

**UJI EFEKTIVITAS ISOLAT *Bacillus thuringiensis* YANG BERASAL DARI  
TANAH NAUNGAN BUNGUR (*Lagerstroemia speciosa*) TERHADAP  
STADIUM DEWASA *Aedes aegypti***

**(Skripsi)**

**Oleh**

**YELBI RIZKI YULIAN**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM**

**UNIVERSITAS LAMPUNG**

**BANDAR LAMPUNG**

**2016**

## ABSTRAK

### UJI EFEKTIVITAS ISOLAT *Bacillus thuringiensis* YANG BERASAL DARI TANAH NAUNGAN BUNGUR (*Lagerstroemia speciosa*) TERHADAP STADIUM DEWASA *Aedes aegypti*

Oleh

Yelbi Rizki Yulian

Demam Berdarah *Dengue* (DBD) merupakan penyakit yang disebabkan oleh virus *dengue* dan ditularkan melalui gigitan nyamuk *Aedes aegypti*. Salah satu upaya pengendalian vektor DBD secara biologi yaitu, dengan memanfaatkan protein *Cry* dari spora *Bacillus thuringiensis* (*Bt*). *Bt* bersifat aman dan tidak merusak lingkungan sebab mempunyai target yang spesifik (tidak mematikan serangga yang bukan sasaran). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efektivitas *Bt* dari tanah naungan bungur (*Lagerstroemia speciosa*) di sekitar lingkungan Universitas Lampung terhadap stadium dewasa *Aedes aegypti*. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari - Maret 2016 bertempat di Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium Zoologi FMIPA Universitas Lampung. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 1 faktor dan 5 perlakuan kepadatan spora bakteri, yaitu : perlakuan 1 (kontrol), perlakuan 2 (kepadatan spora dalam 200 ppm), perlakuan 3 (kepadatan spora dalam 400 ppm), perlakuan 4 (kepadatan spora dalam 600 ppm) dan perlakuan 5 (kepadatan spora dalam 800 ppm). Masing-masing perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Data yang diperoleh dilakukan analisis ragam Anova pada (5%) setelah itu dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *Bt* dari tanah naungan bungur berpengaruh terhadap nyamuk *Aedes aegypti*. Namun, pengujian *Bt* terhadap kematian nyamuk *Aedes aegypti* belum dapat dikatakan efektif sebab, persentase kematian nyamuk masih di bawah 50%.

Kata kunci : *Bacillus thuringiensis*, protein *Cry*, DBD, *Aedes aegypti*, tanah naungan

**UJI EFEKTIVITAS ISOLAT *Bacillus thuringiensis* YANG BERASAL DARI  
TANAH NAUNGAN BUNGUR (*Lagerstroemia speciosa*) TERHADAP  
STADIUM DEWASA *Aedes aegypti***

Oleh

Yelbi Rizki Yulian

Skripsi

Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar  
SARJANA SAINS

pada  
Jurusan Biologi  
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2016**

Judul Skripsi : **UJI EFEKTIVITAS ISOLAT *Bacillus thuringiensis* YANG BERASAL DARI TANAH NAUNGAN BUNGUR (*Lagerstroemia speciosa*) TERHADAP STADIUM DEWASA *Aedes aegypti***

Nama Mahasiswa : **Yelbi Rizki Yulian**

No. Pokok Mahasiswa : 1217021075

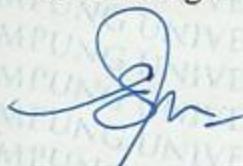
Jurusan : Biologi

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

**MENYETUJUI**

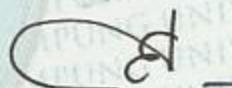
**1. Komisi Pembimbing**

Pembimbing I



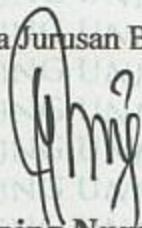
**Dr. Emantis Rosa, M.Biomed.**  
NIP 19580615 198603 2 001

Pembimbing II



**Dra. C.N. Ekowati, M.Si.**  
NIP 19580818 198503 2 001

**2. Ketua Jurusan Biologi FMIPA**



**Dra. Nuning Nurcahyani, M.Sc.**  
NIP 19660305 199103 2 001

**MENGESAHKAN**

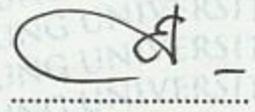
1. Tim Penguji

Ketua : **Dr. Emantis Rosa, M.Biomed.**



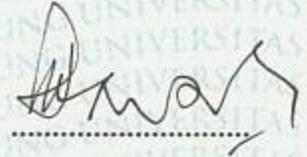
.....

Sekretaris : **Dra. C.N. Ekowati, M.Si.**



.....

Penguji  
Bukan Pembimbing : **Dr. Herawati Soekardi, M.S.**



.....

Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



**Prof. Warsito, S.Si., D.E.A., Ph.D.**  
NIP. 19710212 199512 1 001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : **28 Juli 2016**

## RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Kota Bumi, Lampung Utara pada tanggal 30 Juli 1994, sebagai anak pertama dari lima bersaudara pasangan Bapak Yuli Anwar dan Ibu Yeni Marlis.

Penulis menyelesaikan Pendidikan Sekolah Dasar di SD N 22 Balai Tengah pada tahun 2006, Sekolah Menengah Pertama (SMP) di SMP N 1 Lubuk Jantan pada tahun 2006 dan Sekolah Menengah Atas (SMA) di SMA N 1 Lintau Buo Utara, Tanah Datar, Sumatra Barat pada tahun 2012.

Pada tahun 2012, penulis terdaftar sebagai mahasiswa Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN). Selama menjadi mahasiswa, penulis pernah menjabat sebagai Anggota Bidang Kominfo pada organisasi HIMBIO. Penulis juga pernah menjadi Asisten Mata Kuliah Mikrobiologi umum dan Mikrobiologi Lingkungan. Selain itu, penulis pernah mengikuti kegiatan Kuliah Kerja Nyata (KKN) Kebangsaan di Provinsi Riau, pada bulan Juli – Agustus 2015.

## *PERSEMBAHAN*

*Sujud syukur kusembahkan kehadiran Tuhan YME atas takdirMu telah Kau jadikan aku manusia yang senantiasa berpikir, berilmu, beriman dan bersabar dalam menjalani kehidupan ini. Semoga keberhasilan ini menjadi satu langkah awal bagiku untuk meraih cita-cita besarku.*

*Lantunan Al-fatihah beriring Shalawat dalam silahku merintih, menadahkan doa dalam syukur yang tiada terkira, terima kasihku untukmu. Kupersembahkan sebuah karya kecil ini untuk Ayahanda dan Ibundaku tercinta, yang tiada hentinya memberiku semangat, doa, dorongan, nasehat, kasih sayang serta pengorbanan yang tak tergantikan hingga aku selalu kuat menjalani setiap rintangan yang ada didepanku..*

*Ayah... Ibu...terimalah bukti kecil ini sebagai tanda keseriusanku untuk membalas semua pengorbananmu. Kalian yang ikhlas mengorbankan jiwa dan raga tanpa kenal lelah, dalam lapar berjuang separuh nyawa hingga segalanya.. Maafkan anakmu Ayah... Ibu... masih saja ananda menyusahkanmu..*

*Terimakasih kuucapkan..  
Atas segala kekhilafan dan kekuranganku,  
kurendahkan hati serta diri untuk mencurahkan beribu kata maaf.  
Skripsi ini kupersembahkan...*

## **MOTTO**

*Jika Allah menolong kamu, maka tak adalah orang yang dapat mengalahkan kamu; jika Allah membiarkan kamu (tidak memberi pertolongan), maka siapakah gerangan yang dapat menolong kamu (selain) dari Allah sesudah itu? Karena itu hendaklah kepada Allah saja orang-orang mukmin bertawakkal.*

**( QS : ALI 'IMRAN, 160 )**

*“ Calamvs Gladio Fortior “*

*( Pena lebih tajam dari pada pedang )*

**( Winston Churchill )**

*“Karena hidup juga butuh praktek  
bukan hanya sekedar teori yang sengaja diingat untuk kemudian dilupakan.”*

**( Penulis )**

## SANWACANA

Puji syukur kepada Allah SWT atas rahmat dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan salah satu syarat dalam menempuh pendidikan strata satu atau sarjana dalam bidang sains yaitu skripsi yang berjudul “ **UJI EFEKTIVITAS ISOLAT *Bacillus thuringiensis* YANG BERASAL DARI TANAH NAUNGAN BUNGUR (*Lagerstroemia speciosa*) TERHADAP STADIUM DEWASA *Aedes aegypti* ”.**

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan ini tidak terlepas dari bantuan dan peranan berbagai pihak, maka dari itu penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih kepada :

1. Keluargaku tercinta Ayah,Ibu, dan adik-adik yang telah memberikan semangat, nasehat, motivasi serta doa yang tidak pernah putus;
2. Ibu Dr. Emantis Rosa, M.Biomed. selaku Dosen Pembimbing I yang telah memberikan saran, kritikan, masukan, serta bimbingan selama proses pembuatan skripsi ini;

3. Ibu Dra.C.N. Ekowati, M.Si. selaku Dosen Pembimbing II yang telah memberikan bimbingan dan arahan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini;
4. Ibu Dr. Herawati Soekardi M.Si. selaku penguji skripsi, yang telah memberikan kritik dan saran serta ketersediaannya menjadi pembahas dalam penelitian ini sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik;
5. Ibu Dra. Nuning Nurcahyani, M.Sc. selaku Ketua Jurusan Biologi fakultas MIPA, Universitas Lampung;
6. Bapak Ir. Zulkifli, M.Sc. selaku pembimbing akademik yang telah membantu penulis dalam mengurus urusan akademik;
7. Bapak Prof. Warsito, D.E.A., Ph.D. selaku Dekan FMIPA Universitas Lampung;
8. Bapak dan Ibu dosen jurusan Biologi FMIPA Unila yang telah memberikan ilmu dan bantuannya kepada penulis;
9. Teman seperjuangan mikroholoc 2012 ( Laras, Fajrin, dan Ambar ) serta adik-adik mikroholoc 2013, terimakasih untuk semangat, saran, kritik, dukungan, semangat, dan kerja samanya selama penulis menjalani penelitian ini;
10. Sahabat-sahabat tercinta Mbel Carol, Mbel Rahma, Try dan teman-teman dari keluarga Biologi angkatan 2012 ( Asri, Aul, Mita, Lia, Jevica, Arum, Dewi, Sheila, Nisa, Catur, Nike, Etika, Puti, Faizatin, Dwi, Emil, Imamah, Sayu, Agustina, Putri M, Welmi, Amanda, Naomi, Erika, Indi, Aska, Niken, Afrisa, Linda, Poppy, Heni, Khorik, Lutfi, Mustika, Nora, Lu'lu, Nindya, Reni, Amal, Meri, Propal, Bebi, Pepti, Putri R, Luna, Sabrina, Wina, Riza, Radela, Marli, Apri, Kadek, Abdi, Huda, dan Agung,

11. Kakak tingkat 2009, 2010, 2011, adik-adik tingkat 2013, 2014, 2015, dan seluruh Wadya Ballad HIMBIO yang tidak dapat disebutkan satu persatu, terimakasih atas kebersamaan dan pembelajaran yang sangat berarti bagi penulis;
12. Sahabat-sahabat Sabianovers, terimakasih untuk dukungan, semangat, canda tawa, dan kebersamaan yang diberikan untuk penulis;
13. Karyawan dan staff Laboran Jurusan Biologi serta seluruh pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu yang telah membantu dalam penyelesaian skripsi ini, penulis mengucapkan terimakasih
14. Almamater Tercinta;

Semoga Tuhan YME selalu memberikan rahmat dan karuniaNya kepada semua pihak telah membantu penulis. Akhir kata, penulis menyadari bahwa di dalam penyusunan skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, akan tetapi besar harapan semoga hasil tulisan ini dapat berguna dan bermanfaat bagi kita semua.

Bandar lampung, Juli 2016

Penulis,

*Yelbi Rizki Yulian*

## DAFTAR ISI

Halaman

**DAFTAR TABEL** ..... **xi**

**DAFTAR GAMBAR** ..... **xii**

### **I. PENDAHULUAN**

A. Latar Belakang.....	1
B. Tujuan Penelitian.....	4
C. Manfaat Penelitian.....	4
D. Kerangka Pemikiran.....	5
E. Hipotesis.....	6

### **II. TINJAUAN PUSTAKA**

A. Bakteri <i>Bacillus thuringiensis</i> .....	7
1. Biologi Bakteri .....	7
2. Kristal protein <i>Bacillus thuringiensis</i> .....	8
B. Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> .....	12
1. Klasifikasi <i>Aedes aegypti</i> .....	12
2. Morfologi <i>Aedes aegypti</i> .....	12
C. Prinsip Kerja Insektisida.....	18
D. Tanah Naungan Pohon.....	19

### **III. METODE PENELITIAN**

A. Waktu dan Tempat Penelitian.....	21
B. Alat dan Bahan .....	21
C. Metode Penelitian .....	23
D. Pelaksanaan Penelitian .....	24
E. Analisis .....	29

F. Diagram Alir.....	31
<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
A. Hasil .....	32
B. Pembahasan .....	35
<b>V. SIMPULAN DAN SARAN</b>	
A. Kesimpulan .....	40
B. Saran.....	41
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>42</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>45</b>

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
1. Hasil karakterisasi <i>Bacillus thuringiensis</i> dari tiga tanah naungan bungur di lingkungan Universitas Lampung .....	32
2. Hasil uji pengaruh kepadatan spora <i>Bt</i> A terhadap stadium dewasa <i>Aedes aegypti</i> .....	33
3. Hasil uji pengaruh kepadatan spora <i>Bt</i> B terhadap stadium dewasa <i>Aedes aegypti</i> .....	34
4. Hasil uji pengaruh kepadatan spora <i>Bt</i> C terhadap stadium dewasa <i>Aedes aegypti</i> .....	34
5. Tabel Statistik Deskriptif uji efektivitas <i>Bt</i> naungan bungur A .....	49
6. Uji Analisis Variasi efektivitas <i>Bt</i> naungan bungur A .....	50
7. Tabel Beda Nyata Terkecil uji efektivitas <i>Bt</i> naungan bungur A .....	51
8. Tabel Statistik Deskriptif uji efektivitas <i>Bt</i> naungan bungur B .....	52
9. Tabel Uji Analisis Varian efektivitas <i>Bt</i> naungan bungur B.....	54
10. Tabel Beda Nyata Terkecil uji efektivitas <i>Bt</i> naungan bungur B.....	55
11. Tabel Statistik Deskriptif uji efektivitas <i>Bt</i> naungan bungur C .....	56
12. Uji Analisis Varian efektivitas <i>Bt</i> naungan bungur C.....	58
13. Beda nyata terkecil uji efektivitas <i>Bt</i> naungan bungur C.....	59
14. Karakteristik tanah naungan bungur pada tiga titik pengambilan.....	60

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Hasil <i>scanning</i> kristal protein <i>Bt</i> yang diamati menggunakan mikroskop electron .....	9
2. Bagian ultrastruktur pada sporulasi sel <i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>Israelensis</i> .....	11
3. Telur <i>Aedes aegypti</i> .....	14
4. Larva <i>Aedes aegypti</i> .....	15
5. Pupa <i>Aedes aegypti</i> .....	16
6. <i>Aedes aegypti</i> dewasa.....	17
7. Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> sebelum dan sesudah terpapar <i>Bt</i> .....	35
8. Bakteri <i>Bt</i> .....	61
9. Media kultur air kelapa .....	61
10. Spora <i>Bt</i> pada media cawan.....	61
11. <i>Bt</i> pada media miring .....	61
12. Larva <i>Aedes aegypti</i> dalam bak pemeliharaan .....	61
13. Telur <i>Aedes aegypti</i> .....	62
14. Memisahkan larva dan pupa.....	62
15. Pupa nyamuk.....	62

16. Nyamuk setelah terpapar *Bt*.....62

## I. PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Indonesia merupakan daerah yang memiliki iklim tropis dan bercurah hujan tinggi. Kondisi tersebut sangat mendukung terbentuknya tempat perindukan nyamuk sebagai vektor penyakit Demam Berdarah *Dengue* (DBD) (Kristina *et al.*, 2005). Wabah DBD merupakan masalah yang sangat serius sebab setiap tahunnya puluhan kota atau kabupaten di Indonesia terjangkit oleh penyakit ini. Penyakit DBD sendiri menyerang semua kalangan usia serta dapat menyebabkan kematian terutama anak-anak (Gubler *et al.*, 2014).

Demam Berdarah *Dengue* (DBD) merupakan penyakit yang disebabkan oleh virus *dengue* dan ditularkan melalui gigitan nyamuk *Aedes aegypti*. Tidak semua nyamuk berperan sebagai vektor virus *dengue*, hanya nyamuk betina yang menghisap darah manusia untuk memenuhi kebutuhan protein bagi perkembangan telur nyamuk (Hastuti, 2008).

Upaya yang dilakukan untuk mengantisipasi masalah DBD ini adalah dengan penyemprotan insektisida berbahan sintetis. Namun, cara ini

masih mempunyai kekurangan sebab tidak ramah lingkungan, tidak mudah terurai, serta dapat membahayakan paru-paru jika terhirup. Selain itu, penggunaan senyawa-senyawa kimia yang berlebihan akan menyebabkan resistensi (kekebalan) vektor dan matinya organisme yang bukan target (Milam *et al.*, 2000). Oleh sebab itu, diperlukan penanggulangan secara biologi untuk mengendalikan nyamuk penyebab DBD tanpa adanya pencemaran lingkungan (de la Cruz, 2001).

Salah satu cara yang dapat dilakukan untuk penanggulangan DBD secara alami adalah dengan memanfaatkan toksin dari *Bacillus thuringiensis* (*Bt*). Hal ini disebabkan penggunaan *Bt* lebih ramah lingkungan dan aman terhadap organisme target. Selain itu, *Bt* dapat terurai atau terdegradasi secara biologis. *Bt* efektif dan selektif dalam membunuh larva nyamuk khususnya larva nyamuk *Aedes Aegypti* (Bahagiawati, 2002 ; de la Cruz, 2001).

*Bt* merupakan bakteri yang dapat membentuk protein kristal selama masa sporulasinya. Penggunaan *Bt* sebagai biopestisida telah diaplikasikan untuk menghambat perkembangan serangga hama pertanian maupun nyamuk sebagai vektor malaria dan demam berdarah. Di alam, toksin *Bt* dihasilkan dalam bentuk protoksin dan hanya aktif jika bakteri berada pada kondisi tidak menguntungkan. Toksin dari *Bt* akan bereaksi jika masuk ke dalam usus serangga yang sifatnya alkali sehingga mengubah protoksin menjadi toksin (Broderick *et al.*, 2006).

Pada penelitian Robacker, *et al.* (1996), *Bt* diujikan terhadap larva dan dewasa *mexican fruit fly* dari ordo Diptera. Hasil pengujian menunjukkan bahwa pengaruh toksin *Bt* terhadap organisme target berbeda-beda. Persentase daya bunuh *Bt* terhadap larva *mexican fruit fly* yaitu >50%, sedangkan terhadap dewasa persentase kematiannya adalah 40%.

Asal habitat *Bt* dapat mempengaruhi kemampuan *Bt* dalam membunuh serangga. *Bt* yang diisolasi dari lokasi berbeda menunjukkan serovar yang berbeda pula. Serovar merupakan tingkat paling bawah dalam klasifikasi bakteri. Pada tanah sawah ditemukan beberapa serovar *Bt* yaitu, *alesti*, *kurstaki*, *sumiyoshiensis*, *darmstadiensis*, *fukuokaensis* dan *londrina*. Pada lubang pohon rambutan dan naungan pohon kelengkeng ditemukan *Bt* serovar *israelensis*.

Penelitian Gama *et al.*, (2010), *Bt* isolat lokal dari Madura dapat menyebabkan mortalitas larva nyamuk sebesar 88,89% dengan kepadatan bakteri sebesar  $1,51 \times 10^8$  sel/ml, sedangkan pada penelitian Triprisila *et al.*, (2013) *Bt* isolat lokal dari Madiun mampu menyebabkan mortalitas larva nyamuk sebesar 100% dengan kepadatan bakteri  $2,17 \times 10^7$  sel/ml.

Tingkat keberhasilan *Bt* dalam membunuh organisme target dapat dipengaruhi oleh serovar dan bentuk kristal protein yang dihasilkan. *Bt* serovar *israelensis* dengan kristal protein berbentuk bulat toksik terhadap Diptera serta serovar *kurstaki* dengan kristal protein berbentuk piramid

toksik terhadap Lepidoptera (Glazer dan Nikaido, 2007). Demikian pula penelitian Pakpahan (2013), *Bt* dari naungan bungur di lingkungan Universitas Lampung toksik terhadap larva Lepidoptera.

Informasi tentang toksisitas isolat lokal *Bt* khususnya dari tanah naungan bungur di lingkungan Universitas Lampung, terhadap organisme ordo Diptera belum jelas. Oleh sebab itu, Perlu dilakukan penelitian terhadap *Aedes aegypti* stadium dewasa untuk mengetahui apakah *Bt* dari tanah naungan bungur di lingkungan Universitas Lampung bersifat toksik terhadap organisme dari ordo Diptera.

## **B. Tujuan Penelitian**

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efektivitas isolat *Bt* yang berasal dari tanah naungan bungur (*Lagerstroemia speciosa*) di lingkungan kampus Universitas Lampung terhadap stadium dewasa *Aedes aegypti*.

## **C. Manfaat Penelitian**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai efektivitas toksin isolat *Bt* yang berasal dari tanah naungan bungur (*Lagerstroemia speciosa*), di lingkungan Universitas Lampung terhadap nyamuk vektor DBD sehingga nantinya dapat diaplikasikan lebih lanjut sebagai bioinsektisida.

#### D. Kerangka Pemikiran

Pemanfaatan toksin *Bt* hingga saat ini, lebih banyak diaplikasikan terhadap larva serangga, sedangkan terhadap serangga stadium dewasa belum banyak diujikan. *Bt* digunakan sebagai bioinsektisida karena memiliki keunggulan yaitu, protein yang bersifat toksin dan spesifik terhadap serangga tertentu sehingga tidak mematikan serangga yang bukan target. Toksin *Bt* hanya akan aktif bila *Bt* masuk ke dalam usus nyamuk dan bereaksi dengan senyawa alkali yang terdapat di dalam usus nyamuk.

*Bt* dari naungan bungur di lingkungan Universitas Lampung diketahui dapat membunuh larva serangga dari ordo Lepidoptera yaitu larva kupu-kupu. Hal tersebut membuktikan bahwa *Bt* dari naungan bungur, mampu menghasilkan kristal protein yang bersifat toksin bagi serangga target.

Penelitian ini, menggunakan isolat *Bt* yang diisolasi dari tanah naungan bungur (*Lagerstroemia speciosa*), yang diujikan terhadap *Aedes aegypti* stadium dewasa. *Bt* diberikan terhadap *Aedes aegypti* betina melalui media makanan yang sudah dicampur dengan isolat *Bt*. Efektivitas bakteri *Bt* ditentukan berdasarkan jumlah mortalitas nyamuk setelah menghisap makanan berupa campuran air gula dan *Bt*. Semakin besar mortalitas nyamuk, semakin tinggi tingkat efektivitas *Bt* terhadap nyamuk.

## **E. Hipotesis**

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah isolat *Bt* yang berasal dari tanah naungan bungur (*Lagerstroemia speciosa*) di sekitar Universitas Lampung efektif terhadap *Aedes aegypti* stadium dewasa.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### A. Bakteri *Bacillus thuringiensis*

#### 1. Biologi Bakteri

*Bt* ditemukan pertama kali di Jepang tahun 1901 pada ulat sutera yang terserang penyakit dan diisolasi oleh Ishiwata dari larva ulat sutera yang mati. Pada 1911 Berliner menemukan spesies bakteri pada kumbang tepung Mediteranian (*Anagasta kuehniella*) yang mati, bakteri tersebut memiliki karakteristik yang sama dengan yang ditemukan oleh Ishiwata. Bakteri ini kemudian diberi nama *Bacillus thuringiensis* (Schaechter, 2009).

*Bt* merupakan bakteri berbentuk batang berukuran 3 - 5  $\mu\text{m}$ , bersifat anaerob fakultatif (dapat berkembang biak dengan sedikit atau tanpa oksigen), memiliki sifat Gram positif yaitu mampu menyerap warna kristal violet saat dilakukan pewarnaan gram sebab, dinding sel memiliki lapisan peptidoglikan yang tebal. *Bt* membentuk protein dengan karakteristik menyerupai endospora berbentuk oval hingga silindris, terletak parasentral atau terminal. *Bt* dapat bersifat non motil (tidak dapat

bergerak) dan motil (bergerak) dengan adanya flagela tipe peritrik yaitu flagela berjumlah banyak dan berada disekeliling tubuh (Broderick *et al.* 2006). *Bt* yang diinokulasi pada medium padat akan membentuk koloni berbentuk bulat dengan tepian berkerut, berdiameter 5-10 mm, berwarna putih, elevasi timbul serta permukaan koloni kasar (Lantang dan Rantubai, 2012).

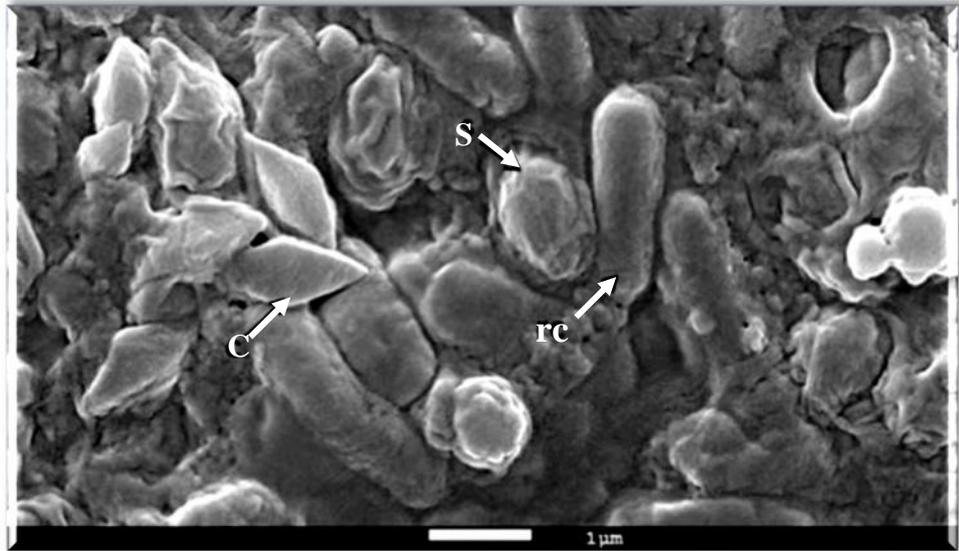
Menurut Wick (2013) klasifikasi *Bacillus thuringiensis* adalah sebagai berikut:

Kingdom : Bacteria  
Phylum : Firmicutes  
Class : Bacilli  
Order : Bacillales  
Family : Bacillaceae  
Genus : *Bacillus*  
Species : *Bacillus thuringiensis*

## 2. Kristal protein *Bacillus thuringiensis*

*Bt* mempunyai kemampuan untuk memproduksi kristal paraspora yang bersifat toksin terhadap invertebrata tertentu, khususnya larva serangga dari ordo Coleoptera, Diptera, dan Lepidoptera. Paraspora ini terbentuk oleh kristal protein yang berbeda-beda. Kristal tersebut mempunyai bentuk yang bervariasi seperti, bipiramid, kubus, pipih jajaran genjang,

dan campuran dari dua tipe kristal. Hal tersebut tergantung dari komposisi masing-masing kristal protein. Penggolongan fenotip *Bt* ke dalam subspecies, diuraikan berdasarkan antigen *flagellar* atau serovar (H) (Lacey, 2007).



Gambar 1. Hasil *scanning* kristal protein *Bt* yang diamati menggunakan s : spore, c : protein crystal, rc : rod cell ( Sahayaraj, 2014 )

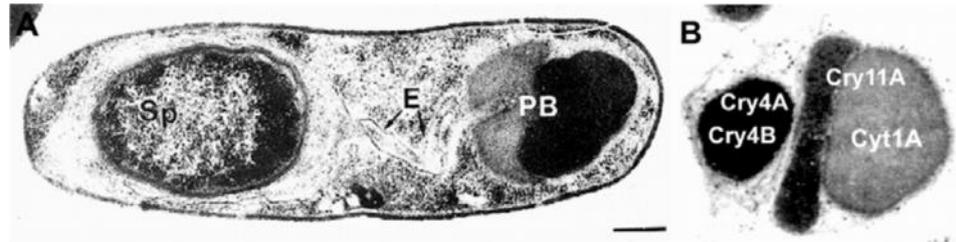
Kristal protein pada *Bt* dapat digolongkan juga ke dalam beberapa bentuk berdasarkan jumlah kristal protein pada setiap sel terhadap motilitas organisme target. Serovar yang memiliki daya bunuh terhadap serangga ordo Lepidoptera memiliki kristal protein yang berbentuk bipiramida dan jumlahnya hanya satu tiap sel, sedangkan yang berbentuk kubus, oval, dan amorf umumnya bersifat toksik terhadap serangga ordo Diptera dan jumlahnya dapat lebih dari satu tiap sel. Kristal yang memiliki daya bunuh terhadap serangga ordo Coleoptera berbentuk empat persegi panjang dan datar pipih ( Glazer dan Nikaido, 2007 ).

Kristal protein *Bt* telah dikelompokkan menjadi delapan kelas utama, pembagian ini berdasarkan homologi sekuen asam amino di N-terminalnya, berat molekulnya, dan aktivitas insektisidalnya (Margino dan Mangundihardjo, 2002). Delapan kelas tersebut adalah: *CryI* yang menyerang serangga lepidoptera, *CryII* yang menyerang lepidoptera dan diptera, *CryIII* yang menyerang koleoptera, *CryIV* yang menyerang diptera, *CryV* yang menyerang lepidoptera dan koleoptera, *CryVI* yang menyerang nematoda, *CryIXF* yang menyerang lepidoptera dan *CryX* yang menyerang lepidoptera (Berry *et al.*, 2002).

Kristal protein yang bersifat insektisida ini sebetulnya hanya protoksin yang jika larut dalam usus serangga akan berubah menjadi rantai polipeptida yang lebih pendek. Kristal protein di alam yang bersifat protoksin ini tidak akan bereaksi pada organisme yang bukan target. Pada organisme target, akan terjadi aktivitas proteolisis dalam sistem pencernaannya sebab pencernaan serangga yang bersifat basa akan mengubah *Bt* protoksin menjadi rantai polipeptida yang lebih sederhana dan bersifat toksin. Toksin yang telah aktif berinteraksi dengan sel-sel epitelium di usus tengah serangga sehingga menyebabkan terbentuknya pori-pori di sel membran saluran pencernaan serangga (Bahagiawati, 2002).

Sejauh ini, kristal protein *Bt* telah digunakan dalam skala luas sebagai sarana pembuatan insektisida sintetis, sebagai pengendali insekta

merugikan di bidang kehutanan, pertanian, dan kesehatan masyarakat. Gen yang mengkode kristal protein yang dihasilkan oleh bakteri *Bt* telah diisolasi dan dikarakterisasi, dikenal dengan sebutan gen *Cry* yang berasal dari kata Crystal (Bahagiawati, 2002).



Gambar 2. Bagian ultrastruktur pada sporulasi sel *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* (A) dan badan paraspora *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* (B). Sp: spore; E: exosporium; PB: parasporal body. Skala pengamatan: 1  $\mu\text{m}$  (Federici *et al.*, 2003).

Kristal protein dibentuk selama fase sporulasi III dan IV. Kristal protein terbentuk bersamaan dengan pembentukan spora, yang dibentuk di dalam sel 2-3 jam setelah akhir fase eksponensial dan baru keluar dari sel pada waktu sel mengalami autolisis setelah sporulasi sempurna. Kristal protein dapat dihasilkan dalam bentuk yang berbeda-beda. Faktor yang mempengaruhi perbedaan kristal protein adalah kandungan senyawa dalam serasah daun yang berfungsi sebagai nutrisi bagi bakteri. Selain itu karakteristik tanah berupa pH, kelembaban, dan suhu tanah juga mempengaruhi karakteristik bakteri (Sansinenea, 2012).

## **B. Nyamuk *Aedes aegypti***

### **1. Klasifikasi *Aedes aegypti***

Klasifikasi *Aedes aegypti* adalah sebagai berikut ( Eldridge dan Edman, 2012 ) :

Kingdom : Animalia

Phylum : Arthropoda

Class : Insecta

Order : Diptera

Suborder : Nematocera

Family : Culicidae

Subfamily : Culicinae

Genus : *Aedes*

Spesies : *Aedes aegypti*, Linnaeus

### **2. Morfologi dan siklus hidup *Aedes aegypti***

Morfologi nyamuk *Aedes aegypti* dibagi menjadi beberapa stadium antara lain :

#### **a. Stadium telur**

Rata-rata seekor nyamuk betina mampu menghasilkan telur sebanyak 100 butir setiap kali bertelur dan dalam waktu dua hari

akan menetas menjadi larva dalam keadaan telur terendam air. Bentuk morfologi telur *Aedes aegypti* yaitu, telur berwarna hitam, berbentuk oval, kulit bergaris-garis menyerupai sarang lebah, panjang 0.80 mm, berat 0,0010-0,015 mg. Telur *Aedes aegypti* dapat bertahan lama dalam keadaan kering. Kondisi ini dapat membantu nyamuk untuk bertahan pada situasi ekstrim (Nuidja, 2005).

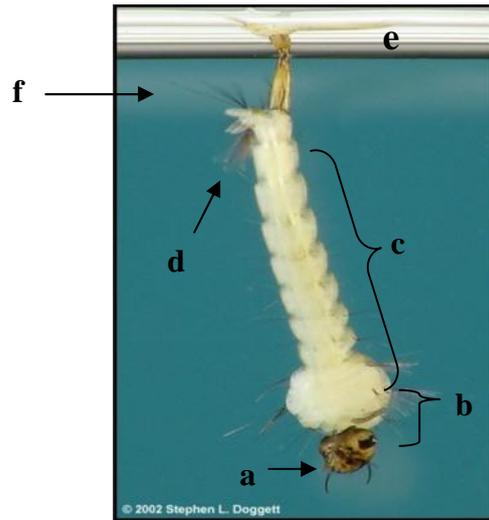
Pada kondisi normal, telur *Aedes aegypti* yang direndam di dalam air akan menetas dengan sendirinya namun jarang mencapai 100%. Fase telur pada nyamuk akan berlangsung selama 1-3 hari. Telur nyamuk dapat bertahan dari suhu  $-7^{\circ}\text{C}$  sampai  $45^{\circ}\text{C}$ . Berdasarkan jenis kelaminnya, nyamuk jantan akan menetas lebih cepat dibanding nyamuk betina, serta lebih cepat menjadi dewasa. Faktor-faktor yang mempengaruhi daya tetas telur adalah suhu, pH air perindukkan, cahaya, serta kelembaban disamping fertilitas telur itu sendiri (Nuidja, 2005).



Gambar 3. Telur *Aedes aegypti*, Skala perbesaran: 100 kali  
 a : dinding wadah penampungan air ( Sumber :  
 Supartha, 2008)

#### b. Stadium Larva

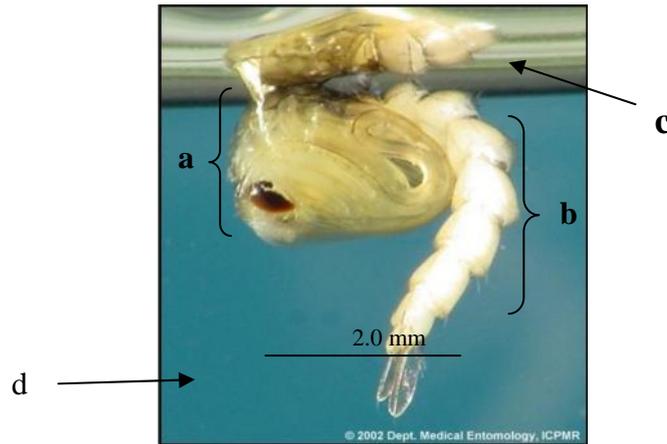
Selama perkembangannya, larva *Aedes aegypti* mengalami empat kali pergantian kulit. Larva instar I memiliki panjang 1-2 mm, tubuh dan siphon masih transparan, tumbuh menjadi larva instar II dalam 1 hari. Larva instar II memiliki panjang 2.5 -3.9 mm, siphon berwarna kecoklatan, tumbuh menjadi larva instar III selama 1-2 hari. Larva instar III berukuran panjang 4-5 mm, siphon sudah berwarna coklat, terakhir menjadi larva instar IV selama 2 hari. Larva instar IV berukuran 5-7 mm sudah mulai terlihat sepasang mata dan sepasang antena, larva tumbuh menjadi pupa dalam 2-3 hari. Rata-rata usia pertumbuhan larva hingga menjadi pupa berkisar 5-8 hari. Posisi istirahat larva *Aedes aegypti* dengan membentuk sudut 45° terhadap bidang permukaan air (Nuidja, 2005).



Gambar 4. Larva *Aedes aegypti* instar IV (a) kepala, (b) thorax, (c) abdomen, (d) siphon, (e) permukaan air, dan (f) air  
Skala perbesaran: 100 kali (Sumber : Supartha, 2008)

#### c. Stadium Pupa

Setelah melewati tahap larva, nyamuk *Aedes aegypti* akan memasuki stadium pupa. Pada stadium pupa tubuh nyamuk terdiri atas dua bagian, yaitu cephalothorax dan abdomen. Cephalothorax memiliki ukuran lebih besar dari pada abdomen. Bentuk tubuh membengkok, tidak memerlukan makan dan akan berubah menjadi dewasa dalam 2 hari. Selama proses pertumbuhannya terjadi pembentukan sayap, kaki dan alat kelamin (Nuidja, 2005).



Gambar 5. Pupa *Aedes aegypti* umur 5-8 hari (a) kepala (b) abdomen, (c) permukaan air dan (d) air Skala perbesaran: 100 kali (Sumber : Supartha, 2008)

#### d. Nyamuk dewasa

Tubuh nyamuk dewasa dibagi atas tiga bagian yaitu, kepala (caput), dada (thorax) dan perut (abdomen). Badan nyamuk berwarna hitam dan memiliki bercak serta garis-garis putih. Garis tampak lebih jelas pada bagian kaki nyamuk *Aedes aegypti*.

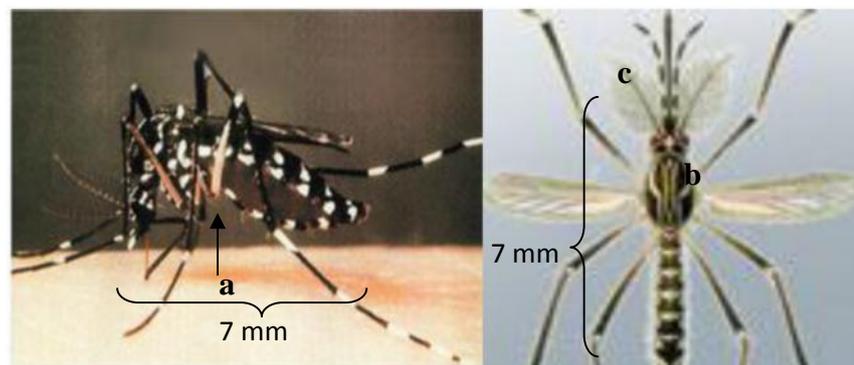
Panjang tubuh nyamuk dewasa adalah sekitar 5 mm. Pada bagian kepala terdapat sepasang mata majemuk, sepasang antena dan sepasang palpi, fungsi dari antena adalah sebagai organ peraba dan pembau. Nyamuk betina, memiliki antena berbulu pendek dan jarang (tipe pilose) sedangkan nyamuk jantan, antena berbulu panjang dan lebat (tipe plumose) (Gubler, 2014).

Thorax pada nyamuk terdiri dari tiga ruas, yaitu prothorax, mesotorax, dan methatorax. Pada bagian thorax terdapat tiga

pasang kaki dan pada mesothorax terdapat sepasang sayap.

Abdomen nyamuk terdiri dari delapan ruas dengan bercak putih keperakan pada masing-masing ruas. Pada ujung abdomen atau ruas terakhir terdapat alat kopulasi berupa cerci pada nyamuk betina dan hypogeum pada nyamuk jantan. Saat menetas nyamuk jantan akan keluar lebih dahulu dari kepompong, disusul nyamuk betina setelahnya (Gubler, 2014).

Nyamuk jantan tetap tinggal di dekat sarang hingga nyamuk betina keluar dari kepompong, setelah nyamuk betina keluar, maka nyamuk jantan akan langsung mengawini nyamuk betina sebelum mencari darah. Selama fase hidupnya, nyamuk betina hanya kawin sekali. Perkembangan telur nyamuk dipengaruhi beberapa faktor antara lain temperatur dan kelembaban serta spesies dari nyamuk itu sendiri (Becker *et al.*, 2010).



Gambar 6. *Aedes aegypti* dewasa (a) abdomen, (b) sayap dan (c) antena, Skala perbesaran: 100 kali (Sumber : Supartha, 2008).

### C. Cara Masuk Insektisida ke dalam Tubuh Serangga

Bahan kimia yang berfungsi sebagai pembasmi serangga disebut dengan insektisida. Efektivitas suatu insektisida dalam membunuh serangga sangat bergantung pada bentuk, cara masuk ke dalam tubuh serangga, macam bahan kimia, konsentrasi dan dosis insektisida (Hoedjo dan Zulhasril, 2008 ).

Menurut cara masuknya insektisida ke dalam tubuh serangga, dibagi menjadi 3 jenis yaitu:

#### 1. Racun kontak (*contact poisons*)

Insektisida masuk melalui tarsus, kemudian diteruskan ke eksoskeleton masuk lagi ke dalam tubuh serangga pada waktu istirahat di permukaan yang mengandung residu insektisida. Umumnya dipakai untuk mengendalikan serangga yang mempunyai bentuk mulut menusuk dan menghisap.

#### 2. Racun perut (*stomach poisons*)

Serangga yang dibasmi menggunakan insektisida ini mempunyai bentuk mulut untuk menggigit, lekat isap, kerat isap dan bentuk mengisap. Insektisida ini bekerja dengan cara merusak pencernaan serangga.

### 3. Racun pernapasan (*fumigants*)

Insektisida masuk melalui sistem pernapasan (spirakel) dan juga melalui permukaan badan serangga. Jenis serangga yang diberikan insektisida ini tidak perlu ditentukan sebab dapat digunakan untuk mengendalikan semua jenis serangga tanpa harus memperhatikan bentuk mulutnya. Penggunaan insektisida ini harus berhati-hati khususnya bila digunakan untuk pemberantasan serangga di ruang tertutup karena juga dapat berakibat fatal bila terhirup manusia (Hoedojo dan Zulhasril, 2008).

#### **D. Tanah Naungan Pohon**

Pertumbuhan mikroba dipengaruhi oleh faktor biotik dan abiotik. Tanah naungan pohon berpengaruh terhadap faktor biotik dan abiotik yang nantinya akan menyebabkan perbedaan sifat fisiologi mikroba yang hidup di dalamnya. Perbedaan ini tergantung pada pencahayaan dan jenis serasah pohon pada naungan tersebut. Umumnya, serasah pohon mengandung senyawa organik berupa lignin, selulosa dan karbohidrat yang mempengaruhi tingkat dekomposisi dari mikroorganisme, selain itu serasah juga mempengaruhi kadar keasaman dari tanah naungan. Menurut penelitian Pakpahan (2013), salah satu tanah naungan pohon di sekitar lingkungan Universitas Lampung yang telah diperoleh isolat *Bt* adalah pohon bungur (*Lagerstroemia speciosa*). Isolat *Bt* dari tanah naungan bungur diketahui bersifat toksik terhadap ulat, katalase positif dan bersifat motil. Selain itu, *Bacillus thuringiensis* dari bungur tergolong bakteri

mesofilik karena tumbuh baik pada suhu 30-40 ° C dan dapat tumbuh baik pada perkiraan pH 7.5.

### III. METODE PENELITIAN

#### A. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium Zoologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung pada bulan Januari sampai Maret 2016.

#### B. Alat dan Bahan

##### 1. Alat

Alat-alat yang di gunakan di dalam penelitian ini adalah:

##### 1.1 Alat untuk peremajaan dan pengkulturan bakteri

*Autoclave* digunakan untuk sterilisasi alat dan bahan, neraca analitik untuk menimbang media, gelas ukur untuk mengukur volume media cair, jarum ose untuk inokulasi bakteri, *incubator* untuk inkubasi bakteri, oven dan *bunsen burner* untuk sterilisasi kering, *hot plate* untuk memasak media, tabung reaksi untuk tempat meletakkan media cair, *vortex mixer* untuk menghomogenkan larutan, cawan petri untuk wadah pembiakkan

bakteri, *water bath* untuk mencairkan media, labu erlenmeyer untuk meletakkan media, *beaker glass* untuk tempat memasak media, mikroskop untuk mengamati bakteri, botol semprot, karet gelang, kertas kopi, aluminium foil, kertas label, mikro pipet, *magnetic stirrer*, pipet tetes, *refrigerator*, kertas tissue, gelas benda, gelas penutup dan *laminar air flow* serta peralatan yang umum di pakai di laboratorium.

### 1.2 Alat pemeliharaan nyamuk

Bak plastik digunakan untuk wadah penetasan telur dan pemeliharaan larva nyamuk, kandang nyamuk, pinset, , botol film, gunting, tali, karet, dll.

### 1.3 Alat Pengamatan

Mikroskop untuk mengamati nyamuk yang mati setelah diberi perlakuan.

## 2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

### 2.1 Bahan untuk peremajaan dan pengkulturan bakteri

Media nutrient broth (NB), alkohol 70%, *aquadest*, spritus dan air kelapa.

## 2.2 Bahan pemeliharaan nyamuk

Nyamuk dewasa yang dipilih sebagai hewan uji adalah nyamuk betina yang dipelihara secara aklimatisasi (dalam lingkungan laboratorium) dan pelet ikan yang sudah dihaluskan untuk makanan larva nyamuk.

## 2.3 Bahan untuk uji bio assay

Air gula jenuh dan kapas

### C. Metode Penelitian

Efektivitas *Bt* terhadap nyamuk dewasa ditentukan dengan menghitung mortalitas serta pengamatan bentuk morfologi nyamuk setelah terpapar *Bt*. Penelitian ini bersifat eksperimental dalam skala laboratorium yang disusun dengan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL). Faktor yang digunakan yaitu kepadatan spora *Bt* yang terdiri dari 5 perlakuan yaitu: Perlakuan 1 (kontrol), 2 (kepadatan spora *Bt* dalam 200 ppm), 3 (kepadatan spora *Bt* dalam 400 ppm), 4 (kepadatan spora *Bt* dalam 600 ppm) dan 5 (kepadatan spora *Bt* dalam 800 ppm). Setiap perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Pengamatan dilakukan selama 48 jam dengan parameter jumlah nyamuk yang mati.

## **D. Pelaksanaan Penelitian**

### **1. Persiapan alat**

Alat dan bahan yang akan digunakan di dalam penelitian perlu disterilkan dengan *autoclave* pada suhu 121°C selama 30 menit untuk alat dan 15 menit untuk media.

### **2. Pengambilan sampel tanah**

Sampel tanah diambil dari naungan bungur yang ada di lingkungan Universitas Lampung. Sampel diambil pada tiga titik yang berbeda kemudian diberi nama naungan A, B dan C. Tanah dari setiap naungan dilakukan pengukuran pH, suhu dan kelembaban tanah.

### **3. Isolasi dan karakterisasi bakteri *Bt* dari tanah naungan bungur**

Metode uji dimodifikasi dari penelitian Lantang dan Runtuboi (2012), sampel tanah yang sudah diberi label A, B dan C ditimbang sebanyak 5 g kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 ml. Ke dalam erlenmeyer ditambahkan media NB yang dimodifikasi dengan air kelapa sebanyak 50 ml dan *dishaker* selama 48 jam. Setelah itu suspensi dipanaskan pada suhu 60°C selama 20 menit. Selanjutnya dilakukan pemurnian dengan teknik isolasi menggunakan metode pengenceran. Caranya yaitu dengan memasukkan 1 ml suspensi ke dalam tabung reaksi

yang berisi 9 ml aquadest kemudian dihomogenkan selama 1 menit menggunakan vortex hingga terbentuk pengenceran  $10^{-1}$ .

Pengenceran selanjutnya diambil dari 1 ml pengenceran  $10^{-1}$  lalu ditambahkan pada 9 ml tabung akuades steril lainnya hingga terbentuk pengenceran  $10^{-2}$ . Begitu seterusnya hingga terbentuk pengenceran  $10^{-5}$ .

Setiap 0,1 ml suspensi hasil pengenceran dimasukkan pada cawan petri steril kemudian dituangi media NA dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang. Setelah diinkubasi, dilakukan pengamatan terhadap koloni bakteri yang tumbuh pada media cawan. Koloni bakteri yang tumbuh dengan karakter morfologi bulat, tepian berkerut, berdiameter 5 – 10 mm, elevasi timbul, serta permukaan koloni kasar diremajakan pada media NA miring dan diinkubasi kembali selama 48 jam. Bakteri yang tumbuh pada agar miring dilakukan uji karakterisasi yang meliputi: Pengecatan gram, pengecatan spora, uji katalase, uji protease dan uji motilitas (Pakpahan, 2013). [prosedur lengkap di lampiran..]

#### 4. Pembuatan Media Peremajaan

Media peremajaan yang digunakan adalah media *nutrien agar* (NA). Sebanyak 3.25 gram *nutrient broth* (NB) dan 3.75 gram Agar dilarutkan dengan aquadest sebanyak 250 ml di dalam erlenmeyer. Media dipanaskan dalam *beaker glass* hingga homogen. Selanjutnya disterilisasi pada *autoclave* dengan suhu  $121^{\circ}\text{C}$  selama 15 menit.

## 5. Persiapan Bakteri Uji

### 3.1 Peremajaan *Bt*

Stok *Bt* diremajakan dalam medium NA miring dengan cara digoreskan sebanyak 1 ose bakteri pada medium miring lalu diinkubasi selama 24 jam.

### 3.2 Pembuatan suspensi *Bt*

Bakteri *Bt* dikultur dengan cara sebanyak 50 ml air kelapa dimasukkan ke dalam erlenmeyer steril, kemudian ditentukan pH nya 8 dengan cara ditambahkan NAOH 0.1N atau HCl ke dalam media air kelapa, lalu diukur menggunakan pH meter digital, sampai didapatkan pH yang diinginkan. Isolat murni *Bt* diambil sebanyak 2 ose dan diinokulasikan pada media air kelapa yang pH nya sudah ditentukan. Inokulan *shaker* selama 48 jam, kemudian dilakukan penghitungan spora hidup *Bt* (Blondin, 2003).

### 3.3 Penghitungan jumlah spora hidup *Bt*

Untuk mengetahui jumlah spora *Bt*, maka suspensi cair *Bt* dari air kelapa yang telah *dishaker*, diambil sebanyak 1 ml dan ditambahkan 9 ml akuades dalam tabung reaksi, kemudian dikocok sampai homogen. Sesudah itu dibuat pengenceran seri  $10^{-1}$ -  $10^{-10}$  dalam akuades dan dipanaskan selama 30 menit pada suhu  $60^{\circ}\text{C}$ . Tujuan pemanasan adalah untuk mematikan bakteri lain yang tidak berspora

seperti *Pseudomonas*, *Streptococcus* dan *Staphylococcus*. Dari masing-masing pengenceran formulasi cair *Bt* isolat lokal diambil sebanyak 0,1 ml dan ditaburkan ke dalam cawan petri. Kemudian ditambahkan media NA steril, dibiarkan memadat. Selanjutnya, diinkubasikan selama 48 jam pada suhu 30°C. Sesudah itu dihitung jumlah spora *Bt* pada cawan petri (Blondine, 2003).

#### 3.4 Persiapan bakteri uji dengan perlakuan yang berbeda

Larutan suspensi murni *Bt* yang dikultur menggunakan media air kelapa pada pH 8, diambil sebanyak 1 ml dan dimasukkan ke dalam *beaker glass* yang berisi 99 ml akuades steril kemudian dihomogenkan menggunakan *vortex*. Larutan yang sudah homogen, diambil masing-masing sebanyak 20 ml, 40 ml, 60 ml, dan 80 ml menggunakan pipet volumetri lalu dicampurkan dengan akuades steril sampai volume total menjadi 100 ml, sehingga didapat konsentrasi larutan uji 200 ppm, 400 ppm, 600 ppm dan 800 ppm sebagai perlakuan 2, 3, 4 dan 5. Larutan tersebut kemudian dimasukkan ke dalam botol semprot berukuran 120 ml dan diberi label dan siap digunakan sebagai bakteri uji (Blondine dan Susanti, 2010).

## 6. Persiapan Hewan Uji

### 4.1 Persiapan stok telur

Stok telur *Aedes aegypti* diperoleh dari Laboratorium Loka Litbang P2B2 (Pengendalian Penyakit Bersumber Binatang)

Ciamis, Jawa Barat.

### 4.2 Pemeliharaan nyamuk

Bak pemeliharaan ukuran 30 x 20 x 5 cm<sup>3</sup> diisi dengan air sebanyak  $\frac{3}{4}$  bagian, telur nyamuk yang terdapat pada kertas saring diletakkan ke dalam bak dan dibiarkan selama 24 jam.

Telur akan menetas menjadi larva instar I sampai larva instar IV selama 4-6 hari. Selama fase tersebut larva diberi makan pelet yang sudah dihaluskan. Setelah larva berubah menjadi pupa, pupa dipindahkan ke dalam wadah yang lebih kecil ukuran 10 x 10 x 5 cm<sup>3</sup> dan diletakkan di dalam kandang nyamuk. Pupa dibiarkan hingga berubah menjadi nyamuk dewasa. Nyamuk dewasa diberi makan darah mencit hidup yang sebelumnya telah digunduli agar nyamuk dapat lebih mudah menghisap darah mencit.

Nyamuk betina dipindahkan menggunakan *beker glass*, lalu dipindahkan ke dalam kandang uji lainnya. Jumlah nyamuk

betina yang digunakan adalah sebanyak 75 ekor dan dibagi ke dalam 5 kelompok, yaitu 1 kelompok sebagai kontrol, sedangkan 4 kelompok lainnya sebagai perlakuan (Setiyaningsih *et al.*, 2015).

## 7. Uji Bio Assay

Bio assay yang dilakukan yaitu dengan terlebih dahulu menyiapkan nyamuk betina dewasa yang telah kenyang darah sebanyak 15 ekor kemudian dimasukkan ke dalam kandang uji. Selanjutnya dimasukkan air gula jenuh yang telah disiapkan sebagai pakan nyamuk. Air gula tersebut di masukkan ke dalam beker glass ukuran 100 ml, kemudian dimasukkan kapas sehingga air gula merembes pada kapas. Permukaan kapas yang sudah dirembesi air gula di semprot secara merata dengan suspensi *Bt* dan dimasukkan ke dalam kandang uji. Biarkan selama 48 jam setelah itu, diamati jumlah nyamuk yang mati setelah terpapar oleh *Bt* yang sudah bersamaan dengan air gula. Prosedur ini diulang sebanyak tiga kali (Setiyaningsih *et al.*, 2015).

## E. Analisis Data

Data yang diperoleh dilakukan analisis ragam Anova pada (5%). Jika data yang didapat signifikan, dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf (5%). Hasil uji pengaruh toksisitas bakteri diuraikan secara

deskriptif. Persentase kematian nyamuk (mortalitas) dapat dihitung dengan menggunakan rumus:

$$M = a/b.100\% \text{ (Istimuyasaroh et al., 2009)}$$

**Keterangan:** M = Persentase mortalitas nyamuk

a = Jumlah nyamuk *Aedes aegypti* yang mati

b = Jumlah nyamuk *Aedes aegypti* yang disediakan



## V. SIMPULAN DAN SARAN

### A. Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan, bahwa :

1. *Bt* dari ke tiga tanah naungan bungur (*Lagerstroemia speciosa*) berpotensi menyebabkan kematian terhadap stadium dewasa *Aedes aegypti*.
2. Semakin tinggi kepadatan spora *Bt* dari naungan yang sama, maka semakin tinggi persentase kematian *Aedes aegypti* stadium dewasa.
3. Hasil pengujian *Bt* terhadap nyamuk *Aedes aegypti* belum dapat dikatakan efektif, persentase kematian nyamuk masih di bawah 50%.  
Persentase kematian tertinggi sebesar 37,8% disebabkan oleh *Bt* naungan B dengan kepadatan spora  $2,13 \times 10^7$  spora/ml, 33,3 % disebabkan oleh *Bt* naungan C dengan kepadatan spora  $2,18 \times 10^7$  spora/ml dan 22,2% disebabkan oleh *Bt* naungan A dengan kepadatan spora  $1,99 \times 10^7$  spora/ml.

## B. Saran

Untuk meningkatkan efektivitas *Bt* dari naungan bungur (*Lagerstroemia speciosa*) terhadap stadium dewasa *Aedes aegypti*, digunakan spora *Bt* dengan kepadatan lebih besar dari  $2,18 \times 10^7$  spora/ml.

## DAFTAR PUSTAKA

- Bahagiawati. 2002. Penggunaan *Bacillus thuringiensis* sebagai bioinsektisida. *J. Agrobio.*, 5(1):21-28.
- Berry, C., O'Neil, S., Ben-Dov, E., Jones, A.F., Murphy, L., Quail, M.A., Holden, T.G., Harris, D., Zaritsky, A., & Parkhill, J. 2002. Complete sequence and organization of pBtoxis, the toxin-coding plasmid of *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 68, 5082-5095.
- Becker *et al.* 2010. *Mosquitoes and Their Control*. Second Edition. London : Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Blondine Ch.P. 2003. Patogenesis 2 Formulasi (bubuk dan cair) dari *Bacillus thuringiensis* H-14 Galur Lokal Terhadap Jentik *Anopheles aconitus* dan *Culex quinquefasciatus* di dalam Laboratorium. *J. Ked. YARSI.*, 11(3)24-297
- Blondine, C. P. & L. Susanti. 2010. Pengembangbiakan *Bacillus thuringiensis* H- 14 Galur Lokal pada Berbagai Macam pH Media Air Kelapa dan Toksisitasnya terhadap Jentik Nyamuk Vektor *Aedes aegypti* dan *Anopheles aconitus*. *Med. Lit. Kes.*, XX(1).
- Broderick NA, Raffa KF, Handelsman J. 2006. Midgut bacteria required for *Bacillus thuringiensis* insecticidal activity. *PNAS* 103: 15196-15199.
- de la Cruz. 2001. The Community and the control of *Aedes aegypti* : perception and behavior regarding temephos larvacide dalam Halstead, S.B (Ed). *Dengue* editor. Singapore : World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd
- de Maagd R.A, Bravo, A dan Crickmore, N. 2001. *How Bacillus thuringiensis has Evolved Specific Toxins to Colonize the Insect World*. Trends Genet
- Eldridge, F dan Edman, J.D. 2012. *Medical Entomology*. USA : Departement of Entomology. University of California.
- Federici, B.A., Park, H.W., Bideshi, D.K., Wirth, M.C., & Johnson, J.J. 2003. Recombinant bacteria for mosquito control. *J. Exp. Biol.*, 206, 3877-3885.

- Gama, Z.P., B. Yanuwiadi, dan T.H. Kurniati. 2010. Strategi pemberantasan nyamuk aman lingkungan: Potensi *Bacillus thuringiensis* isolat Madura sebagai musuh alami nyamuk *Aedes aegypti*. *J. Pem. Alm. Les.*, 1(1): 1–10.
- Glazer, A. N dan Nikaido, H. 2007. *Microbial Biotechnology : Fundamentals of Applied Microbiology*. New York : Cimbridge University Press.
- Gubler, J.D. 2014. *Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever*. Second Edition. USA. CPI Group Ltd, Croydon.
- Hastuti, Oktri. 2008. *Demam Berdarah Dengue, Penyakit dan Cara Pencegahannya*. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.
- Hoedjo, R dan Zulhasril, 2008. *Buku ajar parasitologi kedokteran*. Edisi keempat. Jakarta: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Istimuyasaroh, Hadi. M, Tarwotjo. 2009. Mortalitas dan Pertumbuhan Larva Nyamuk *Anopheles aconitus* karena Pemberian Ekstrak daun Selasih (*Oscimum basilicum*). *BIOMA*. Vol 11 (2) : 59-63
- Kristina, Isminah, dan Wulandari, L. 2005. *Kajian Masalah Kesehatan : Demam Berdarah Dengue*.  
<http://www.litbangkes.depkes.go.id/meskes/5052004/demamberdarah1.htm>. Diakses: 20 November 2015, 07:30
- Lacey LA. 2007. *Bacillus thuringiensis* serovariety israelensis and *Bacillus sphaericus* for mosquito control. *J. Am. Mosq. Asso.*, 23(2):133–163
- Lantang, D dan Runtuboi, D.Y. 2012. Karakterisasi Bakteri *Bacillus thuringiensis* Asal Hutan Lindung Kampus Uncen Jayapura, serta Deteksi Toksisitasnya terhadap Larva Nyamuk *Anopheles*. *J. Biol. Papua.*, Vol 4 (1) : 19-24.
- Lehane, M. 2005. *The Biology of Blood-Sucking in Insects*. Second Edition. New York : Cimbridge University Press.
- Margino, S. dan S. Mangundihardjo. 2002. *Pemanfaatan keanekaragaman hayati untuk biopestisida di Indonesia*. Lokakarya Keanekaragaman Hayati untuk Perlindungan Tanaman. Yogyakarta, 7 Agustus 2002.
- Milam *et al.*, 2000. “Evaluating mosquito control pesticides for effect on target and non target organism” dalam Sahayaraj, K (Ed). *Basic and Applied Aspect of Biopesticides* editor. New Delhi : Departemen of Zoology (Hal : 236).

- Nuidja, I.N. 2005. *Air Tergenang, Aedes aegypti Berkembang*. Akademi Kesehatan Lingkungan. Denpasar.
- Pakpahan, M, 2013. Karakterisasi Fisiologi dan Pertumbuhan Isolat Bakteri *Bacillus thuringiensis* dari Tanah Naungan di Lingkungan Universitas Lampung (Skripsi). Jurusan Biologi.Fakultas MIPA. Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Pelczar, M.J. dan Chan, E. C. S. 2006. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jilid 2. UI Press: Jakarta.
- Robacker, C. David, Martinez, J. Adelaido, Garca, A. Jose, 1996. Toxicity of *Bacillus thuringiensis* to Mexican Fruit Fly (Diptera : Tephridae). *J. Biol. Microbiol.*, 89 (1) : 104-110
- Salaki, C.L & Sembiring, L. 2009. *Eksplorasi Bakteri Bacillus thuringiensis dari berbagai Habitat Alami yang Berpotensi sebagai Agensia Pengendali Hayati Nyamuk Aedes Aegypti Linnaeus*. Seminar Nasional Biologi XX dan Kongres PBI XIV UIN Maliki. Malang, 24-25 Juli 2009. hal. 156-161.
- Sahayaraj, K. 2014. *Basic and Applied Aspect of Biopesticides*. India : Departement of Zoology.
- Sansinenea, E. 2012. *Bacillus thuringiensis Biotechnology*. New York. Springer Dordrecht Heidelberg.
- Schaeter, M. 2009. *Encyclopedia of Microbiology*. Thread Edition. USA : San Diego State University.
- Setiyaningsih, R, Widiarti, dan Lasmiati. 2015. Efikasi Larvasida Temephos terhadap *Aedes aegypti* Resisten pada Berbagai Kontainer. *J. Vektora.*, Vol 7 (1) : 23-28.
- Supartha, I. W. 2008. *Pengendalian Terpadu Vektor Virus Demam Berdarah Dengue, Aedes aegypti dan Aedes albopictus*. Universitas Udayana. Denpasar.
- Tripsila, L. F, Suharjono, Gama, Z. P. 2013. Studi Toksisitas *Bacillus thuringiensis* Isolat Lokal Jawa Timur Berdasarkan Ketinggian Tempat Terhadap Larva *Aedes aegypti*. *J.Biotrop.*, Vol 1 (3)
- Wick, C.H. 2013. *Identifying Microbes by Mass Spectrometry Proteomics*. New York : Taylor and Francis Group.