan. Daun kangkung ditimbang sebanyak 5 g, kemudian direndam dengan bioinsektisida sesuai dengan perlakuan selama 1 menit. Selanjutnya dikering anginkan sampai tidak ada cairan yang menempel, dimasukkan ke dalam cawan plastik berukuran (20x10)  $\text{cm}^2$ , kemudian dimasukkan 5 ekor *S. litura* instar 3 untuk setiap perlakuan dan diulang sebanyak 3 kali. Pengamatan mortalitas larva dilakukan setiap 24 jam, aplikasi selama 7 hari. Mortalitas larva dihitung dengan rumus:

$$P = \frac{LM}{LK} \times 100\%$$

Keterangan:

P = Persentase mortalitas larva

LM = Jumlah larva yang mati

LK = Jumlah larva uji

### Berat Daun yang dikonsumsi

Pengamatan dilakukan dengan menimbang berat daun kangkung yang telah dikonsumsi oleh larva *Spodoptera litura* setelah 24 jam aplikasi selama 7 kali pengamatan.

### Analisis Data

Data tentang produksi spora *B. thuringiensis* pada beberapa media limbah pertanian, data mortalitas dan data konsumsi pakan dianalisis dengan *Analysis of Variance* (ANOVA). Jika terdapat pengaruh perlakuan, maka dilakukan uji lanjut, sedangkan nilai  $LT_{50}$ , dihitung dengan *Analisis Probit*.

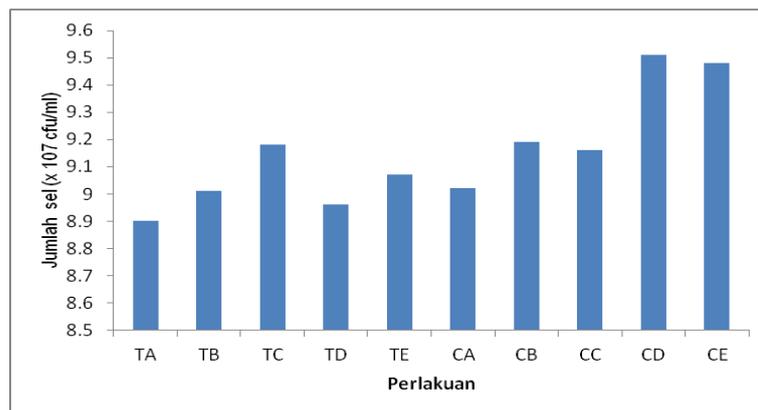
## HASIL

### Produksi spora *Bacillus thuringiensis*

Produksi spora *B. thuringiensis* pada media limbah pertanian berupa air kelapa, air limbah tahu dan air cucian beras, pada perlakuan tanpa penambahan tepung cangkang keong emas menghasilkan spora dengan kisaran  $8,90 \times 10^7$  spora/mL sampai  $9,07 \times 10^7$  spora/mL. Sedangkan pada perlakuan dengan penambahan tepung cangkang, spora yang dihasilkan berkisar dari  $9,02 \times 10^7$  spora/mL sampai  $9,51 \times 10^7$  spora/mL (Gambar 1). Kelompok dengan penambahan tepung cangkang keong emas, terlihat lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok tanpa penambahan tepung cangkang. Namun demikian secara uji statistik semua perlakuan menunjukkan berbeda tidak nyata satu sama lain. Dalam hal ini penambahan tepung cangkang keong emas tidak berpengaruh terhadap produksi spora. Tepung cangkang keong emas banyak mengandung protein 2,94%, lemak kasar 0,12%, Kalsium (Ca) 29,35%, dan

phospor 0,19% (BPTP Kaltim 2001). Ada dugaan bahwa penambahan bahan tepung cangkang tersebut mempengaruhi pembentukan spora. Dari berbagai media yang digunakan, media campuran ketiga limbah tersebut (air kelapa + limbah cair tahu + air cucian beras) ditambah dengan tepung cangkang keong emas menunjukkan

produksi *B. thuringiensis* yang tinggi. Ada kemungkinan bahwa dengan kandungan yang lebih lengkap dalam media perbanyakan tersebut akan lebih mendorong munculnya banyak sel-sel *B. thuringiensis* (Devi dan Rao, 2005; Marzban, 2012).



Gambar 1. Produksi sel *Bacillus thuringiensis* pada media limbah pertanian dengan penambahan tepung cangkang keong mas.

**Mortalitas larva *Spodoptera litura***

Mortalitas larva diamati setiap 12 jam dengan memperhatikan gejala kematian berupa berkurangnya jumlah pakan yang dikonsumsi, gerakan tubuh menjadi lambat, tidak aktif dan akhirnya mati. Tingkat mortalitas pada media limbah (air kelapa, air limbah tahu, air cucian dan campuran ketiganya) tanpa penambahan tepung cangkang keong emas menunjukkan kisaran mortalitas dari 44,44-62,22% dengan tingkat mortalitas tertinggi pada perlakuan media campuran ketiga macam bahan tersebut (62,22%). Pada perlakuan dengan penambahan tepung cangkang keong emas terendah tingkat mortalitas (40%) pada perlakuan air cucian beras dan tertinggi sebanyak 53,33% ditemukan pada perlakuan NB. Hasil perhitungan analisis statistik menunjukkan bahwa semua perlakuan berbeda tidak nyata. Data selengkapnya disajikan pada Gambar 2.

Tingkat mortalitas tinggi dipengaruhi oleh tingkat toksisitas yang tinggi dari *B. thuringiensis* tersebut. Toksisitas suatu isolate *B. thuringiensis* dipengaruhi oleh adanya Kristal protein dan

spora yang terkandung didalamnya. Apabila terdapat kesesuaian dengan tingkat keasaman (pH) pencernaan (midgut) suatu spesies serangga, maka kristal protein dapat terurai menjadi protein yang toksik terhadap serangga. Pada spora *B. thuringiensis* yang mendapatkan habitat yang sesuai, akan tumbuh dan berkembang biak dalam pencernaan larva serangga (Bravo *et al.* 2007).

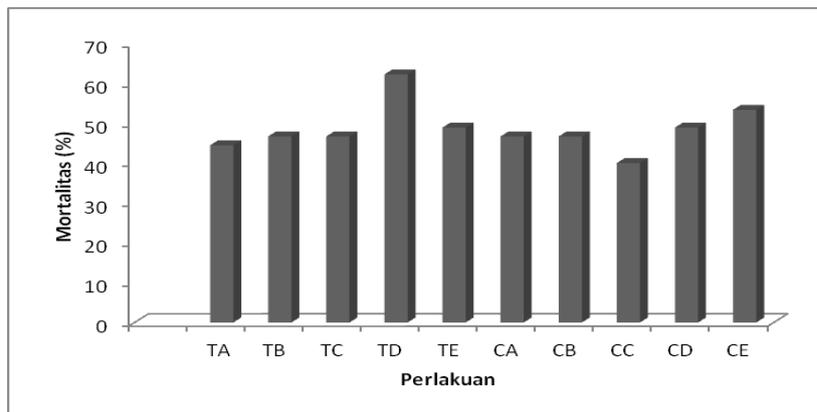
**Berat pakan yang dikonsumsi oleh *Spodoptera litura***

Larva instar ketiga yang digunakan dalam pengujian bioassay, setelah mengkonsumsi daun yang diperlakukan selanjutnya diberi pakan daun kangkung segar untuk menjaga agar larva agar tidak mati kelaparan. Tingkat konsumsi pada media limbah (air kelapa, air limbah tahu, air cucian dan campuran ketiganya) tanpa penambahan tepung cangkang keong emas menunjukkan kisaran konsumsi pakan dari 10,8-11,6 g dengan tingkat konsumsi tertinggi pada perlakuan media campuran ketiga macam bahan tersebut (11,6 g). Pada perlakuan dengan penambahan tepung

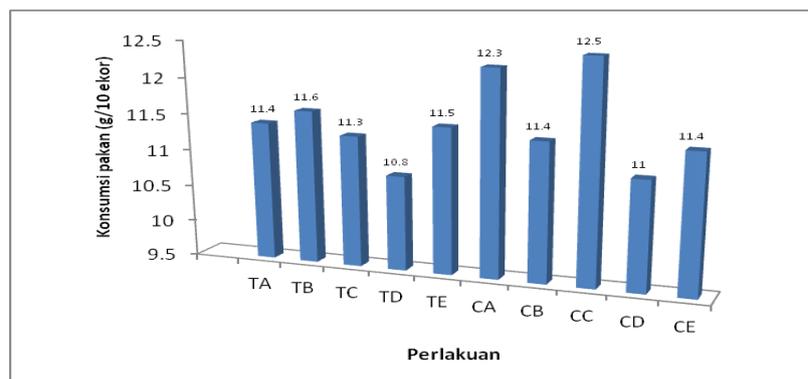
cangkang keong emas terendah (11 g) pada perlakuan air cucian beras dan tertinggi sebanyak 12,5 g ditemukan pada perlakuan air cucian beras. Data selengkapnya disajikan pada Gambar 3.

Pada perlakuan media campuran air kelapa, air limbah tahu, air cucian beras tanpa penambahan tepung cangkang keong emas (TD) menunjukkan hasil tingkat konsumsi pakan yang paling rendah (10,8 g/10 ekor). Hal ini bila dikaitkan dengan tingkat mortalitasnya (Gambar 2) yang

tertinggi yaitu sebanyak 62,2%. Perlakuan *B. thuringiensis* yang toksik akan meningkatkan tingkat mortalitas, akibatnya serangga uji akan mengurangi tingkat konsumsi pakan karena banyaknya serangga uji yang mengalami gangguan pada proses pencernaannya. Hal ini didukung oleh pendapat Bravo *et al* (2007) yang menguraikan bahwa toksin dari *B. thuringiensis* akan menyebabkan kematian pada serangga uji melalui saluran pencernaan.



Gambar 2. Mortalitas larva instar 3 *Spodoptera litura* pada perlakuan *Bacillus thuringiensis* pada media limbah pertanian dengan penambahan tepung cangkang keong mas.



Gambar 3. Berat pakan daun yang dikonsumsi larva *Spodoptera litura*.

### Nilai Lethal Time (LT<sub>50</sub>)

Nilai LT<sub>50</sub> merupakan nilai yang menunjukkan waktu kematian serangga uji sebanyak 50 persen dari waktu uji. Semakin rendah nilai LT<sub>50</sub> berarti bahan tsb semakin toksik. Pada percobaan ini, nilai terendah dihasilkan pada perlakuan media campuran air kelapa,

limbah cair tahu dan air cucian beras tanpa penambahan tepung cangkang keong emas, yaitu sebesar 70,11 jam. Hal ini sesuai dengan tingkat mortalitas yang ditunjukkan sebagai mortalitas terting (62,2%) dan tingkat konsumsi pakan yang terendah (10,11 g/10 ekor). Dalam kurun waktu 70,11 jam sebanyak 50% serangga uji

mengalami mortalitas. Dibandingkan dengan perlakuan lainnya, maka perlakuan dengan media campuran ketiga bahan tersebut dapat menyebabkan kematian paling cepat, paling banyak mortalitas dan paling sedikit konsumsi pakan yang disediakan.

Memilih media perbanyakkan bagi *B. thuringiensis* yang menghasilkan produk *B. thuringiensis* yang bersifat toksik dan mempunyai nilai  $LT_{50}$  yang rendah, merupakan hal yang harus dipertimbangkan. Hal ini didukung oleh

pendapat Palma *et al.* (2014) yang menyebutkan bahwa tingkat toksisitas yang tinggi dan bersifat selektif merupakan salah satu persyaratan dalam pembuatan bioinsektisida. Penggunaan bahan-bahan berupa limbah pertanian sangat dianjurkan untuk memanfaatkan limbah dan menggunakannya untuk menghasilkan bahan bioinsektisida yang bermanfaat dalam pengendalian hama tanaman secara hayati.

Tabel 2. Nilai *Lethal time* ( $LT_{50}$ ) larva *Spodoptera litura* pada berbagai perlakuan penambahan tepung cangkang keong emas

Perlakuan	Selang Kepercayaan			Persamaan Regresi
	$LT_{50}$ (Jam)	Batas Bawah	Batas Atas	
TA	78.81	71.98	85.67	$Y = 0.012 X - 2.104$
TB	81.23	74.51	88	$Y = 0.012 X - 2.169$
TC	89.05	82.33	95.79	$Y = 0.012 X - 2.377$
TD	70.11	62.76	77.5	$Y = 0.012 X - 1.872$
TE	94.98	88.25	101.77	$Y = 0.012 X - 2.535$
CA	80.55	73.35	87.82	$Y = 0.012 X - 2.150$
CB	103.3	96.5	110.13	$Y = 0.012 X - 2.758$
CC	106.71	100.38	113.07	$Y = 0.012 X - 2.849$
CD	94.6	88.16	101.068	$Y = 0.012 X - 2.525$
CE	83.33	76.11	90.662	$Y = 0.012 X - 2.224$

## KESIMPULAN

Produksi spora bakteri berkisar antara  $8,90 \times 10^7$  spora/mL sampai  $9,51 \times 10^7$  spora/mL dengan produksi tertinggi pada perlakuan campuran ketiga media limbah (air kelapa, limbah cair tahu dan air cucian beras). Pada perlakuan ini tingkat toksisitas sebanyak 40% pada ulat grayak. Berat pakan daun yang dikonsumsi oleh ulat grayak pada berbagai perlakuan berkisar 36,33-46,67 g. Penambahan tepung cangkang keong mas pada media pertumbuhan *B. thuringiensis* tidak meningkatkan jumlah spora.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Data yang dicantumkan pada makalah ini merupakan sebagian data dari penelitian yang didanai oleh skim penelitian Hibah Kompetitif Universitas Sriwijaya

tahun 2017, dengan nomer kontrak 988/UN.9.3.1/2017, dengan penulis pertama sebagai ketua tim peneliti. Untuk itu, penulis mengucapkan terimakasih.

## DAFTAR PUSTAKA

- Arifin M. 2012. Bioinsektisida S/NPV untuk mengendalikan ulat grayak mendukung swasembada kedelai. *Jurnal Pengembangan Inovasi Pertanian* 5(1):19-31.
- BPTP Kaltim (Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Kalimantan Timur). 2001. *Keong Mas Sebagai Pakan Alternatif Untuk Ayam Buras*. Lembar Informasi Pertanian. BPTP Kalimantan Timur.
- Blondine CP dan Widyastuti U. 2013. Efektivitas *Bacillus thuringiensis* H-14 strain lokal dalam buah kelapa terhadap larva *Anopheles*

- sp. dan *Culex* sp. di Kampung Laut Kabupaten Cilacap. *Media Litbangkes* 23(2):58-64.
- Bravo A, Gill SS, dan Soberon M. 2007. Mode of action of *Bacillus thuringiensis* Cry and Cyt toxins and their potential for insect control. *Toxicon*. 49(4):423-435.
- Bravo A, Likitvivatanavong S, Gillb SS, and Soberóna M. 2011. *Bacillus thuringiensis*: A story of a successful bioinsecticide. *Insect Biochem Mol Biol*. 41(7):423-431.
- Devi PSV dan Rao MLN. 2005. Tailoring production technology: *Bacillus thuringiensis* (Bt) for localized production. *Tailoring Biotechnologies* 1(2):107-120.
- Kalsoven LGE. 1981. *The Pests of Crops in Indonesia*. Translated and Revised by PA van der Laan. PT Ichtiar Baru, Jakarta.
- Marwoto dan Suharsono. 2008. Strategi dan Komponen teknologi pengendalian ulat grayak (*Spodoptera litura*, Fabricius) pada tanaman kedelai. *Jurnal Litbang Pertanian* 27(4): 131-136.
- Marzban R. 2012. investigation on the suitable isolate and medium for production of *Bacillus thuringiensis*. *J. Biopest*. 5(2):144-147.
- Morris ON, Kanagaratnam P, dan Converse V. 1997. Suitability of 30 agricultural products and by-products as nutrient sources for laboratory production of *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai* (HD133) *Journal of Invertebrate Pathology* 70:113-120.
- Palma L, Muñoz D, Berry C, Jesús Murillo J, dan Caballero P. 2014. *Bacillus thuringiensis* toxins: An overview of their biocidal activity. *Toxins* (6):3296-3325.
- Sarfat MS. 2010. produksi bioinsektisida dari *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai* menggunakan limbah industri tahu sebagai substrat. Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Singh IK, Ragesh PR, Ganta S, dan Singh AK. 2015. Oviposition behaviour of tobacco caterpillar, *Spodoptera litura* (Fabricius) (Lepidoptera: Noctuidae) on different host plants. *Journal of Entomology and Zoology Studies* 3(3):40-44.
- Untung, K. 2006. Pengantar pengelolaan Hama terpadu. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. Hal. 218 .