UJI EFEKTIVITAS ISOLAT *Bacillus thuringiensis* DARI TANAH NAUNGAN BERINGIN DI LINGKUNGAN UNIVERSITAS LAMPUNG SEBAGAI LARVASIDA *Aedes aegypti*

(Skripsi)

Oleh
AMBAR PRAMESWARI

JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2016

UJI EFEKTIVITAS ISOLAT *Bacillus thuringiensis* DARI TANAH NAUNGAN BERINGIN DI LINGKUNGAN UNIVERSITAS LAMPUNG SEBAGAI LARVASIDA *Aedes aegypti*

Oleh

Ambar Prameswari

ABSTRAK

Salah satu spesies bakteri yang dikembangkan untuk pengendalian hayati nyamuk *Aedes aegypti* adalah *Bacillus thuringiensis*. Bakteri *Bacillus thuringiensis* memiliki kristal protein bersifat toksik terhadap nyamuk *Aedes aegypti*. Penelitian ini dilaksanakan pada Desember 2015–Februari 2016 di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu pengetahuan Alam Universitas Lampung dengan tujuan untuk mengetahui efektivitas isolat *B. thuringiesis* dari tanah naungan beringin di lingkungan Universitas Lampung sebagai larvasida *Ae. aegypti*. Metode penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang disusun secara faktorial. Faktor pertama adalah isolat *B. thuringiensis* yang diperoleh dari tiga titik naungan beringin yaitu Br(A), Br(B) dan Br(C). Faktor kedua adalah kepadatan *B. thuringiensis* $2x10^4$ sel/ml (K1), $2x10^5$ sel/ml (K2), $2x10^6$ sel/ml (K3), $2x10^7$sel/ml (K4) dan kontrol (K0), masing-masing perlakuan dilakukan empat kali ulangan. Analisis data menggunakan ANOVA (*analysis of variant*) pada taraf nyata 5% dan uji lanjut menggunakan LSD (*Least Significance Difference*) pada taraf nyata 5%. Hasil pengujian menunjukkan bahwa isolat *B. thuringiensis* yang digunakan menyebabkan mortalitas terhadap larva *Ae. aegypti* instar III berkisar antara 2,5-22,5% pengamatan 24 jam setelah perlakuan.

Kata kunci : *Aedes aegypti*, *Bacillus thuringiensis*, Kristal protein.

UJI EFEKTIVITAS ISOLAT *Bacillus thuringiensis* DARI TANAH NAUNGAN BERINGIN DI LINGKUNGAN UNIVERSITAS LAMPUNG SEBAGAI LARVASIDA *Aedes aegypti*

Oleh
AMBAR PRAMESWARI

Skripsi

Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar
SARJANA SAINS

Pada
Jurusan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2016

Judul Skripsi : **UJI EFEKTIVITAS ISOLAT *Bacillus thuringiensis* DARI TANAH NAUNGAN BERINGIN DI LINGKUNGAN UNIVERSITAS LAMPUNG SEBAGAI LARVASIDA *Aedes aegypti***

Nama Mahasiswa : Ambar Prameswari

No. Pokok Mahasiswa : 1217021008

Jurusan : Biologi

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

Pembimbing I	Pembimbing II
Dr. Emantis Rosa, M.Biomed.	**Dra. C.N. Ekowati, M.Si.**
NIP 19580615 198603 2 001	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 : **Drs. Tugiyono, M.Si., Ph.D.** .....

2. 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 : **19 Agustus 2016**

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Bumijaya, Lampung Selatan pada tanggal 3 Mei 1995 sebagai anak keempat dari lima bersaudara dari pasangan Bapak Rasimin dan Ibu Mujiati.

Penulis menyelesaikan pendidikan formal di Sekolah Dasar (SD) Negeri 1 Bumijaya pada tahun 2006, Sekolah Menengah Pertama (SMP) Negeri 1 Candipuro pada tahun 2009, Sekolah Menengah Atas (SMA) Negeri 1 Sidomulyo 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 di Jurusan Biologi FMIPA, penulis pernah menjadi asisten praktikum matakuliah Botani Umum Jurusan Agroteknologi Fakultas Pertanian, Mikrobiologi Umum Jurusan Biologi FKIP dan Mikrobiologi Pangan dan Industri Jurusan Biologi FMIPA. Penulis juga aktif di Organisasi Himpunan Mahasiswa Biologi (HIMBIO) FMIPA Universitas Lampung. Pada tahun 2015 penulis melaksanakan Kerja Praktik di Balai Penyidikan dan Pengujian Veteriner (BPPV) Regional III Lampung.

PERSEMBAHAN

Setiap goresan tinta dalam karya sederhana ini merupakan karunia Allah SWT. Teriring rasa syukur kepada Allah SWT, karya tulis ini kupersembahkan untuk orang-orang terkasih dan tercinta :

Bapak Rasimin dan Ibu Mujiati tersayang yang senantiasa mencurahkan kasih sayang, dukungan dan pengorbanan tanpa batas, serta selalu mendoakan dalam setiap helaan nafas dan tiap langkahku menuju keberhasilan.

Kakakku tersayang Eko Sulistyo, Doddy Soeharno, Novalita Indarwigati serta adikku tersayang Iqbal Hafidz atas segala motivasi dan dukungan dalam menanti keberhasilanku.

Seseorang yang kelak menjadi imamku, yang selalu mendampingiku dalam keadaan apapun serta senantiasa membimbingku untuk menuju jannahNya.

Para pendidikku dan Almamater yang kubanggakan..

"Maka nikmat Tuhanmu yang manakah yang kamu dustakan?" (Ar-Rahman : 13)

"Jangan terbiasa mengandalkan orang lain, lakukan sendiri selagi kamu mampu" (Mujiati)

"My Life... My Choice..." (Bara Budi Asmara)

"Lakukan yang terbaik dalam segala hal dan jangan lupa bahagia..." (Ambar Prameswari)

SANWACANA

Alhamdulillah puji syukur penulis haturkan kepada Allah SWT yang telah memberikan nikmat sehat, rahmat dan ridho-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian serta penyusunan skripsi ini. Skripsi yang berjudul **"Uji Efektivitas Isolat *Bacillus thuringiensis* dari Tanah Naungan Beringin di Lingkungan Universitas Lampung sebagai Larvasida *Aedes aegypti*"** merupakan salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Sains pada Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.

Dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. Orang tua tersayang, Bapak Rasimin dan Ibu Mujiati yang tidak pernah putus mendo'akan, mendukung serta menuntun penulis dalam segala hal. Terimakasih banyak atas segala do'a dan usaha yang telah Bapak dan Ibu curahkan kepada penulis.
2. Ibu Dr. Emantis Rosa, M.Biomed. selaku pembimbing 1 yang telah membimbing penulis dalam setiap langkah pelaksanaan penelitian hingga penyusunan skripsi.
3. Ibu Dra. Christina Nugroho Ekowati, M.Si. selaku pembimbing 2 yang selalu sabar mengarahkan penulis dalam menyelesaikan penelitian dan proses penyusunan skripsi.

4. Bapak Drs. Tugiyono, Ph.D. selaku pembahas yang senantiasa memberikan arahan dan membimbing penulis dalam menyelesaikan penulisan skripsi.
5. Ibu Dra. Nuning Nurcahyani, M.Sc. selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
6. Ibu Dra. Endang Linirin Widiastuti, Ph.D. selaku Pembimbing Akademik.
7. Bapak Prof. Warsito, S.Si., D.E.A., Ph.D. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
8. Keluarga tercinta, Mas Sulis dan Mbak Nursaidah, Mas Doddy dan Mbak Firah, Mbak Novalita dan Mas Rudin, Iqbal Hafidz, Naila dan Daffa, yang selalu memberikan motivasi dan dukungan yang tulus sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan menyusun skripsi ini.
9. Bara Budi Asmara, seseorang yang senantiasa mendukung, membimbing dan mendampingi penulis dalam menjalani segala kegiatan. Terimakasih telah memberikan kisah penuh warna dalam perjalanan hidup penulis.
10. Bapak Misriyanto, Ibu Suprihatin, Thoni dan Langgeng, terimakasih telah menjadi keluarga yang selalu memberikan dukungan kepada penulis.
11. Keluarga di Laboratorium Mikrobiologi, Aida, Yelbi, Laras, Rohman, Hafidz, Hendra, Rizani, Sarah, Lina, Dea, Yovita, Aini, Vina, Fatma, Carina, Balqis dan Nailul terimakasih atas kehangatan dan kebersamaan yang sangat berarti bagi hidup penulis.
12. Sahabat seperjuangan Olin dan Rahma penulis ucapkan terimakasih untuk motivasi dan kerjasamanya selama penulis menjadi mahasiswa Biologi.
13. Aang sebagai sahabat terbaik, terimakasih atas motivasi serta dukungan yang telah diberikan kepada penulis.

14. Teman-teman mahasiswa Jurusan Biologi 2012 Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
15. Seluruh Staf dan Karyawan FMIPA Universitas Lampung atas bantuan dan kerjasamanya.
16. Almamater Tercinta.

Semoga Allah SWT senantiasa memberikan nikmat dan rahmatNya kepada semua pihak atas ketulusan dan kebaikan yang telah diberikan. Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini masih banyak kekurangan dan kesalahan, akan tetapi besar harapan semoga karya sederhana ini dapat berguna dan bermanfaat bagi penulis dan pembaca.

Bandar lampung, Agustus 2016

Penulis,

Ambar Prameswari

DAFTAR ISI

Halaman

DAFTAR ISI ..... **xii**

DAFTAR TABEL ..... **xiv**

DAFTAR GAMBAR ..... **xv**

I. PENDAHULUAN **1**
A. Latar Belakang 1
B. Tujuan Penelitian 3
C. Manfaat Penelitian 3
D. Kerangka Pemikiran 4
E. Hipotesis 5

II. TINJAUAN PUSTAKA **6**
A. *B. thuringiensis* 6
1. Morfologi *B. thuringiensis* 6
2. Klasifikasi *B. thuringiensis* 7
3. Fisiologi *B. thuringiensis* 8
B. *Ae. aegypti* 11
1. Morfologi *Ae. aegypti* 11
2. Klasifikasi *Ae. aegypti* 16
3. Perilaku dan Siklus Hidup *Ae. aegypti* 17
4. Peranan Nyamuk *Ae. aegypti* sebagai Vektor Demam Berdarah Dengue 17

III. METODE KERJA **19**
A. Waktu dan Tempat Penelitian 19
B. Alat dan Bahan 19
1. Alat-alat 19
2. Bahan-bahan 19

C. Metode Penelitian 20
D. Analisis Data 20
E. Prosedur Kerja 21
1. Persiapan suspensi uji dari isolat *B. thuringiensis* 21
2. Persiapan larva *Ae. aegypti* sebagai larva uji 22
3. Uji efektivitas *B. thuringiensis* sebagai larvasida *Ae. aegypti* 22
F. Diagram Alir Tahapan Penelitian 23

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN 24
A. Hasil Pengamatan 24
B. Pembahasan 28

V. SIMPULAN DAN SARAN 36
A. Simpulan 36
B. Saran 36

DAFTAR PUSTAKA 37

LAMPIRAN 40

DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 1. Beberapa jenis protein Cry dari *B. thuringiensis* berdasarkan serangga sasarannya 10

Tabel 2. Rerata mortalitas larva nyamuk *Ae. aegypti* setelah terpapar isolat *B. thuringiensis* Br(A), Br(B) dan Br(C) 26

Tabel 3. Persentase mortalitas larva uji (isolat Br(A)) 45

Tabel 4. Persentase mortalitas larva uji (isolat Br(B)).....45

Tabel 5. Persentase mortalitas larva uji (isolat Br(C)).....45

Tabel 6. Hasil Analisis menggunakan ANOVA (isolat Br(A), Br(B) dan Br(C)) 46

DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 1. Mikrogram transmisi elektron dari isolat *B. thuringiensis* dengan spora dan kristal protein 7

Gambar 2. Kristal protein *B. thuringiensis* 8

Gambar 3. Telur nyamuk *Aedes* perbesaran 100x 12

Gambar 4. Larva nyamuk *Ae. aegypti* perbesaran 4x 13

Gambar 5. Pupa *Aedes aegypti* perbesaran 4x 14

Gambar 6. Nyamuk *Ae. aegypti* dewasa 15

Gambar 7. Persentase mortalitas larva *Ae. aegypti* setelah diberi perlakuan dengan tiga isolat *B. thuringiensis* pengamatan 24 jam setelah pengujian…..24

Gambar 8. a. larva kontrol, b. larva yang mati setelah perlakuan isolat Br(A), c. larva yang mati setelah perlakuan isolat Br(B), d. larva yang mati setelah perlakkuan isolat Br(C) 27

Gambar 9. Sel *Bacillus thuringiensis* setelah pengecatan gram, berbentuk basil/batang dengan sifat Gram positif (perbesaran 100x).....41

Gambar 10. Sel *Bacillus thuringiensis* setelah pengecatan spora, spora berwarna hijau dan sel bakteri berwarna merah (perbesaran 100x) 41

Gambar 11.Uji katalase isolat *Bacillus thuringiensis* menunjukkan hasil positif memiliki enzim katalase..... 42

Gambar 12.Uji motilitas isolat *Bacillus thuringiensis* menunjukkan bahwa pertumbuhan koloni menyebar karena adanya pergerakan dari bakteri (memiliki flagel)..... 42

Gambar 13.Perhitungan jumlah spora menggunakan *haemocytometer* (perbesaran 100x) 43

Gambar 14.Telur nyamuk *Ae. aegypti* 43

Gambar 15.Telur nyamuk *Ae. aegypti* yang sedang ditetaskan 43

Gambar 16.Pengujian *Bacillus thuringiensis* terhadap larva *Aedes aegypti* di dalam *Laminar air flow cabinet* 45

Gambar 17.Tata letak percobaan uji efektivitas isolat *Bacillus thuringiensis* terhadap larva *Aedes aegypti* 45

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Penyakit Demam Berdarah Dengue disebabkan oleh *Arbovirus* dan ditularkan melalui gigitan nyamuk *Aedes aegypti*. Nyamuk ini mudah ditemukan pada habitat sekitar atau di dalam tempat tinggal manusia seperti rumah, selokan, kantor dan sebagainya (Suriadi & Yuliani, 2001).

Pengendalian populasi serangga vektor sangat diperlukan untuk mengatasi masalah kesehatan, terutama DBD. Berbagai upaya pengendalian vektor sampai sekarang masih mengandalkan insektisida kimia. Penggunaan bahan-bahan kimia untuk mengendalikan nyamuk vektor secara terus menerus dapat menyebabkan terjadinya resistensi nyamuk vektor terhadap insektisida kimia dan menyebabkan kerusakan ekologi (Becker & Margalit, 2003).

Alternatif lain untuk menanggulangi nyamuk vektor yaitu menggunakan agen pengendali hayati. Keuntungan menggunakan agen pengendali hayati antara lain : aman secara ekologi karena jumlah populasinya normal sehingga tidak terakumulasi dalam rantai makanan; beberapa pengendali hayati dapat bertahan lebih lama di alam sehingga proses pengendalian masih dapat terus berjalan; membutuhkan biaya yang lebih murah; serta agen pengendali hayati

memiliki banyak variasinya dalam mengendalikan hama atau vektor penyakit (Widiyanti dan Muyadihardja, 2004).

Pengendali hayati serangga yang sering digunakan untuk menanggulangi nyamuk *Ae. aegypti* adalah *Bacillus thuringiensis*. Salah satu karakteristik dari *B. thuringiensis* adalah mengandung kristal protein di dalam sel bersama dengan spora pada waktu sel mengalami sporulasi (Rasko *et al.,* 2005). Kristal protein tersebut pada beberapa strain *B. thuringiensis* bersifat toksik terhadap anggota Diptera baik pada fase larva atau dewasa (Salaki dan Sembiring, 2009).

Kristal protein *B. thuringiensis* diketahui dapat bersifat toksik terhadap beberapa serangga termasuk Lepidoptera dan Diptera karena usus serangga tersebut dalam kondisi alkali dan memiliki enzim protease. Keadaan tersebut menyebabkan terjadinya aktifitas proteolisis, sehingga kristal protein yang merupakan protoksin diubah menjadi toksin. Toksin akan bereaksi dalam usus serangga dan menyebabkan terbentuknya pori-pori di sel membran saluran pencernaan, hal itu akan mengganggu keseimbangan osmotik sel di dalam usus (Bahagiawati, 2002).

B. thuringiensis dapat diisolasi dari berbagai habitat, diantaranya dari tanah, serangga yang sudah mati, dan daun beberapa jenis tanaman conifer. Beberapa jenis *B. thuringiensis* juga dapat ditemukan pada berbagai jenis

sayuran, kapas, tembakau, dan beberapa tanaman hutan, akan tetapi *B. thuringiensis* lebih banyak ditemukan di tanah.

Hasil penelitian Pakpahan (2013) menyatakan bahwa isolat *B. thuringiensis* dari beberapa tanah naungan di lingkungan Universitas Lampung memiliki toksisitas terhadap larva Lepidoptera. Informasi mengenai efektivitas isolat *B. thuringiensis* dari tanah naungan beringin di lingkungan Universitas Lampung sebagai larvasida *Ae. aegypti* belum diketahui dengan jelas, oleh sebab itu dilakukan penelitian mengenai uji efektivitas isolat *B. thuringiensis* dari tanah naungan beringin di lingkungan Universitas Lampung terhadap larva *Ae. aegypti*.

B. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas isolat *B. thuringiesis* dari tanah naungan beringin di lingkungan Universitas Lampung sebagai larvasida *Ae. aegypti*.

C. Manfaat Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai pemanfaatan *B. thuringiensis* yang diisolasi dari tanah naungan beringin di lingkungan Universitas Lampung sebagai pengendali hayati larva nyamuk *Ae. aegypti*.

D. Kerangka Pemikiran

Bakteri *B. thuringiensis* diketahui memiliki kristal protein bersifat toksik yang efektif dan sangat spesifik terhadap nyamuk *Ae. aegypti*. Kristal δ-endotoksin yang merupakan protoksin diubah menjadi toksin oleh enzim protease pada kondisi alkali. Toksin aktif ini kemudian akan terikat pada reseptor khusus yang terdapat pada membran sel-sel epitel usus tengah. Adanya ikatan ini menyebabkan terganggunya permeabilitas membran sel-sel epitel.

Beberapa isolat *B. thuringiensis* dari berbagai tanah naungan di Kabupaten Minahasa memiliki toksisitas terhadap larva *Ae. aegypti*. Isolat *B. thuringiensis* dari beberapa tanah naungan di lingkungan Universitas Lampung menunjukkan hasil positif pada uji toksisitas terhadap larva *Papilio memnon* (Lepidoptera). Terdapat persamaan antara Lepidoptera dan Diptera, yaitu usus serangga tersebut dalam kondisi alkali dan memiliki enzim protease. Keadaan ini memicu adanya dugaan bahwa *B. thuringiensis* isolat tanah naungan di lingkungan Universitas Lampung memiliki toksisitas terhadap larva *Ae. aegypti* yang merupakan serangga dari ordo Diptera.

B. thuringiensis isolat Madura pada konsentrasi pengenceran 10^0 dengan kepadatan bakteri tertinggi yaitu sebesar $1{,}51 \times 10^8$ $selml^{-1}$ dapat membunuh larva *Ae. aegypti* dalam jumlah paling tinggi dibandingkan dengan kepadatan dibawahnya. Pada kepadatan bakteri tersebut, persentase mortalitas larva instar III adalah 26,67%, sedangkan pada konsentrasi pengenceran 10^{-1}

persentase mortalitas larva instar III hanya 2,22%. Semakin banyak spora yang terbentuk pada *B. thuringiensis* diperkirakan semakin banyak pula kristal toksin atau protein yang dilepaskan untuk membunuh larva *Ae. aegypti*.

E. Hipotesis

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Isolat *B. thuringiensis* asal tanah naungan beringin di lingkungan Universitas Lampung memiliki efek larvasida terhadap *Ae. aegypti*.
2. Kepadatan *B. thuringiensis* $2x10^7$sel/ml paling efektif dalam membunuh larva nyamuk *Ae. aegypti* yaitu sebesar $\geq 50\%$.

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. *B. thuringiensis*

1. Morfologi *B. thuringiensis*

B. thuringiensis adalah bakteri Gram positif yang dapat membentuk spora dan menghasilkan kristal protein insektisida selama sporulasi (Rasko, *et al.*, 2005). Spora *B. thuringiensis* memiliki panjang 3-5 µm dan lebar 1-1,2 µm, berbentuk oval dengan posisi terminal, sedangkan Kristal protein berukuran 0,6-2,0 µm bergantung dari tipenya masing-masing *B. thuringiensis* dapat bergerak aktif (motil) dengan *flagella peritrich* dan bersifat fakultatif aerob (Zeigler, 1999).

Bakteri ini memiliki habitat pada tanah, pepohonan, pakan ternak dan serangga yang sudah mati. Termasuk bakteri mesofil dengan kisaran suhu pertumbuhan 15-45ºC dan kisaran pH pertumbuhan 5,5-8,5. Pada medium buatan koloni *B. thuringiensis* memiliki permukaan yang kasar, licin agak mengkilat, warna koloni putih kekuningan. Bentuk sel vegetatifnya berbentuk batang dan memiliki spora dan kristal di dalamnya (Salaki, *et al*., 2009).

2. Klasifikasi *B. thuringiensis*

Kedudukan *B. thuringiensis* dalam taksonomi ilmiah menurut Tarumingkeng (2001) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Eubacteria

Divisi : Bakteria

Class : Schizomycetes

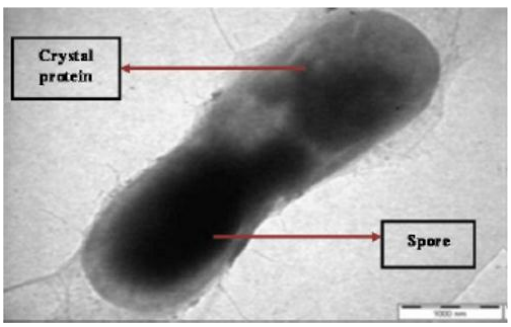
Ordo : Eubacteriales

Family : Bacillaceae

Genus : *Bacillus*

Spesies : *Bacillus thuringiensis.*

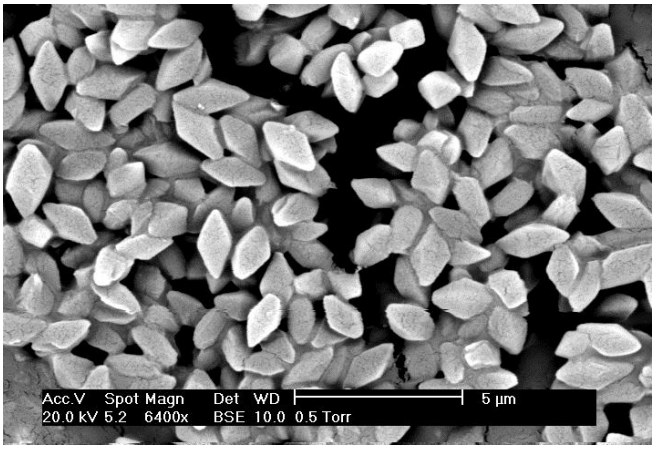
Sedikitnya terdapat 34 subspesies dari *B. thuringiensis* yang disebut serotype atau varietas dari *B. thuringiensis* dan lebih dari 800 keturunan atau benih *B. thuringiensis* telah diisolasi (Swadener, 1994). Pada beberapa subspesies dari bakteri *B. thuringiensis* yaitu kurstaki, aizawai, sotto entomocidus, berliner, san diego, tenebroid, morrisoni dan israelensis, dijumpai beberapa jenis strain, seperti HD-1, HD-5 dan sebagainya dalam satu subspesies (Bahagiawati, 2002).



Gambar 1. Mikrogram transmisi elektron dari isolat *B. thuringiensis* dengan spora dan kristal protein (Maheswaran *et al*., 2010).

3. Fisiologi *B. thuringiensis*

Salah satu karakteristik dan *B. thuringiensis* adalah dapat memproduksi kristal protein dalam sel selama fase sporulasi kristal toksin memegang peranan penting karena aktivitasnya sebagai insektisida (Bahagiawati, 2002). Spora *B. thuringiensis* merupakan suatu usaha perlindungan diri dari pengaruh lingkungan luar yang buruk, hal ini terjadi karena dinding bakteri yang bersifat impermeabel. Pembentukan spora juga bersamaan dengan terbentuknya kristal protein yaitu ketika sel mengalami lisis sesudah sporulasi sempurna.



Gambar 2. Kristal protein *B. thuringiensis* (Wikipedia, 2006).

Kristal protein yang bersifat insektisida ini sebenarnya hanya protoksin yang jika larut dalam usus serangga akan berubah menjadi polipeptida yang lebih pendek (27-147 kDa). Pada umumnya, kristal protein di alam bersifat protoksin karena adanya aktivitas proteolisis dalam sistem pencernaan serangga yang mengubah *B. thuringiensis* protoksin menjadi polipeptida yang lebih pendek 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).

Kristal protein yang dihasilkan merupakan bagian dari 25% berat kering bakteri yang terdiri dari suatu molekul glikoprotein, mengandung 3,9% glukosa dan 1,8% manosa. Kristal protein tidak larut dalam air ataupun pelarut organik, tetapi larut dalam larutan alkali dan terdenaturasi oleh panas, asam lambung dan enzim protease lambung sehingga terlarut dalam air dan membentuk toksin aktif yang akan tetap aktif meskipun dipanaskan hingga suhu 80ºC selama 20 menit (Dini, 2005).

Gen yang mengkode kristal protein yang dihasilkan oleh bakteri *B. thuringiensis* telah diisolasi dan dikarakterisasi, dikenal dengan sebutan gen Cry yang berasal dari kata Crystal (Bahagiawati, 2002). Gen Cry adalah paraspora yang mengandung kristal protein dari *B. thuringiensis* yang menghasilkan toksik terhadap organisme sasaran. Masing-masing jenis gen tersebut dapat menentukan sifat toksik kristal protein yang spesifik terhadap larva.

Pada umumnya kristal protein dengan bentuk kubus bersifat toksik terhadap jenis serangga ordo Lepidoptera dan Diptera. Kristal protein dengan bentuk bipiramidal bersifat toksik terhadap jenis serangga ordo Lepidoptera dan yang berbentuk oval hanya toksik terhadap jenis serangga

ordo Diptera (Dini, 2005). Menurut Margino dan Mangundihardjo (2002) kristal endotoksin Bt telah dikelompokkan menjadi delapan kelas utama, yaitu cry1A sampai cryX berdasarkan homologi sekuen asam amino di N-terminalnya, berat mo-lekulnya, dan aktivitas insektisidal-nya, seperti terlihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Beberapa jenis protein Cry dari *B. thuringiensis* berdasarkan serangga sasarannya

No	**Tipe gen Cry**	**Spesifik terhadap Ordo**
1	I Cry1Aa, Cry1Ab, Cry1Ac, Cry1Cb, Cry1F	Lepidoptera
2	II CryIIA, CryIIB, CryIIC	Lepidoptera
3	III CryIIIA, CryIIIB, CryIIIC	Coleoptera
4	IV CryIVB, CryIVC	Diptera
5	V CryV	Lepidoptera dan Coleoptera
6	VI CryVI	Nematoda
7	IX CryIXF	Lepidoptera
8	X CryX	Lepidoptera

Sumber : Margino dan Mangundihardjo (2002).

Selain dipengaruhi oleh spesifitas jenis Gen Cry yang terkandung pada tiap strain bakteri, efektivitas *B. thuringiensis* dalam membunuh larva nyamuk dapat dipengaruhi oleh berbagai macam faktor, yaitu instar larva nyamuk, periode pemaparan, kualitas air, suhu air, perilaku makan dari larva nyamuk sasaran, serta banyak sedikitnya toksin (kristal) yang termakan (Sukarno *et al*., 2000).

B. *Ae. aegypti*

1. Morfologi *Ae. aegypti*

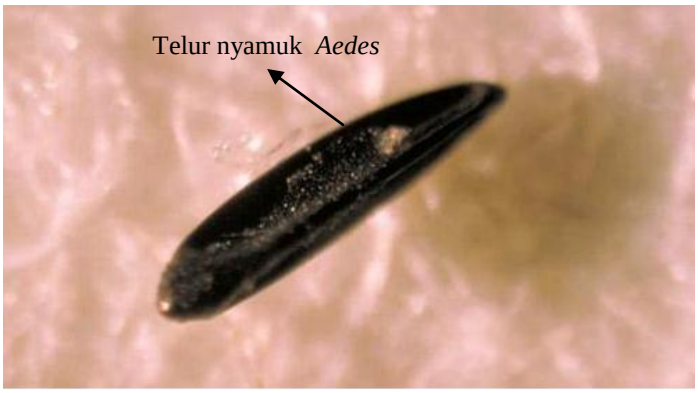
Nyamuk *Ae. aegypti* (Diptera: Culicidae) disebut *black-white mosquito*, karena tubuhnya ditandai dengan pita atau garis-garis putih keperakan di atas dasar hitam. Masa pertumbuhan dan perkembangan nyamuk *Ae.aegypti* dapat dibagi menjadi 4 tahap, yaitu telur, larva, pupa dan dewasa, sehingga termasuk metamorfosis sempurna (holometabola) (Soegijanto, 2006).

Nyamuk jantan dan betina memiliki perbedaan dalam hal ukuran, yaitu nyamuk jantan yang umumnya lebih kecil dari betina dan terdapatnya rambut-rambut tebal pada antena nyamuk jantan. Berikut adalah morfologi dari masing-masing tahap dan perkembangan nyamuk *Ae. aegypti*:

1. Telur

   Telur nyamuk *Ae. aegypti* berbentuk oval memanjang, warna hitam, ukuran ± 0,08 mm, tidak memiliki alat pelampung dan diletakkan satu per satu pada benda-benda yang terapung atau pada dinding bagian dalam tempat penampungan air (TPA) yang berbatasan langsung dengan permukaan air. Telur yang dilepas oleh nyamuk dewasa, sebanyak 85% melekat di dinding TPA, sedangkan 15% lainnya jatuh di

permukaan air. Telur nyamuk *Ae. aegypti* biasa ditemukan di dalam wadah atau kaleng yang memiliki genangan air.



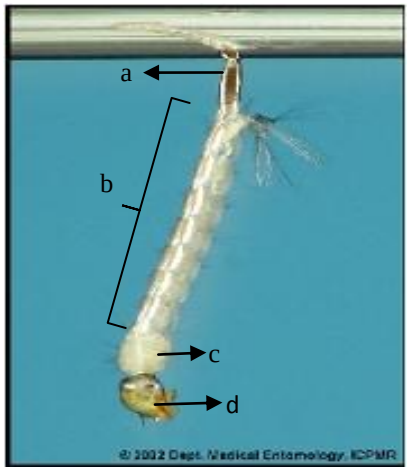
Gambar 3. Telur nyamuk *Aedes* perbesaran 100x (Zettel and Kaufman, 2009).

2. Larva

Larva *Ae. aegypti* gerakannya lincah dan aktif, dengan memperlihatkan gerakan-gerakan naik ke permukaan air dan turun ke dasar wadah secara berulang. Larva mengambil makanan di dasar wadah, oleh karena itu larva *Ae. aegypti* disebut pemakan makanan di dasar (bottom feeder). Makanannya terdiri dari mikroorganisme, detritus, alga, protista, daun, dan invertebrata hidup dan mati. Pada saat larva mengambil oksigen dari udara, larva menempatkan corong udara (siphon) pada permukaan air seolah-olah badan larva berada pada posisi membentuk sudut dengan permukaan air (Soegijanto, 2006).

Larva *Ae. aegypti* mempunyai tubuh memanjang tanpa kaki dengan bulu-bulu sederhana yang tersusun bilateral simetris. Larva ini dalam pertumbuhan dan perkembangannya mengalami 4 kali pergantian

kulit (ecdysis), dan larva yang terbentuk berturut-turut disebut instar I, II, III, dan IV.



Gambar 4. Larva nyamuk *Ae. aegypti* perbesaran 4x (Dogget, 1999).
Keterangan : a). siphon ; b). abdomen; c). thorax; d). kepala

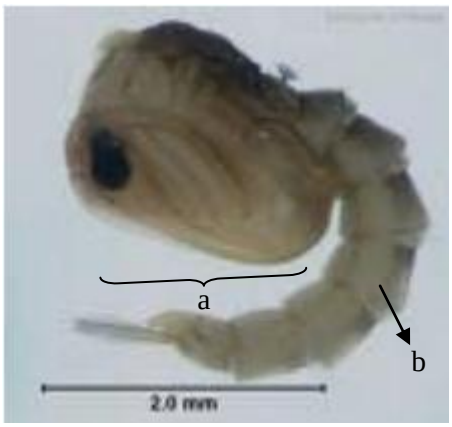
Larva instar I, tubuhnya sangat kecil, warna transparan, panjang 1-2 mm, duri-duri (spinae) pada dada (thorax) belum begitu jelas dan corong pernapasan (siphon) belum menghitam. Larva instar II bertambah besar, ukuran 2,5 m - 3,9 mm, duri dada belum jelas dan corong pernapasan sudah berwarna hitam. Larva instar III berukuran 4-5 mm, duri-duri dada mulai jelas dan corong pernapasan berwarna coklat kehitaman (Soegijanto, 2006).

Larva instar IV telah lengkap struktur anatominya dan jelas tubuh dapat dibagi menjadi kepala (chepal), dada (thorax) dan perut (abdomen). Pada bagian kepala terdapat sepasang mata majemuk, sepasang antena tanpa duri-duri dan alat-alat mulut tipe pengunyah (chewing). Bagian dada tampak paling besar dan terdapat bulu-bulu yang simetris. Perut tersusun atas 8 ruas, pada ruas ke-8 terdapat corong pernafasan.

Corong pernapasan tanpa duri-duri, berwarna hitam dan ada seberkas bulu-bulu (tuft). Ruas ke-8 juga dilengkapi dengan seberkas bulu-bulu sikat (brush) di bagian ventral dan gigi-gigi sisir (comb) yang berjumlah 15-19 gigi yang tersusun dalam satu baris. Larva ini tubuhnya langsing dan bergerak sangat lincah, bersifat fototaksis negatif dan waktu istirahat membentuk sudut hampir tegak lurus dengan bidang permukaan air (Soegijanto, 2006).

3. Pupa

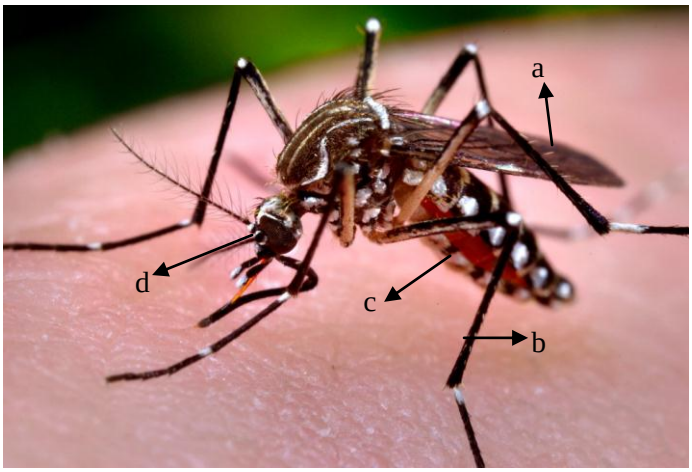
Pupa bentuk tubuhnya bengkok, dengan bagian kepala-dada (chepalothorax) lebih besar bila dibandingkan dengan bagian perutnya, sehingga tampak seperti tanda baca "koma". Pada bagian punggung (dorsal) dada terdapat alat bernapas seperti terompet. Pada ruas perut ke-8 terdapat sepasang alat pengayuh yang berguna untuk berenang. Pupa tidak makan, waktu istirahat posisi pupa sejajar dengan bidang permukaan air (Soegijanto, 2006).



Gambar 5. Pupa *Aedes aegypti* perbesaran 4x (Dogget, 1999).
Keterangan : a). chepalothorax ; b). abdomen.

4. Dewasa

Nyamuk *Ae. aegypti* tubuhnya tersusun dari tiga bagian yaitu kepala, dada dan perut. Pada bagaian kepala terdapat sepasang mata majemuk dan antena yang berbulu. Alat mulut nyamuk betina tipe penusuk-pengisap (*piercing-sucking*) dan termasuk lebih menyukai manusia (*anthropophagus*), sedangkan nyamuk jantan memiliki bagian mulut yang lebih lemah sehingga tidak mampu menembus kulit manusia, karena itu tergolong lebih menyukai cairan tumbuhan (*phytophagus*).



Gambar 6. Nyamuk *Ae. aegypti* dewasa (Dogget, 1999).
Keterangan: a). sayap; b). kaki ; c). abdomen ; d). kepala

Nyamuk betina mempunyai antena tipe-pilose, sedangkan nyamuk jantan tipe plumose. Dada nyamuk ini tersusun dari 3 ruas, porothorax, mesothorax dan metathorax. Setiap ruas dada ada sepasang kaki yang terdiri dari femur (paha), tibia (betis) dan tarsus (tampak). Pada ruas-ruas kaki ada gelang-gelang putih, tetapi pada bagian tibia kaki belakang tidak ada gelang putih. Pada bagian dada juga terdapat sepasang sayap tanpa noda-noda hitam. Bagian punggung (mesontum)

ada gambaran garis-garis putih yang dapat dipakai untuk membedakan dengan jenis lain.

Gambaran punggung nyamuk berupa sepasang garis lengkung putih pada tepinya dan sepasang garis submedian di tengahnya. Perut terdiri dari 8 ruas dan pada ruas-ruas tersebut terdapat bintik-bintik putih. Waktu istirahat posisi nyamuk *Ae. aegypti* ini tubuhnya sejajar dengan bidang permukaan yang dihinggapinya (Soegijanto, 2006).

2. Klasifikasi *Ae. aegypti*

Ae. aegypti merupakan salah satu jenis nyamuk yang dapat membawa virus Dengue penyebab penyakit demam berdarah dengue (DBD). Kedudukan nyamuk *Ae. aegypti* dalam taksonomi ilmiah menurut (Djakaria, 2004) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Animalia

Phylum : Arthropoda

Class : Insecta

Ordo : Diptera

Family : Culicidae

Genus : *Aedes*

Species : *Aedes aegypti.*

3. Perilaku dan Siklus Hidup *Ae. aegypti*

Di Indonesia, nyamuk *Ae. aegypti* umumnya memiliki habitat di lingkungan perumahan yang terdapat banyak genangan air bersih dalam bak mandi ataupun tempayan, oleh karena itu jenis ini bersifat urban.*Ae. aegypti* bersifat diurnal atau aktif pada pagi hingga siang hari. Penularan penyakit dilakukan oleh nyamuk betina karena hanya nyamuk betina yang mengisap darah, hal itu dilakukannya untuk memperoleh asupan protein yang diperlukannya untuk memproduksi telur. Nyamuk jantan tidak membutuhkan darah dan memperoleh energi dari nektar bunga ataupun tumbuhan. Jenis ini tertarik pada area yang gelap dan benda-benda berwarna hitam atau merah (Soegijanto, 2006).

Telur *Ae. aegypti* tahan kekeringan dan dapat bertahan hingga 1 bulan dalam keadaan kering. Jika terendam air, telur kering dapat menetas menjadi larva. Larva sangat membutuhkan air yang cukup untuk perkembangannya. Kondisi larva saat berkembang dapat mempengaruhi kondisi nyamuk dewasa yang dihasilkan, misalnya populasi larva yang melebihi ketersediaan makanan akan menghasilkan nyamuk dewasa yang cenderung lebih rakus dalam mengisap darah.

4. Peranan Nyamuk *Ae. aegypti* sebagai Vektor Demam Berdarah Dengue

Demam berdarah dengue (DBD) adalah penyakit yang ditemukan di daerah tropis dan disebabkan oleh infeksi salah satu virus dari genus

Flavivirus, famili Flaviviridae dan ditularkan melalui vektor *Ae. aegypti* betina (Kristina dan Wulandari, 2004). Nyamuk *Ae. aegypti* terinfeksi melalui pengisapan darah dari orang yang sakit dan dapat menularkan virus Dengue kepada manusia, baik secara langsung (setelah menggigit orang yang sedang dalam fase viremia), maupun secara tidak langsung, setelah melewati masa inkubasi dalam tubuhnya (extrinsic incubation period) (Soewondo, 2002).

Vektor Demam Berdarah Dengue adalah nyamuk *Ae. aegypti* sebagai vektor utama dan *Ae. albopictus* sebagai vektor potensial, selain kedua spesies tersebut masih ada spesies *Aedes* lainnya yang berpotensi sebagai vektor DBD.

Nyamuk merupakan serangga yang dalam hidupnya mengalami beberapa fase perkembangan dimulai dari telur, larva, pupa dan dewasa. Proses perkembangannya yaitu stadium telur, larva dan pupa hidup di dalam air, sedangkan dewasa hidup di udara (Hoedojo, 2003). Stadium larva merupakan stadium penting karena gambaran jumlah larva akan menunjukkan populasi dewasa, selain itu stadium larva juga mudah untuk diamati dan dikendalikan karena berada di tempat perindukan (air).

III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2015 sampai dengan Februari 2016 bertempat di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.

B. Alat dan Bahan

1. Alat-alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah erlenmeyer, tabung reaksi, gelas beaker 100 ml, jarum ose, bunsen, rak tabung, mikropipet, mikrotip, *magnetic hotplate stirrer*, *laminar air flow cabinet*, *orbital shaker*, inkubator, oven, mikroskop, *water bath*, neraca digital, *object glass*, autoklaf, pipet volumetri, pipet tetes, *haemocytometer*, nampan atau wadah plastik dan alat-alat pendukung lainnya.

2. Bahan-bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat *B. thuringiensis* dari tanah naungan beringin di lingkungan Universitas Lampung, telur nyamuk *Ae. aegypti* yang diperoleh dari Stasiun Penelitian

Vektor Penyakit (SPVP) Salatiga, media *Nutrient Agar* (NA), akuades, alkohol, larutan ringer steril atau garam fisiologis, dan air sumur steril.

C. Metode Penelitian

Uji efektivitas *B. thuringienis* sebagai larvasida *Ae. aegypti* dilakukan secara eksperimental. Efektivitas *B. thuringiensis* sebagai larvasida *Ae. aegypti* ditentukan dengan persentase mortalitas larva *Ae. aegypti*. Data sekunder berupa pengamatan terhadap morfologi larva uji disajikan secara deskriptif. Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang disusun secara faktorial. Faktor pertama adalah tiga isolat *B. thuringienis* yang diperoleh dari tiga titik naungan beringin yaitu Br(A), Br(B) dan Br(C). Faktor kedua adalah kepadatan *B. thuringiensis* yaitu $2x10^4$ sel/ml (K1), $2x10^5$ sel/ml (K2), $2x10^6$ sel/ml (K3), $2x10^7$ sel/ml (K4) serta kontrol (K0). Parameter yang diamati adalah mortalitas larva *Ae. aegypti* setelah pemberian *B. thuringiensis*. Masing-masing perlakuan dilakukan empat kali ulangan.

D. Analisis Data

Persentase mortalitas larva *Ae. aegypti* setelah pemberian *B. thuringiensis* dihitung menggunakan rumus yang dikemukakan oleh Kundra (1981):

$$\mathbf{M = a/b \times 100\%}$$

Keterangan:
M = persentase mortalitas larva nyamuk *Ae. aegypti*
a = jumlah larva nyamuk *Ae. aegypti* yang mati
b = jumlah larva nyamuk *Ae. aegypti* yang digunakan.

Analisis data menggunakan ANOVA (*analysis of variant*) pada taraf nyata 5% dan apabila menunjukkan perbedaan yang signifikasikan maka dilakukan uji lanjut dengan uji *Least Significance Difference* (LSD) pada taraf nyata 5%.

E. Prosedur Kerja

1. Persiapan suspensi uji dari isolat *B. thuringiensis*

Isolat *B. thuringiensis* diperoleh dengan melakukan langkah-langkah sebagai berikut (Salaki dan Sembiring, 2009):

a. Biakkan *B. thuringiensis* dari stok bakteri diinokulasikan pada media NA miring menggunakan jarum ose bulat dengan metode *streak* secara aseptik.
b. Biakkan diinkubasi pada suhu 37ºC selama 5 hari.
c. Biakkan bakteri berumur 5 hari disuspensikan dengan larutan NaCl steril. Suspensi awal disebut suspensi stok.
d. Suspensi sebelum digunakan dalam pengujian dilakukan penghitungan jumlah spora dengan menggunakan *haemocytometer* untuk mengetahui kepadatan *B. thuringiensis* pada suspensi stok.
e. Suspensi stok dapat ditentukan kepadatannya dengan cara menambahkan air sumur untuk mendapatkan kepadatan yang lebih rendah.
f. Penentuan kepadatan *B. thuringiensis* dapat dilakukan dengan

menggunakan rumus sebagai berikut:

$$V_1.N_1 = V_2.N_2$$

Keterangan :
V_1 = Volume larutan stok yang diambil (ml)
N_1 = Kepadatan bakteri larutan stok (sel/ml)
V_2 = Volume larutan setelah penambahan larutan stok (ml)
N_2 = Kepadatan bakteri yang diinginkan (sel/ml)

g. Hasil pengenceran didapat yang merupakan suspensi uji yang akan digunakan yaitu pada kepadatan *B. thuringiensis* $2x10^4$ sel/ml (K1), $2x10^5$ sel/ml (K2), $2x10^6$ sel/ml (K3) dan $2x10^7$sel/ml (K4).

2. Persiapan larva nyamuk *Ae. aegypti* sebagai larva uji

Persiapan larva nyamuk *Ae. aegypti* dapat dilakukan dengan langkah-langkah sebagai berikut (Salaki dan Sembiring, 2009):

a. Telur nyamuk *Ae. aegypti* yang diperoleh dari Stasiun Penelitian Vektor Penyakit (SPVP) Salatiga ditetaskan dengan cara dimasukkan dalam wadah plastik yang telah diisi dengan air sumur sebanyak ¾ volume wadah.
b. Telur yang menetas diberi pakan berupa pelet ikan yang sudah dihaluskan dan dibiarkan hingga larva instar III.

3. Uji efektivitas *B. thuringiensis* sebagai larvasida *Ae. aegypti*

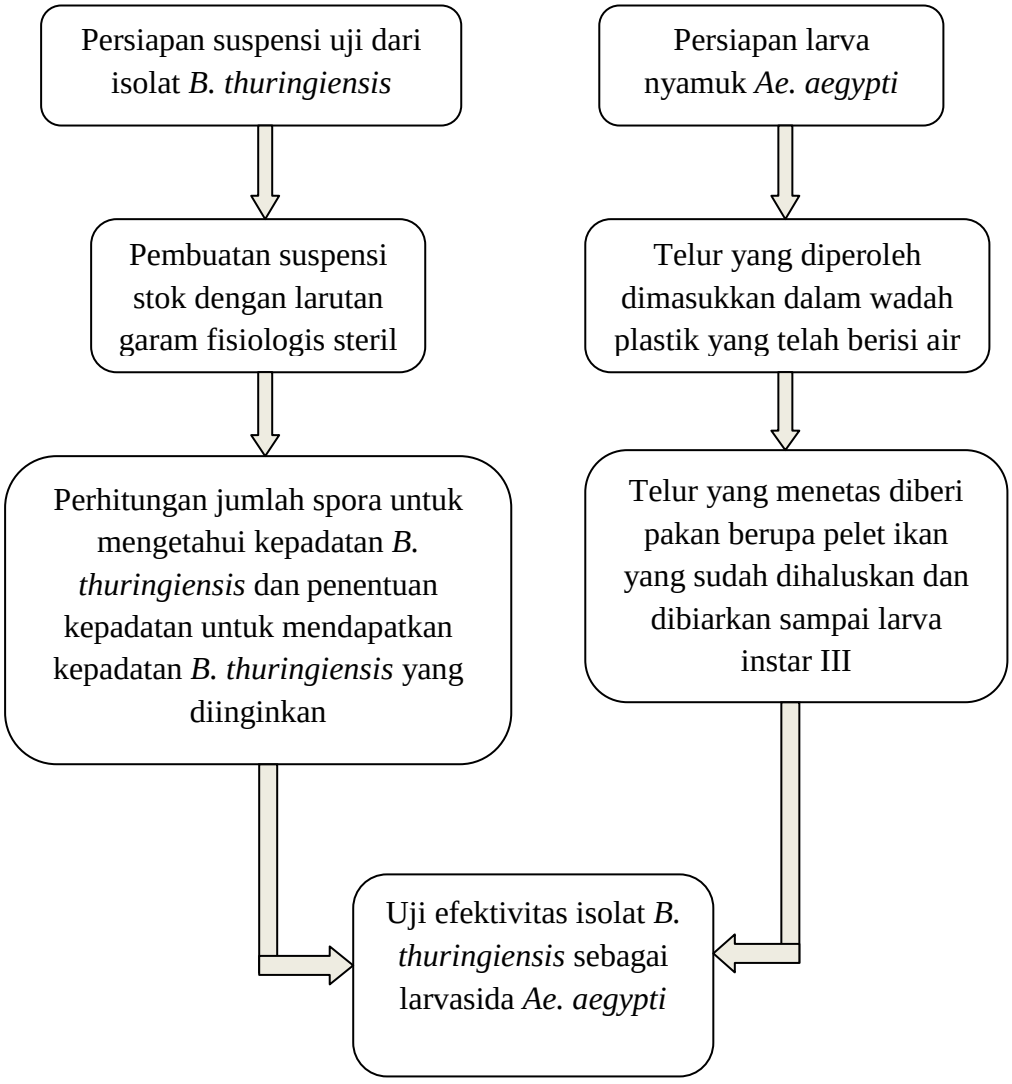
Uji efektivitas *B. thuringiensis* sebagai larvasida *Ae. aegypti* dilakukan dengan cara sebagai berikut (Salaki dan Sembiring, 2009):

a. Pengujian dilakukan dengan menggunakan gelas beaker steril. Masing-masing suspensi uji sebanyak 5 ml dimasukkan ke dalam gelas

beaker yang telah berisi 20 ml air sumur steril. Larva *Ae. aegypti* instar III sejumlah 10 ekor di masukkan ke dalam gelas beaker yang telah berisi suspensi uji, sebagai kontrol digunakan air sumur steril.

b. Mortalitas larva dihitung 24 jam setelah perlakuan.

F. Diagram Alir Tahapan Penelitian



V. SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

Simpulan yang didapat dari hasil penelitian mengenai uji efektivitas isolat *B. thuringiensis* dari tanah naungan beringin di lingkungan Universitas Lampung sebagai larvasida *Ae. aegypti* adalah sebagai berikut :

1. Isolat *B. thuringiensis* asal tanah naungan beringin di lingkungan Universitas Lampung memiliki efek larvasida terhadap *Ae. aegypti*.
2. Isolat *B. thuringiensis* yang ditemukan menyebabkan mortalitas larva *Ae. aegypti* instar III sebesar <50%.
3. Kepadatan *Bacillus thuringiensis* $2x10^7$ sel/ml pada isolat Br(A) mampu membunuh larva *Ae. aegypti* paling tinggi yaitu sebesar 22.5% dibandingkan kepadatan dibawahnya.

B. Saran

Saran yang diajukan dalam penelitian ini yaitu:

1. Kepadatan bakteri yang digunakan perlu ditingkatkan untuk memperoleh presentase mortalitas larva uji yang lebih tinggi;
2. Isolat yang telah ditemukan perlu dilakukan pengujian terhadap larva nyamuk jenis lain untuk mengetahui spesifikasi toksinnya.

DAFTAR PUSTAKA

Abidondifu, Y.V. 2013. Efikasi Beberapa Jenis Bubuk Pestisida Nabati Sebagai *Seedtreatment* Pada Benih Padi Yang Disimpan Terhadap Hama Bubuk Padi (*Sitophylus oryzae* L.). (Skripsi). Manokwari : Fakultas Pertanian dan Teknologi Pertanian Universitas Negeri Papua.

Agaisse H dan Lereclus D. 1995. *Bacillus thuringiensis* produce so much insecticidal crystal protein. *Journal Bacteriological*. 21: 6027–32.

Bahagiawati. 2002. Penggunaan *Bacillus thuringiensis* sebagai Bioinsektisida. *Bulletin Agrobio* 5(1) : 21-28. Bogor.

Becker, N., & Margalit, J., 2003. *Use of Bacillus thuringiensis israelensis Against Mosquitoes and Blackflies* In Entwistle, P.F., Corry, J.S., Bailey, M.J., & Higgs, S. *Bacillus thuringiensis an Environmental Biopesticide: Theory and Practice*. John Willey & Sons Chichester. Inggris.

Dini, Y. W. 2005. Profil Protein Kristal dan GNA Genom Total Galur-Galur Bakteri *Bacillus thuringiensis*. (Skripsi). Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pakuan, Bogor.

Djakaria, S. 2004. *Pendahuluan Entomologi Parasitologi Kedokteran Edisi Ke-3*. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta.

Doggett, S.L. 1999. The New South Wales Arbovirus Surveillance and Mosquito Monitoring Program. [internet]. Terdapat pada http://medent.usyd.edu.au/arbovirus/mosquit/photos/mosquitophotos.htm. Diakses pada 19 November 2015.

Gama, Z.P., Yanuwiadi, B., dan Kurniati, T.H. 2010. Strategi Pemberantasan Nyamuk Aman Lingkungan: Potensi *Bacillus thuringiensis* Isolat Madura Sebagai Musuh Alami Nyamuk *Aedes aegypti*. *Jurnal Pembangunan dan Alam Lestari*. 1 (1) : 2087 – 3522.

Hoedojo, R. 2003. *Parasitologi Kedokteran*. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta.

Kristina, I., dan Wulandari, L. 2004. Kajian Masalah Kesehatan : Demam Berdarah Dengue, Litbang Depkes, Jakarta.

Kundra. 1981. *Dinamika Populasi*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Lambert B, Buysse L, Decock C, Jansens S, Piens C, Saey B, Seurinck J, Van Audenhove K, Van Rie J, Van Vliet A dan Peferoen M. 1996. A *Bacillus thuringiensis* Insecticidal Crystal Protein with a High Activity against Members of the Family Noctuidae. *Applied Environment Microbiological*. 62: 80–6.

Maheswaran, S., Sreeramanan, S., C. M. Reena Josephine, Marimuthu, K and Xavier R. 2010. Occurrence of *Bacillus thuringiensis* in Faeces of Herbivorous Farm Animals. Full Length Research Paper. *African Journal of Biotechnology* Vol. 9(47), 8013-8019.

Margino, S. dan S. Mangundihardjo. 2002. Pemanfaatan keanekaragaman hayati untuk biopestisida di Indonesia. *Lokakarya Keanekaragaman Hayati untuk Perlindungan Tanaman*. Yogyakarta, 7 Agustus 2002.

Pakpahan, M. 2013. Karakterisasi Fisiologi dan Pertumbuhan *Bacillus thuringiensis* dari Tanah Naungan di Lingkungan Universitas Lampung. *Seminar Nasional Sains & Teknologi V* Lembaga Penelitian Universitas Lampung. Bandar Lampung.

Partosoetiono, S. 1992. *Pengenalan Pelajaran Serangga*. Gajah Mada University Press. Yogyakarta. (terjemahan). Borror D. J., C. A. Triplehorn, & N. F Johnson. 1989. An Introduction to the Study Insects.

Rasko DA, Altherr MR, Han CS, Ravel J (2005) Genomics of the *Bacillus cereus* group of organisms. *FEMS Microbiol Rev* 29(2):303–329.

Rao MB, Tanksale AM, Ghatge MS, Deshpande VV. 1998. Molecular andbiotechnological aspect of microbial proteases. *Microbiology Molecular Biology Review* 62:597-635.

Salaki, C. L., dan Sembiring, L. 2009. Eksplorasi Bakteri *Bacillus thuringiensis* dari Berbagai Habitat Alami yang Berpotensi sebagai Agensia Pengendali Hayati Nyamuk *Aedes aegypti* Linnaeus. *Prosiding Biteknologi*. *Seminar Nasional Biologi XX dan Kongres PBI XIV* UIN Maliki Malang.

Salaki, C. L., Situmorang, J., dan sembiring, L. 2009. Isolation and Characterization of Indonesian *Indigenous* Bacteria (*Bacillus thuringiensis*) which are Potential for Biological Control Agent Against Cabbage Heart Caterpillar (Crocidolomia binotalis Zell). *Jurnal Eugennia*, hal. 1-6.

Soegijanto S, 2006. *Demam berdarah dengue*. Edisi kedua. Airlangga University Press. Surabaya.

Soewondo, E.S., 2002. *Tata Laksana Demam Berdarah Dengue pada Orang Dewasa. Seri Penyakit Tropik Infeksi, Perkembangan Terkini Dalam Pengelolaan Beberapa Penyakit Tropik Infeksi*. Airlangga University Press, Surabaya: 117.

Sukarno, Blondine Ch. P.R., Wiranto. 2000. Pengendalian Vektor (Jentik) Demam Berdarah, Malaria, Filariasis menggunakan Strain Lokal *Bacillus thuringiensis* Varietas Israelensis. *Medika*. 26(1):16-19.

Suriadi & Yuliani, R. 2001. *Buku Pegangan Praktek Klinik Asuhan Keperawatan pada Anak*. Edisi I. CV Sagung Seto. Jakarta.

Swadener, C. 1994. *Bacillus thuringiensis*. Northwest Coalition for Alternative to Pesticides. Ottawa. *Journal of Pesticides Reform* vol. 14, No 3: 13-20.

Trizelia, 2001. Makalah Pemanfaatan *Bacillus thuringiensis* untuk Pengendalian Hama *Crocidolomia binotalis*. IPB: Bogor.

Tarumingkeng, R. C. 2001. *Makalah Falsafah Sains (Pps 702)*. Program Pascasarjana/SC. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Widiyanti, P.M.N. dan Muyadihardja, Sanusi. 2004. Uji Toksisitas Jamur *Metarhizium anisopliae* terhadap larva Nyamuk *Aedes aegypti*. *Media Litbang Kesehatan*, Volume XIV Nomor 3. Hal 25-30.

Wakhyulianto. 2005. Uji Daya Bunuh Ekstrak Cabai Rawit (*Capsicum frutescens* L.) Tehadap Kematian Nyamuk *Aedes aegypti*. Universitas Negeri Semarang. Semarang.

Wikipedia. 2006. *Bacillus thuringiensis*. [internet]. Terdapat pada https://id.wikipedia.org/wiki/Berkas:Bt-toxin-crystals.jpg. Diakses pada 13 Desember 2015.

Zeigler, D. R. 1999. *Bacillus genetic stock center of strains, part 2:Bacillus thuringiensis dan Bacillus cereus*. The Ohio State University. USA.

Zettel, C. dan Kaufman, P. 2009. Yellow Fever Mosquito: *Aedes aegypti* (Linnaeus) (Insecta: Diptera: Culicidae). University of Florida IFAS Extension Publication EENY 434.pp:8