



UNIVERSITAS INDONESIA

**PENENTUAN KONSENTRASI LETAL
BACILLUS THURINGIENSIS ISRAELENISIS
TERHADAP *AEDEA AEGYPTI* DI LABORATORIUM PARASITOLOGI
FKUI**

SKRIPSI

**MUHAMMAD FARIS AFIF
0806324204**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
PROGRAM STUDI KEDOKTERAN UMUM
JAKARTA
APRIL 2011**



UNIVERSITAS INDONESIA

**PENENTUAN KONSENTRASI LETAL
BACILLUS THURINGIENSIS ISRAELENIS
TERHADAP *AEDES AEGYPTI* DI LABORATORIUM PARASITOLOGI
FKUI**

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana kedokteran

**MUHAMMAD FARIS AFIF
0806324204**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
PROGRAM STUDI KEDOKTERAN UMUM
JAKARTA
APRIL 2011**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri,
dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk
telah saya nyatakan dengan benar.

Nama : Muhammad Faris Afif
NPM : 0806324204
Tanda tangan : 
Tanggal : 18 April 2011

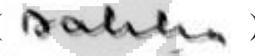
HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh

Nama : Muhammad Faris Afif
NPM : 0806324204
Program Studi : Pendidikan Dokter Umum
Judul Skripsi : Penentuan Konsentrasi Letal *Bacillus thuringiensis israelensis* Terhadap *Ae. aegypti* di Laboratorium Parasitologi FKUI

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar sarjana pada Program Pendidikan Dokter Umum Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.

DEWAN PENGUJI

Pembimbing : Prof. dr. Saleha Sungkar, DAP&E, MS ()

Penguji : Prof. dr. Saleha Sungkar, DAP&E, MS ()

Penguji : Dra. Beti Ernawati Dewi Ph.D ()

Ditetapkan di : Jakarta
Tanggal : 18 April 2011

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT, karena atas berkat dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Penyusunan skripsi ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar sarjana kedokteran pada Program Pendidikan Dokter Umum Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Penulis juga mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada pihak yang telah membantu dan membimbing saya selama penyusunan skripsi ini. Oleh karena itu, saya mengucapkan terima kasih kepada Prof. dr. Saleha Sungkar, DAP&E, MS, yang telah membimbing saya dalam melakukan penelitian ini.. Ucapan terima kasih juga saya sampaikan kepada Dr. dr. Saptawati Bardosono, MSc, sebagai Ketua Modul Riset FKUI yang telah memberikan izin kepada penulis untuk melaksanakan penelitian ini. Akhirnya, penulis mengucapkan penghargaan yang tak terhingga kepada orang tua dan keluarga yang tanpa lelah memberikan dukungan material dan moral. Tanpa mereka, penelitian ini sangatlah sulit dilakukan.

Penulis menyadari bahwa masih terdapat kekurangan dalam penulisan skripsi ini. Penulis berharap semoga skripsi ini membawa manfaat bagi pengembangan ilmu kedokteran dan memberi manfaat kepada masyarakat.

Jakarta, 18 April 2011



Muhammad Faris Afif

HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Muhammad Faris Afif
NPM : 0806324204
Program Studi : Pendidikan Dokter Umum
Fakultas : Kedokteran
Jenis karya : Skripsi

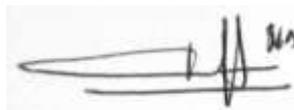
Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia **Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif (*Non-Exclusive Royalty-Free Right*)** atas karya ilmiah saya yang berjudul: ” Penentuan Konsentrasi Letal *Bacillus thuringiensis israelensis* Terhadap *Ae. aegypti* di Laboratorium Parasitologi FKUI” beserta perangkat yang ada (bila diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Jakarta

Pada tanggal : 18 April 2011

Yang menyatakan,



Muhammad Faris Afif

ABSTRAK

Nama : Muhammad Faris Afif
Program Studi : Pendidikan Dokter Umum
Judul : Penentuan Konsentrasi Letal *Bacillus thuringiensis israelensis*
Terhadap *Ae. aegypti* di Laboratorium Parasitologi FKUI

Tujuan penelitian ini adalah menentukan konsentrasi letal Bti terhadap *Ae. aegypti*. Penelitian dilakukan pada bulan Desember 2009 sampai bulan Maret 2010 di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia menggunakan desain eksperimental. Sebanyak 100 larva instar III *Ae. aegypti* yang berasal dari koloni laboratorium dimasukkan ke dalam bak keramik berukuran 60 x 60 x 60 cm³ yang berisi 125 L air. Selanjutnya bak tersebut diberikan larutan suspensi Bti dengan berbagai konsentrasi. Setelah 24 jam dilakukan observasi untuk menghitung jumlah larva yang mati. Sebagai control 100 larva dimasukkan ke dalam bak dengan jenis dan ukuran yang sama namun tidak diberikan Bti. Data dianalisis dengan *probit analysis* untuk mendapatkan LC₅₀ dan LC₉₅. Dari analisis tersebut didapatkan LC₅₀ dan LC₉₅ untuk *Ae. aegypti* adalah 0,98 (0,68-1,24) ml/m² dan 2,76 (2,31-3,57) ml/m². Dengan demikian untuk penggunaan di lapangan akan digunakan konsentrasi tertinggi yaitu 3,57 ml/m². Karena konsentrasi yang tersedia dari pabrik adalah 2,3,4 dan 5 ml/m² maka konsentrasi yang digunakan adalah 4 ml/m². Disimpulkan LC₉₅ Bti terhadap *Ae. aegypti* adalah 3,57 ml/m² dan konsentrasi untuk digunakan di lapangan adalah 4 ml/m².

Kata kunci: *Bacillus thuringiensis israelensis*, *Ae. aegypti*, LC₅₀, LC₉₅

ABSTRACT

Name : Muhammad Faris Afif
Study Program : General Medicine
Title : Lethal Concentration Determination for *Bacillus thuringiensis israelensis* against *Ae. aegypti* in Laboratory of Parasitology, FKUI

The purpose of this study is to determine the lethal concentration of Bti against *Ae. aegypti*. This experimental study was conducted on December 2009 until March 2010 in the Laboratory of Parasitology, Faculty of Medicine, University of Indonesia. The larvae used was 100 third instar larvae taken from the laboratory colony and were introduced in to ceramic *containers* measured 60 x 60 x 60 cm³ filled with 125 L of water. The *containers* were treated with Bti suspension with different concentration and then larval mortalities was recorded 24 hours after the treatment. As control, 100 larvae were introduced in to a *container* with the same type and size, but with no Bti. The data was analyzed with probit analysis to determine the LC₅₀ and LC₉₅. The results showed that LC₅₀ and LC₉₅ for *Ae.aegypti* is 0,98 (0,68-1,24) ml/m² and 2,76 (2,31-3,57) ml/m², thus the application in the field will be using the highest concentration of 3,57 ml/m². Because the concentrations available from the factory are 2,3,4, and 5 ml/m², the concentration used is 4 ml/m². It was concluded that the LC₉₅ of Bti against *Ae.aegypti* is 3,57 ml/m² and the concentration to be used in field is 4 ml/m².

Keywords: *Bacillus thuringiensis israelensis*, *Ae. aegypti*, LC₅₀, LC₉₅

DAFTAR ISI

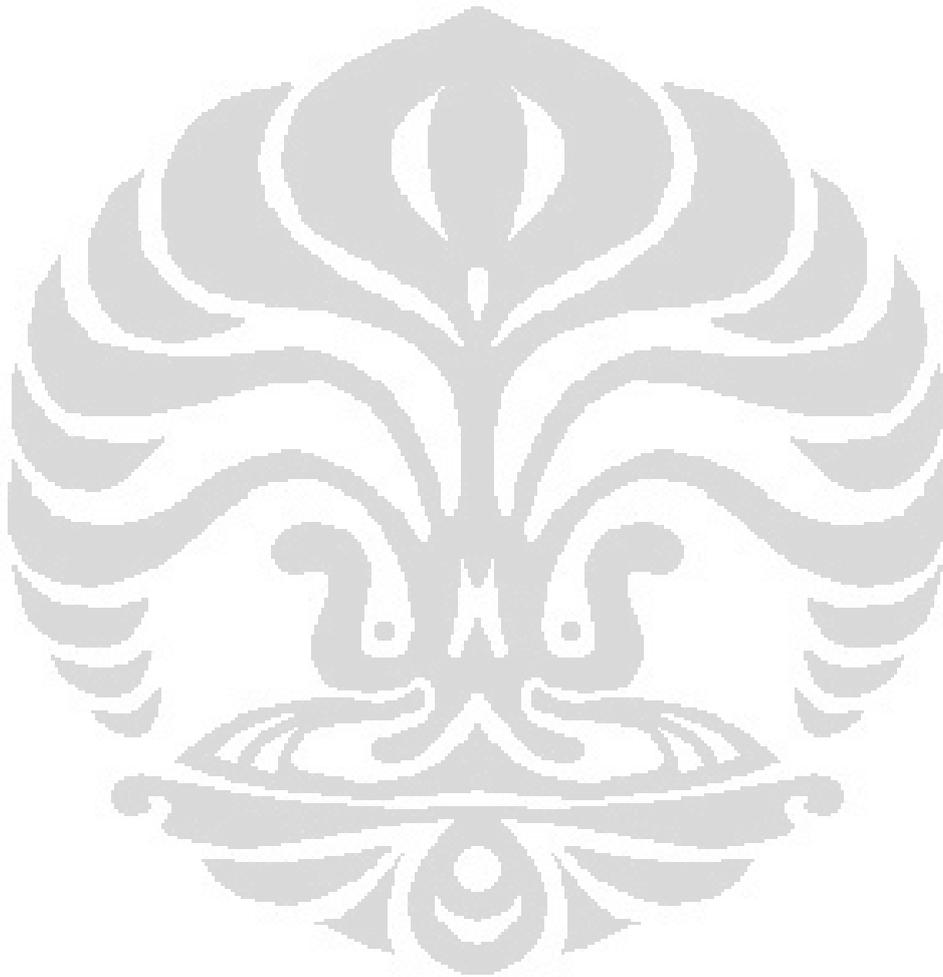
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS	v
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR & TABEL	ix
1. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang Masalah	1
1.2. Rumusan Masalah	2
1.3. Tujuan Penelitian	2
1.4. Manfaat Penelitian	2
2. TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1. Vektor Demam Berdarah Dengue	3
2.1.1. Penyakit Demam Berdarah Dengue	3
2.1.2. Nyamuk <i>Ae. aegypti</i> Dewasa	3
2.1.3. Larva <i>Ae. aegypti</i>	4
2.2. <i>Bacillus thuringiensis</i>	5
2.2.1. Karakteristik Biologis	5
2.2.2. Cara Kerja Terhadap Serangga Target	6
2.2.3. Produk Komersial, Produksi, dan Aplikasi	7
2.3. Kerangka Konsep	9
3. METODE PENELITIAN	10
3.1. Desain Penelitian	10
3.2. Lokasi dan Waktu Penelitian	10
3.3. Populasi dan Sampel Penelitian	10
3.4. Cara Kerja	10
3.5. Identifikasi Variabel	11
3.6. Pengumpulan Data dan Manajemen Penelitian	11
3.7. Batasan Operasional	12
3.8. Kerangka Konsep	12
4. HASIL PENELITIAN	13
5. DISKUSI	15
6. KESIMPULAN DAN SARAN	18
DAFTAR PUSTAKA	19

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Nyamuk <i>Ae. aegypti</i> dewasa	3
Gambar 4.1. Grafik transformasi probit Bti	13

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1. Angka Kematian Larva <i>Ae. aegypti</i> di Berbagai Konsentrasi Bti	12
Tabel 4.2. Hasil analisis probit Bti terhadap larva <i>Ae. aegypti</i>	12



BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Demam Berdarah Dengue (DBD) merupakan penyakit yang disebabkan oleh arbovirus yang paling penting terkait dengan dampaknya terhadap kesehatan masyarakat. DBD disebabkan oleh virus dengue dan ditularkan *Ae. aegypti* sebagai vektor primer dan *Ae. albopictus* sebagai vektor sekunder.¹

DBD merupakan masalah kesehatan masyarakat di Indonesia. Data tahun 2005 menunjukkan Indonesia merupakan negara di Asia Tenggara yang memiliki kasus DBD terbanyak, yaitu 53%, dengan jumlah penderita 95 270 orang dan 1298 meninggal, dengan angka *case fatality rate* (CFR) 1,4%. Sementara, data tahun 2006 menunjukkan Indonesia melaporkan 57% kasus dan hampir 70% kematian akibat DBD di Asia Tenggara. Dilaporkan pula 10 provinsi mengalami kenaikan angka insidens DBD.²

Pemberantasan DBD dengan memberantas vektornya menggunakan insektisida merupakan komponen utama. Bahan kimia yang sering digunakan adalah golongan organofosfat dan pyrethroid.¹ Saat ini pencegahan dan pemberantasan vektor diupayakan untuk lebih memperhatikan lingkungan yang disebut *integrated vector management* (IVM). IVM didesain untuk mengurangi dampak negatif insektisida terhadap lingkungan dan menekankan pentingnya memperhatikan pola transmisi lokal. Hal yang ditekankan dalam IVM ini adalah manajemen lingkungan dan pemberantasan vektor secara biologis.

Salah satu cara pemberantasan vektor secara biologis adalah menggunakan *Bacillus thuringiensis* (Bt), yaitu bakteri gram positif yang membentuk spora. Bt menghasilkan δ -endotoksin, yaitu protein yang bersifat insektisida. Bt efektif pada dosis rendah serta aman bagi manusia dan lingkungan sehingga salah satu strainnya, yaitu *Bt israelensis* telah digunakan untuk memberantas vektor selama lebih dari dua dekade untuk memberantas *Anopheles*.³ Formulasi Bti yang digunakan untuk memberantas *Anopheles* adalah terapung di permukaan air karena *Anopheles* bersifat *surface feeder*.

Saat ini, telah diproduksi Bti yang diformulasikan khusus untuk *Ae.* yaitu mengendap di dasar karena *Aedes* bersifat *bottom feeder*. Formulasi tersebut telah digunakan di beberapa negara antara lain di Kuba dengan kisaran konsentrasi 1-5 ml/m². Karena konsentrasi letal terhadap strain *Ae. aegypti* berbeda antara satu wilayah dengan lainnya, maka perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui konsentrasi letal Bti terhadap *Ae. aegypti* di Indonesia.

1.2 Rumusan Masalah

Berapa konsentrasi letal Bti terhadap *Ae. aegypti*?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Diketuainya konsentrasi letal Bti terhadap *Ae. aegypti*.

1.3.2 Tujuan Khusus

Diketuainya LC₅₀ dan LC₉₅ Bti terhadap *Ae. aegypti*.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Bagi Peneliti

1. Sebagai sarana pelatihan melakukan penelitian di bidang biomedik.
2. Mengembangkan kemampuan berpikir kritis, analitis, dan sistematis dalam mengidentifikasi permasalahan kesehatan masyarakat.
3. Melatih kerja sama tim dalam mewujudkan penelitian ini.

1.4.2 Manfaat Bagi Perguruan Tinggi

1. Mengamalkan Tri Darma Perguruan Tinggi dalam melaksanakan pendidikan, penelitian, dan pengabdian masyarakat.
2. Turut berperan serta dalam rangka mewujudkan visi FKUI 2014
3. Meningkatkan kerjasama antara mahasiswa dan staf pengajar FKUI.

1.4.3 Manfaat Bagi Masyarakat

Apabila nilai LC₅₀ dan LC₉₅ telah didapat, maka dapat dilakukan uji efikasi Bti di lapangan.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

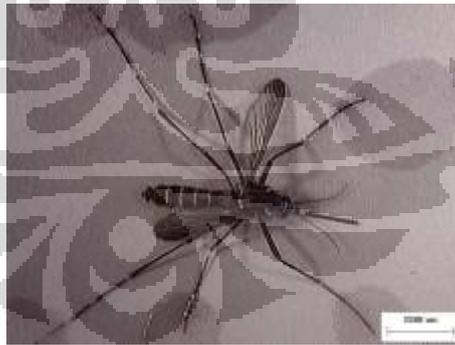
2.1 Vektor Demam Berdarah Dengue

2.1.1 Demam Berdarah Dengue

DBD atau *dengue haemorrhagic fever* (DHF) adalah penyakit virus berbahaya yang dapat menyebabkan penderitanya meninggal dalam waktu beberapa hari. Gejala klinis DBD berupa demam tinggi terus menerus selama 2-7 hari dengan manifestasi perdarahan didahului dengan bintik-bintik merah (*petechiae*) di tubuh penderita. Penderita dapat mengalami sindrom syok dan kemudian meninggal.⁴

2.1.2 *Ae. aegypti* dewasa

Ae. aegypti dewasa memiliki ukuran yang lebih kecil dibandingkan dengan nyamuk rumah (*Culex quinquefasciatus*), dengan warna dasar hitam dengan bintik-bintik putih pada bagian-bagian badannya terutama kakinya. Ciri utama yang khas pada nyamuk ini adalah gambaran lyra (*lyre-form*) yang putih pada punggungnya.



Gambar 2.1. Nyamuk *Ae. aegypti* dewasa⁵

Nyamuk dewasa betina mengisap darah manusia pada siang hari. Pengisapan dilakukan dengan dua puncak waktu, yaitu setelah matahari terbit (pukul 08.00-10.00) dan sebelum matahari terbenam (15.00-17.00). Tempat beristirahat nyamuk ini berupa semak-semak, tanaman rendah, serta benda-benda

yang tergantung dalam rumah seperti pakaian, sarung, dan sebagainya. Umur nyamuk dewasa betina di alam bebas sekitar 10 hari, namun di laboratorium, nyamuk ini dapat bertahan sampai 2 bulan. *Ae.aegypti* dapat terbang hingga sejauh 2 km walaupun umumnya jarak terbangnya hanya mencapai sekitar 40 m. Nyamuk ini tersebar di seluruh Indonesia dan seringkali muncul dan menimbulkan DBD pada musim hujan^{4,6}.

Terdapat berbagai cara pengendalian nyamuk *Ae. aegypti*. Pertama, perlindungan perseorangan untuk mencegah gigitan nyamuk dengan memasang kawat kasa pada lubang-lubang ventilasi, tidur dengan kelambu, penyemprotan dinding rumah dengan insektisida, atau penggunaan pengusir nyamuk saat berkebon. Kedua, mengubur benda-benda di pekarangan atau di sekitar rumah yang dapat menampung air hujan yang dapat menjadi tempat perindukan nyamuk. Ketiga, mengganti air dan membersihkan tempat-tempat air secara teratur seminggu sekali. Keempat, pemberian temefos ke dalam tempat penampungan air. Kelima, melakukan pengasapan dengan malathion setidaknya 2 kali dalam jarak waktu 10 hari pada daerah yang terkena wabah di daerah endemis DHF. Keenam, penyuluhan kepada masyarakat mengenai kebersihan lingkungan dan cara pemusnahan tempat-tempat perindukan nyamuk *Ae. aegypti*.⁴

2.1.3 Larva *Ae. aegypti*

2.1.3.1 Morfologi Larva

Larva *Ae. aegypti* memiliki tiga bagian, yaitu kepala, toraks, dan abdomen. Bagian kepala memiliki sepasang antena tunggal sepanjang 1/3 panjang kepala berbentuk silindris halus dan bulu kepala. Bagian toraks terutama protoraks memiliki bulu-bulu mulai dari bulu pertama hingga ketujuh. Bagian abdomen memiliki bulu-bulu dan sejumlah sisir, serta terdapat pula sifon untuk mengambil oksigen dan segmen anal yang memiliki sirip anal, pelana, serta sikat dan rambut yang menempel pada segmen anal tersebut. Larva menempatkan sifonnya tegak lurus dengan permukaan air saat akan mengambil oksigen dari udara.⁷

2.1.3.2 Perilaku Larva

Larva *Ae. aegypti* berada di tempat-tempat dengan air bersih dan jernih yang umumnya terlindung dari sinar matahari langsung. Tempat-tempat perindukan yang disukai adalah wadah seperti tempayan, gentong, dan bak mandi, atau barang-barang bekas yang dapat menampung air seperti ban mobil bekas, drum kosong, botol pecah, atau akuarium. *Ae. aegypti* juga dapat berkembang biak di wadah alamiah seperti pada tanaman yang memiliki pelepah atau tunggul-tunggul bambu.⁷

Larva *Ae. aegypti* aktif bergerak dalam air dan mudah terpengaruh bila ada gerakan air pada tempat tinggalnya. Bila permukaan air terpengaruhi oleh gerakan, maka larva akan bereaksi dengan berputar kemudian bergerak turun ke dasar tempat tinggalnya. Bila bagian dasar yang terganggu, maka larva akan diam sesaat kemudian bergerak menuju permukaan air. Larva nyamuk ini juga bersifat *bottom feeder*, yaitu lebih aktif mengambil makanan di dasar tempat perindukan walaupun terkadang mengambil makanan yang melayang atau terdapat di permukaan air. Saat sedang tidak makan atau beristirahat, larva akan beristirahat di permukaan air dengan membentuk sudut.⁷

2.1.3.3 Pergantian Kulit

Sebelum larva menjadi pupa, larva mengalami empat kali pergantian kulit (ekdisis). Perkembangan lengkap larva mulai dari instar I sampai instar IV membutuhkan waktu selama 4 hari. Perbedaan tahap instar larva dilihat dari ukuran kepalanya. Setelah tahap instar IV, larva akan menjadi pupa, kemudian setelah 1 sampai 2 hari larva akan berubah menjadi nyamuk dewasa. Lama waktu yang dibutuhkan oleh nyamuk *Ae. aegypti* mulai dari telur hingga menjadi nyamuk dewasa kurang lebih 7-8 hari.⁷

2.2 *Bacillus Thuringiensis*

2.2.1 Karakteristik Biologis

Bacillus thuringiensis (Bt) merupakan suatu bakteri gram positif yang bersifat anaerob fakultatif. Bakteri ini dapat membentuk suatu protein inklusi yang serupa dengan endospora yang disebut juga inklusi paraspora. Bt memiliki

karakteristik genetik yang sama dengan *Bacillus cereus* (Bc), namun perbedaan kedua bakteri ini terletak pada kemampuan Bt untuk menghasilkan inklusi paraspora tersebut, yang bagi invertebrata tertentu, utamanya larva dari ordo *Coleoptera*, *Diptera*, dan *Lepidoptera* bersifat toksik. Inklusi paraspora yang dihasilkan oleh Bt dibentuk oleh *insecticidal crystal protein* (ICP) yang mempunyai beragam bentuk, mulai dari bipiramida, kuboid, rhomboid, sferis, atau bentuk gabungan dari dua tipe.³ Inklusi paraspora yang dimiliki Bt terbagi dua, yaitu Cry protein yang berbentuk kristal dan protein Cyt yang memiliki aktivitas sitotoksik.⁸ Toksin di dalam inklusi paraspora ini akan mengalami degranulasi dalam kondisi alkali di saluran cerna larva nyamuk.⁹

Tingkat taksonomi paling dasar dari Bt adalah subspecies, dimana sampai tahun 1998 telah ditemukan sebanyak 67 subspecies. Subspecies tersebut dibedakan dari serotipe dari flagella Bt. ICP pada Bt dikode oleh gen yang berada pada plasmid yang dapat dipindahkan lewat konjugasi antar strain Bt atau bakteri dari spesies lain yang berdekatan. Klasifikasi Bt menurut fenotipnya saat ini telah disertai oleh karakterisasi biomolekular, lebih cenderung berdasarkan sekuens gen pengkode ICP dibandingkan dengan spesifisitas organismenya. Kerentanan hospes (pengenalan ICP terhadap reseptor) dan sifat toksisitas Bt terkait erat dengan domain-domain yang berbeda dari gen pengkode ICP.³

Di antara subspecies Bt, terdapat beberapa subspecies yang dapat menghasilkan suatu nukleotida yang bersifat termotabil selama fase pertumbuhan vegetatif dan dapat mengontaminasi ICP dari Bt, yang dinamakan β -eksotoksin, yang bersifat toksik baik terhadap serangga target ataupun manusia. Di samping itu, selama fase pertumbuhan vegetatif juga, strain Bt dapat menghasilkan toksin Bc, yang dapat merugikan baik organisme target ataupun nontarget. Jumlah spora yang dihasilkan oleh Bt tidak berkorelasi dengan aktivitas insektisida Bt secara akurat. Oleh karena itu, potensi tiap produk Bt diuji dengan standar internasional memakai serangga uji spesifik.³

2.2.2 Cara Kerja Terhadap Serangga Target

Bt sebagai insektisida bekerja di dalam tubuh larva serangga, sehingga Bt yang tersporulasi dan memiliki ICP atau kompleks spora-ICP itu sendiri harus

dimakan oleh larva serangga untuk bisa bekerja. Efikasi dari ICP Bt bergantung dari tahap-tahap kerjanya. Pada toksin Cry protein, ICP yang dimakan oleh larva serangga akan melarut di dalam usus serangga, kemudian mengalami konversi menjadi toksin yang aktif secara biologis oleh enzim proteolitik, lalu berikatan dengan reseptor membran spesifik lewat domain C-terminal untuk kemudian membentuk pori oleh domain N-terminal yang dilanjutkan dengan lisis sel epitel, mengakibatkan perforasi dinding usus larva serangga target. Sementara Cyt protein bekerja dengan membentuk pori di membran lipid dan lewat interaksi seperti deterjen.⁸ Proliferasi dari sel vegetatif menjadi hemosol setelah terjadinya perforasi dapat mengakibatkan septisemia yang dapat berkontribusi untuk membunuh larva. Spesifisitas hospes terhadap ICP yang berbeda-beda dari Bt utamanya ditentukan oleh ikatan antara reseptor dengan ICP.

Terdapat serangga dari berbagai spesies yang menunjukkan resistensi terhadap Bt. Spesies-spesies tersebut yaitu *Ploida interpunctella*, *Cadra cautella*, *Leptinotarsa decemlineata*, *Chrysomela scripta*, *Trichoplusia ni*, *Spodoptera littoralis*, *Spodoptera exigua*, *Heliothis virescens*, *Ostrinia nubialis*, dan *Culex quinquefasciatus*. Resistensi serangga itu ditujukan terhadap Bti, Btk, Btte, dan beberapa subspecies lainnya.³

Beragam subspecies Bt dapat ditemukan dari tanah, daun, atau serangga yang mati, terutama serangga yang rentan terhadap Bt seperti dari ordo *Coleoptera*, *Diptera*, dan *Lepidoptera*. Subspecies Bt yang memiliki habitat di tanah dan permukaan daun aktif terhadap ordo *Coleoptera* dan *Lepidoptera*, sementara subspecies Bt yang aktif terhadap *Diptera* berhabitat di lingkungan akuatik. Spora Bt dapat bertahan lama di lingkungan sampai keadaan dan nutrisi memungkinkan untuk memulai pertumbuhan vegetatif.³

2.2.3 Produk Komersial, Produksi, dan Aplikasi

Lebih dari 90% dari *Microbial Pest Control Agents* (MPCA) dunia dikuasai produk Bt konvensional dari strain Bt alami. Produk itu mengandung spora aktif dan kristal protein yang masih bertahan, namun, terdapat pula produk yang menggunakan spora inaktif. Produk Bt diproduksi menggunakan teknologi fermentasi aerob, dengan produksi sekitar 13.000 ton per tahun. Produk Bt

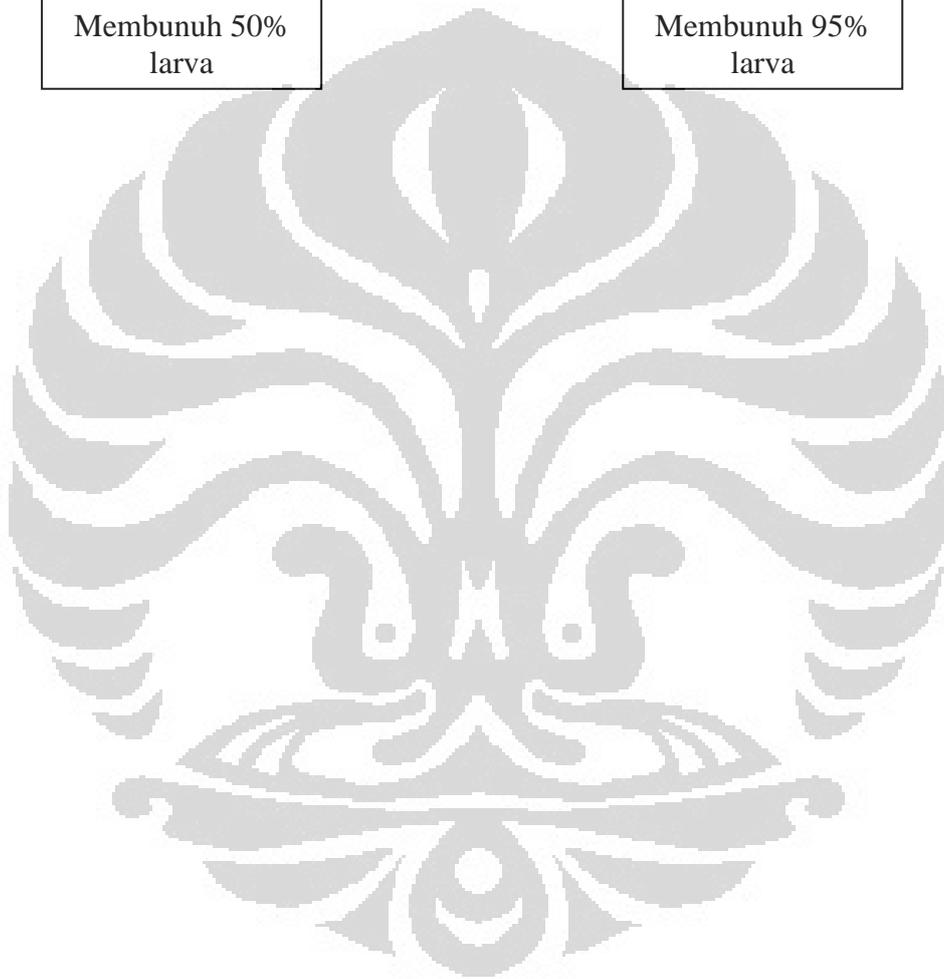
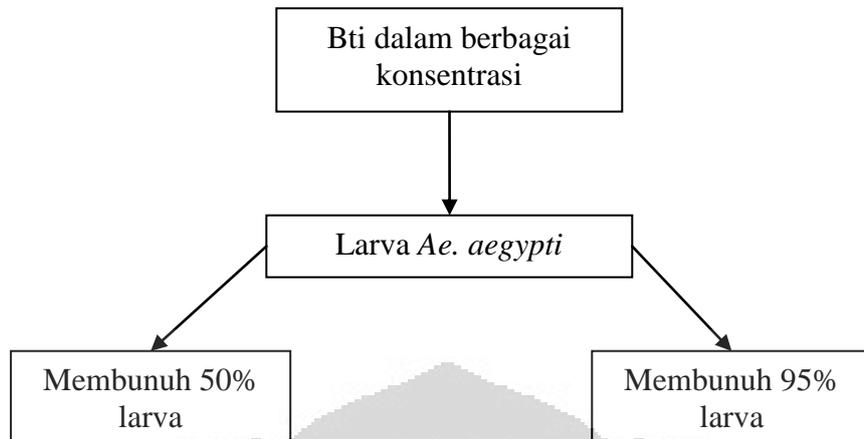
konvensional utamanya ditargetkan untuk mengendalikan serangga ordo *Lepidoptera* yang menyerang tanaman agrikultur dan tanaman perhutanan, walaupun strain Bt yang aktif terhadap *Coleoptera* juga mulai digunakan. Produk Bt dari strain Bt yang aktif terhadap *Diptera* yang berperan sebagai vektor juga telah digunakan pada berbagai program kesehatan masyarakat.³

Produk Bt komersial dapat diaplikasikan di mana saja, pada dedaunan, tanah, lingkungan air, atau tempat penyimpanan makanan. Sel vegetatif dan spora Bt yang telah diaplikasikan di lingkungan dapat bertahan beberapa bulan sampai tahun dengan konsentrasi yang semakin berkurang secara bertahap. ICP Bti akan terinaktivasi secara biologis dalam kurun waktu beberapa jam atau beberapa hari.³

Bt secara spesifik hanya menyerang larva serangga target dan tidak membunuh musuh alami larva nyamuk target. Formulasi Bti akan berada di dasar *container* air segera setelah aplikasi dan membutuhkan reaplikasi yang sering. Toksin dari Bt juga bersifat fotolabil dan dapat rusak oleh sinar matahari.⁹

Aplikasi produk Bt pada agrikultur dapat mengontaminasi makanan maupun air, namun sejauh ini tidak ada laporan berupa adanya efek negatif yang dilaporkan pekerja agrikultur yang terpajan produk Bt selain iritasi pada mata dan kulit. Tidak ditemukan pula dampak negatif yang terjadi pada sukarelawan yang bersedia memakan dan menghirup produk Bt dalam jumlah besar. Sejumlah titer antibodi terhadap ICP, spora, dan sel vegetatif Bt ditemukan pada pekerja yang menyemprotkan produk Bt, namun tidak ada laporan mengenai efeknya terhadap kesehatan. Dari berbagai studi yang dilakukan, tidak ada yang menunjukkan adanya risiko produk Bt terhadap kesehatan manusia. Belum ada laporan yang menyatakan bahwa produk Bt pada makanan dan air dapat mengganggu kesehatan manusia. ICP terlarut alkali dari Bti dapat bersifat sitolitik terhadap eritrosit manusia, fibroblas tikus, dan limfosit primer babi *in vitro*.³

2.3 Kerangka Konsep



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan penelitian eksperimental.

3.2 Lokasi dan Waktu Penelitian

Eksperimen ini dilakukan pada bulan Desember 2009 sampai dengan bulan Maret 2010, di Laboratorium Parasitologi FKUI.

3.3 Populasi dan Sampel Penelitian

3.3.1 Populasi Target

Populasi pada penelitian ini adalah larva *Ae. aegypti*.

3.3.2 Populasi Terjangkau

Populasi terjangkau pada penelitian ini adalah larva *Ae. aegypti* yang berasal dari koloni laboratorium Parasitologi FKUI.

3.3.3 Objek Penelitian

Objek penelitian ini ialah semua larva *Ae. aegypti* Instar III yang dipelihara di Laboratorium Parasitologi FKUI.

3.4 Cara Kerja

3.4.1 Pemeliharaan *Ae. aegypti*

Larva *Ae. aegypti* dipelihara di dalam baskom berukuran 24 x 53 x 6 cm³ berisi air sumur. Larva diberi makan *rabbit chow*. Bila larva telah berubah menjadi pupa, pupa dikumpulkan dalam mangkuk berisi air yang diletakkan di dalam kurungan nyamuk berukuran 25 x 25 x 25 cm³. Setelah pupa menjadi nyamuk dewasa, nyamuk diberi makan air gula 10% yang dicampur dengan vitamin B kompleks 1%. Nyamuk betina yang sudah berumur 5 hari diberi makan darah mencit. Ke dalam kurungan nyamuk juga dimasukkan mangkuk berisi air dan kertas saring sebagai tempat perletakan telur. Telur yang terkumpul di kertas saring kemudian dikering-anginkan selama seminggu kemudian ditetaskan dan

larva yang menetas dipindahkan ke dalam baskom berisi air. Bila larva telah mencapai instar III, larva siap untuk diuji.

3.4.2 Penentuan LC₅₀ dan LC₉₅

Penelitian ini menggunakan *container* berupa bak berbahan beton yang bagian dalamnya dilapisi keramik berwarna putih. Ukuran bak adalah 60 x 60 x 60 cm³ yang diisi air sumur dengan volume 125 liter. Sebelum dipakai, bak diisi air sampai penuh lalu diganti setiap 3 hari selama 1 bulan untuk menghilangkan bau semen. Setelah siap pakai, *container* diisi air sumur sebanyak 125 liter, kemudian dibubuhi Bti dengan 6 konsentrasi berbeda untuk mendapatkan LC₅₀ dan LC₉₅. Selanjutnya, ke dalam bak tersebut dimasukkan 4 x 25 ekor larva *Ae. aegypti* instar III. Larva tersebut dibiarkan selama 24 jam, kemudian dihitung angka kematiannya kemudian dianalisis dengan *probability unit (probit analysis)*.

3.5 Identifikasi Variabel

Variabel bebas adalah konsentrasi Bti sedangkan variabel tergantung adalah angka kematian larva

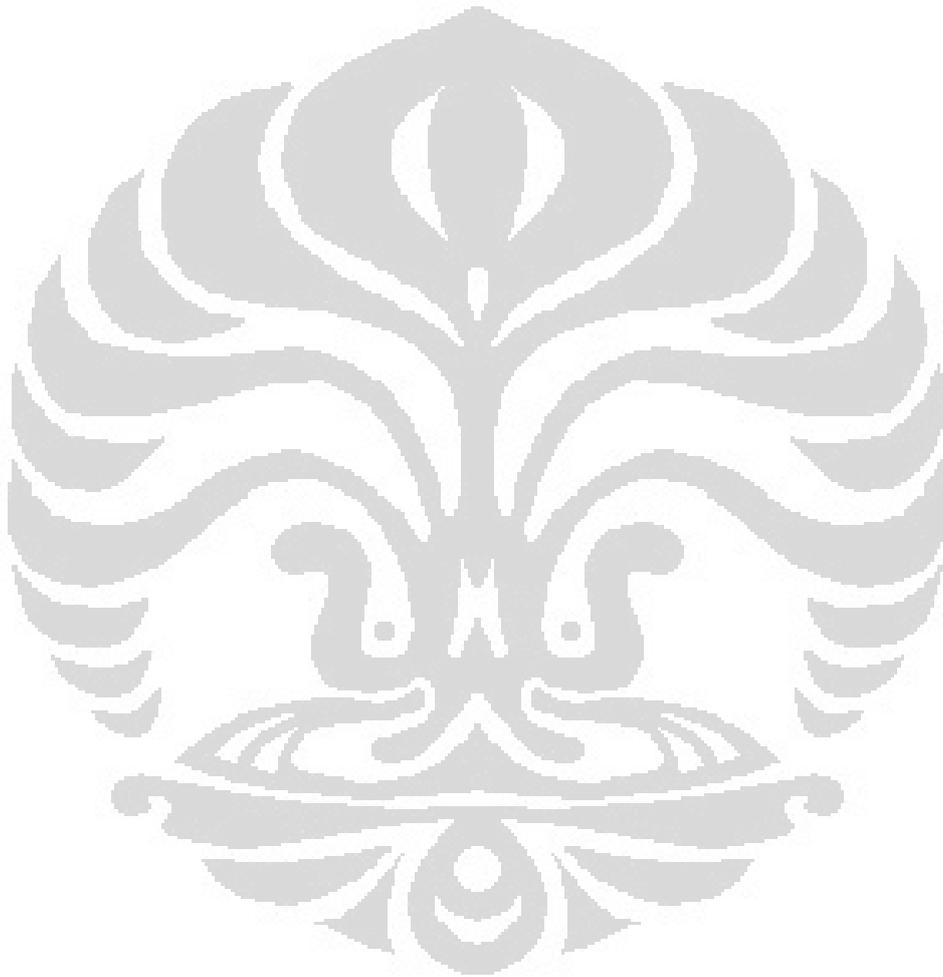
3.6 Pengumpulan Data dan Manajemen Penelitian

Jumlah larva yang mati dihitung secara manual lalu data dimasukkan ke dalam *master table* yang dibagi berdasarkan variabel kemudian dianalisis dengan analisis probit menggunakan program SPSS 13.0. Hasil analisis probit menunjukkan estimasi konsentrasi letal Bti.

Pengolahan data dilakukan dengan *editing, coding*, entri data, dan perekaman data dengan program SPSS 13.0. Kemudian dilakukan verifikasi data. Penentuan konsentrasi letal dilakukan dengan metode analisis probit yang merupakan metode analisis data untuk mendapatkan nilai toksisitas atau daya bunuh dari suatu antihama terhadap hewan uji. Analisis probit pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan program regresi pada SPSS 13.0 karena adanya hubungan variabel bebas (X) dan variabel terikat (Y). Hubungan tersebut digambarkan dalam persamaan $Y = A + BX$ (Keterangan: Y=angka kematian; X=variasi konsentrasi Bti; A=bilangan konstan; B= koefisien prediktor)

3.7 Batasan Operasional

1. Bti adalah spora *Bacillus thuringiensis israelensis* yang digunakan sebagai larvasida.
2. LC₅₀ adalah konsentrasi toksin yang dibutuhkan untuk membunuh 50% dari seluruh hama target pada suatu tempat.
3. LC₉₅ adalah konsentrasi toksin yang dibutuhkan untuk membunuh 95% dari seluruh hama target pada suatu tempat.



BAB IV
HASIL PENELITIAN

Hasil uji laboratorium terhadap 100 ekor larva *Ae.aegypti* dengan berbagai konsentrasi yang telah dilakukan menghasilkan data seperti yang ditunjukkan pada Tabel 4.1. Semakin tinggi konsentrasi Bti yang diberikan, semakin banyak larva nyamuk yang mati.

Tabel 4.1 Angka Kematian Larva *Ae. aegypti* di Berbagai Konsentrasi Bti

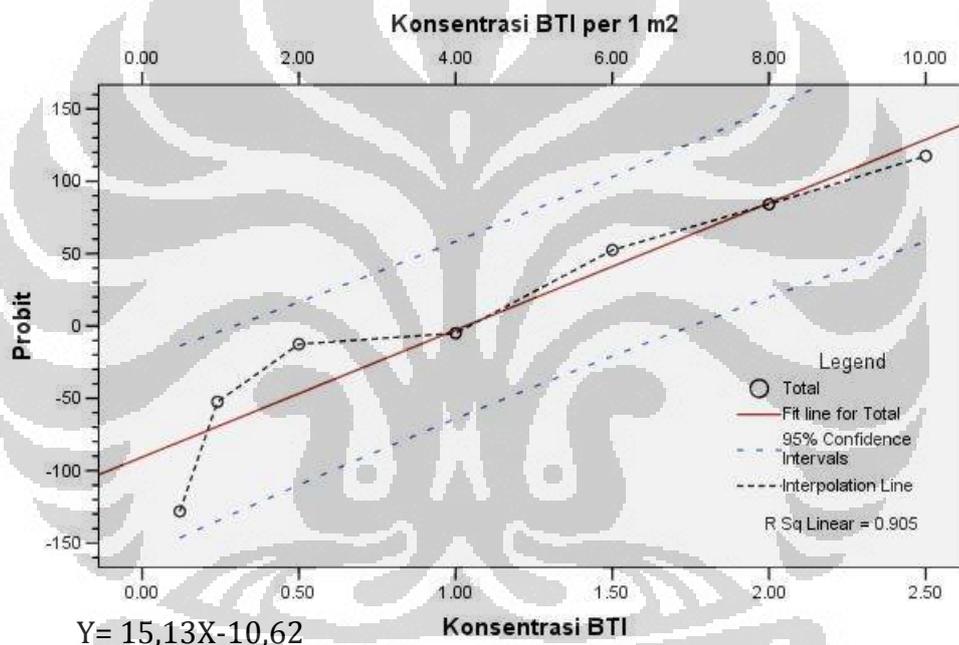
Jumlah larva (n)	Konsentrasi (ml/m ²)	Kematian larva setelah 24 jam (n)	
		Bti	Kontrol
100	0,12	10	0
100	0,24	30	0
100	0,50	45	0
100	1,00	48	0
100	1,50	70	0
100	2,00	80	0
100	2,50	88	0
100	3,00	100	0

Tabel 4.2. Hasil Analisis Probit Bti Terhadap *Ae. aegypti*

LC	Lower		Upper
	Estimate	Bound	Bound
0.50	0,98	0,68	1,24
0.95	2,76	2,31	3,57
0.96	2,88	2,40	3,73
0.97	3,02	2,51	3,93
0.98	3,21	2,66	4,20
0.99	3,50	2,89	4,62

Tabel 4.2 menunjukkan LC_{50} dan LC_{95} untuk *Ae. aegypti* adalah 0,98 ml/m^2 dan 2,76 ml/m^2 dengan slope \pm (SE) yaitu $15,13 \pm (0,06)$. LC_{95} tersebut menunjukkan bahwa 2,76 ml/m^2 Bti dapat membunuh 95% dari 100 larva di dalam *container*.

Pada penggunaan lapangan, efektivitas insektisida akan berkurang 20% oleh karena itu untuk penggunaan di lapangan, konsentrasi yang digunakan adalah konsentrasi maksimum yang diperoleh dari probit analisis yaitu 3,57 ml/m^2 . Karena konsentrasi yang tersedia dari pabrik adalah 1,2,3,4 dan 5 ml/m^2 maka untuk penggunaan di lapangan akan digunakan konsentrasi 4 ml/m^2 .



Grafik 4.1. Grafik transformasi probit Bti

Pada grafik 4.1 terlihat bahwa koefisien determinasi (R^2) selama pengamatan 24 jam sebesar 0,905 yang berarti kontribusi konsentrasi Bti dalam membunuh larva *Ae.aegypti* adalah 90,5 % sedangkan faktor lainnya berkontribusi terhadap kematian larva sebesar 9,5 %.

BAB V

DISKUSI

Bti merupakan larvasida pemberantas nyamuk yang sejak tahun 1982 telah digunakan di banyak negara. Bti menghasilkan kristal protein yang bersifat toksik untuk larva nyamuk dan lalat hitam tetapi aman bagi manusia. Oleh karena toksin Bti merupakan racun yang bekerja di saluran pencernaan, maka Bti diproduksi dengan rasa yang disukai larva agar dapat dimakan. Toksin Bti di saluran cerna larva akan teraktivasi dalam suasana basa, mengganggu penyerapan dan keseimbangan gradien ion serta menimbulkan perforasi saluran cerna. Bti juga dapat masuk ke dalam cairan hemolimfe larva yang menyebabkan bakteremia dan kematian larva.

Hasil penelitian ini menunjukkan LC_{50} untuk *Ae. aegypti* adalah 0,98 ml/m². Dari penelitian Lopes et al¹⁰ dan Fansiri et al¹ didapatkan bahwa dibandingkan dengan nyamuk lain seperti *Ae. albopictus* dan *Culex quinquefasciatus*, *Ae. aegypti* membutuhkan konsentrasi Bti yang lebih tinggi untuk mencapai daya bunuh yang sama.

Dari hasil pengamatan selama 24 jam selain didapatkan konsentrasi letal, didapatkan pula koefisien determinasi sebesar 0,905, yang menandakan adanya faktor lain yang mempengaruhi daya bunuh Bti selain konsentrasi Bti sebesar 0,095, atau 9,5%. Faktor lain yang mempengaruhi daya bunuh Bti terhadap larva adalah, kekeruhan air, mikroorganisme, vegetasi, jenis *container*, dan formulasi Bti.

Penelitian Amalraj et al¹¹ yang menggunakan suspensi cair Bti menunjukkan efektivitas formulasi tersebut terhadap *Cx. quinquefasciatus* ($LC_{50}=0,046$ mg/L) lebih baik dibandingkan terhadap *Ae. aegypti* ($LC_{50}=0,060$ mg/L) dan efektivitas terhadap *Ae. aegypti* lebih baik dibandingkan *Anopheles stephensi* ($LC_{50}=0,19$ mg/L). Salah satu penyebab perbedaan efektivitas tersebut adalah diversitas toksin yang dihasilkan oleh Bti yang pada golongan Culicidae memiliki aktivitas lebih tinggi terhadap genus *Culex* dan *Aedes* dibandingkan *Anopheles*.¹²

Faktor lain yang mempengaruhi efektivitas Bti adalah pola makan larva nyamuk dan tahap perkembangan larva. *Ae. aegypti* merupakan *bottom feeder* sehingga *Ae. aegypti* akan lebih mudah mengonsumsi Bti yang terdapat di dasar *container*.^{13,14} Larva muda lebih sensitif terhadap Bti dibanding larva pada tahap yang lebih tua karena larva muda lebih aktif makan dibanding larva yang berusia tua. Pupa adalah stadium yang tidak makan sehingga tidak dapat dibunuh dengan Bti.^{13,15}

Faktor air yang mempengaruhi efektivitas Bti terhadap larva nyamuk adalah kepadatan larva di dalam air, adanya organisme lain, kecepatan aliran air, kualitas air, suhu air, dan pajanan sinar UV.^{13,14,16} Semakin padat jumlah larva di dalam *container* air, semakin banyak Bti yang dibutuhkan untuk memberi efek yang sama. Organisme lain di permukaan yang dapat makan Bti akan mengurangi efektivitas Bti. Apabila di permukaan air terdapat organisme seperti tumbuhan yang mengapung, penetrasi Bti ke dalam air akan sulit dan mengurangi jumlah Bti dalam air. Apabila Bti diaplikasikan di air yang memiliki aliran air deras, efektivitas Bti akan berkurang karena partikel Bti akan terlarut dan terbawa aliran air.

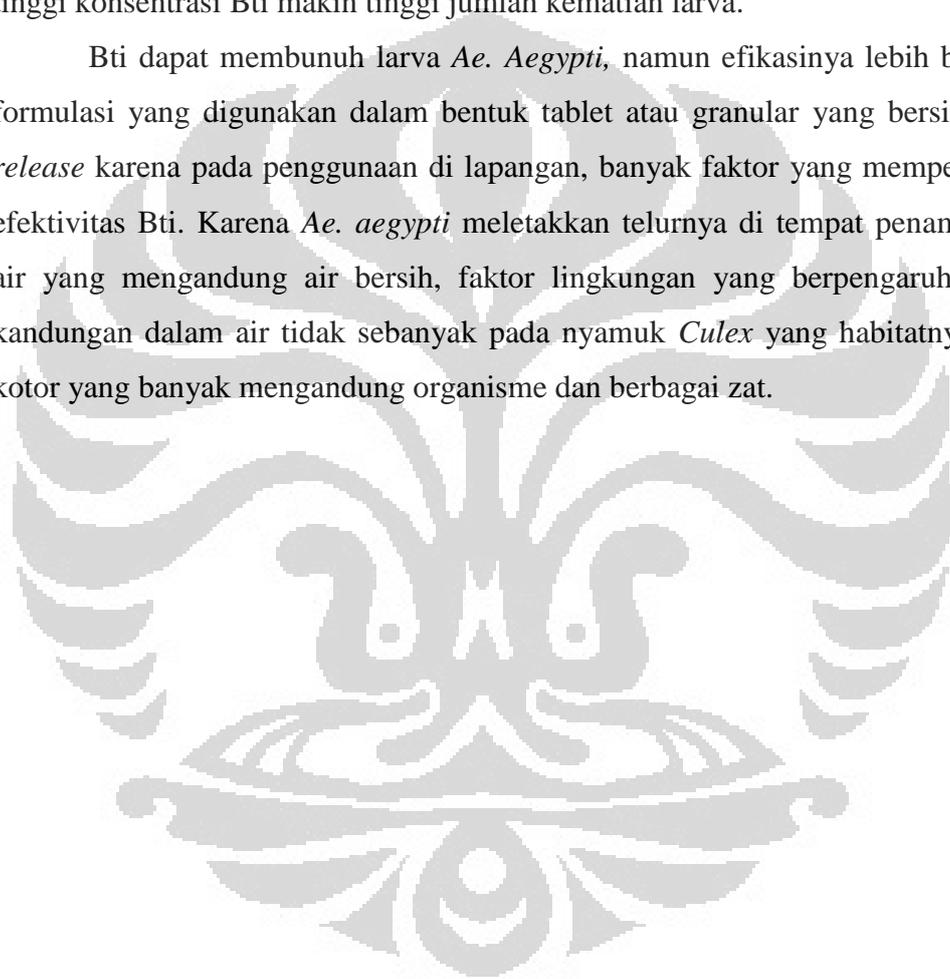
Kualitas air yang mengandung zat-zat tertentu seperti klorin yang bersifat bakterisida dan tanah liat yang mengadsorpsi Bti dapat menurunkan efektivitas Bti dengan menurunkan jumlah Bti yang dapat termakan larva. Suhu air mempengaruhi aktivitas larva; pada suhu di bawah 19⁰C larva akan inaktif, kebiasaan makan menurun, sehingga kurang mengonsumsi Bti. Akibatnya, efektivitas Bti pada suhu di bawah 19⁰C menurun drastis dan meningkat pada suhu di atas 33⁰C. Sinar UV dapat merusak toksin Bti, sehingga Bti akan lebih efektif di *container* yang tidak disinari matahari.

Efikasi Bti terhadap larva juga bergantung pada tipe formulasi Bti dan cara makan larva tersebut. Mittal¹⁷ mengungkapkan, suspensi cair atau formulasi berbentuk cairan memiliki efek yang lebih baik terhadap *Culex*, sementara formulasi Bti dalam bentuk serbuk atau formulasi yang ditebar pada permukaan lebih aktif terhadap spesies *Anopheles* yang makan di permukaan air, dan formulasi granular dan tablet lebih efektif terhadap *Ae. aegypti*. Sifat *Ae. aegypti* yang lebih rentan terhadap tablet dan formulasi granular ini disebabkan oleh sifat

larva *Ae. aegypti* yang merupakan *bottom feeder*. Penggunaan formulasi Bti dalam bentuk cairan pada penelitian ini merupakan salah satu penyebab dibutuhkannya konsentrasi yang besar untuk LC₅₀.

Dalam penelitian ini, didapatkan kemiringan grafik transformasi probit sebesar 15,13. Kemiringan tersebut menggambarkan hubungan antara konsentrasi toksin dengan jumlah larva nyamuk yang dibunuh. Semakin besar angka kemiringan grafik, semakin curam kemiringan grafik yang menggambarkan makin tinggi konsentrasi Bti makin tinggi jumlah kematian larva.

Bti dapat membunuh larva *Ae. Aegypti*, namun efikasinya lebih baik bila formulasi yang digunakan dalam bentuk tablet atau granular yang bersifat *slow release* karena pada penggunaan di lapangan, banyak faktor yang mempengaruhi efektivitas Bti. Karena *Ae. aegypti* meletakkan telurnya di tempat penampungan air yang mengandung air bersih, faktor lingkungan yang berpengaruh seperti kandungan dalam air tidak sebanyak pada nyamuk *Culex* yang habitatnya di air kotor yang banyak mengandung organisme dan berbagai zat.



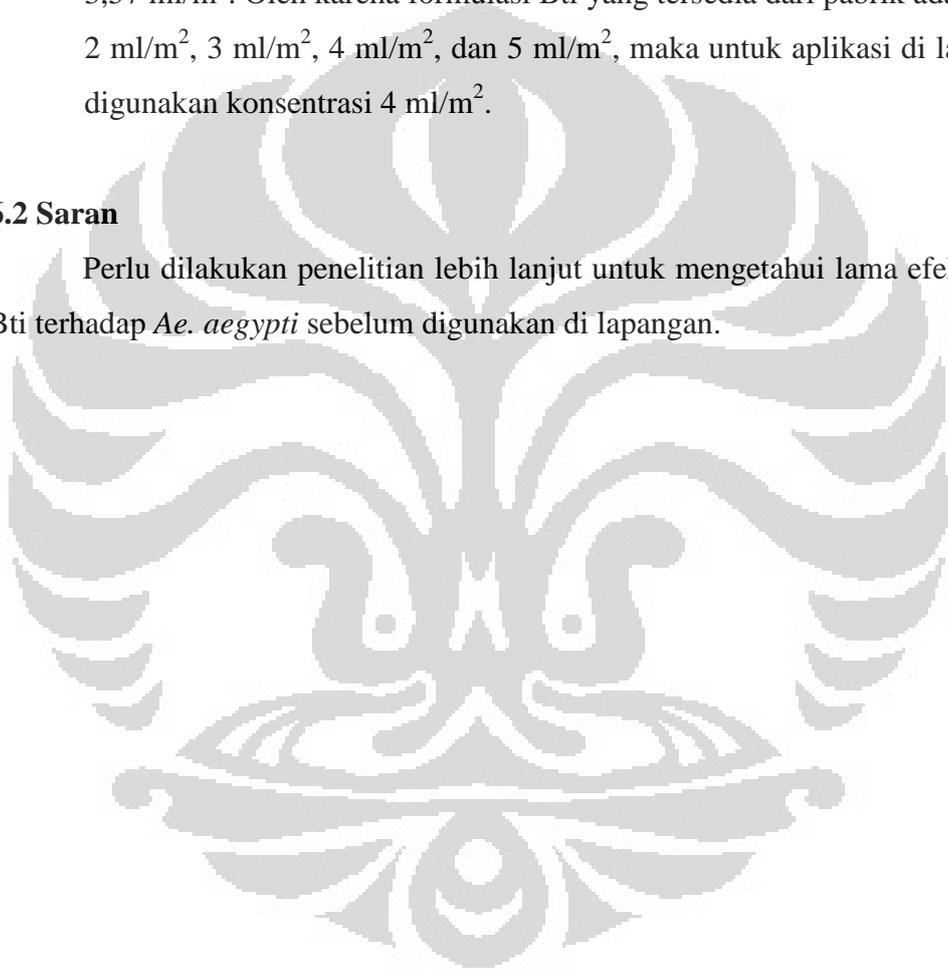
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

1. Nilai estimasi untuk LC₅₀ dan LC₉₅ Bti dalam membunuh larva *Ae. aegypti* adalah 0,98 ml/m² dan 2,76 ml/m².
2. LC₉₅ untuk aplikasi Bti di lapangan adalah konsentrasi batas atas, yaitu 3,57 ml/m². Oleh karena formulasi Bti yang tersedia dari pabrik adalah 2 ml/m², 3 ml/m², 4 ml/m², dan 5 ml/m², maka untuk aplikasi di lapangan digunakan konsentrasi 4 ml/m².

6.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui lama efek residu Bti terhadap *Ae. aegypti* sebelum digunakan di lapangan.



DAFTAR PUSTAKA

1. Fansiri T, Thavara U, Tawatsin A, Krasaesub S, Sithiprasasna R. Laboratory and semi-field evaluation of mosquito dunks® against *Ae. aegypti* and *Ae. albopictus* larvae. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 2006; 37(1): 62-6.
2. World Health Organization. *Dengue Trend in Indonesia*. WHO; 2007.
3. World Health Organization. *Microbial pest control agent: Bacillus thuringiensis*. Geneva: WHO; 1999. p. 1-5.
4. Djakaria S. Vektor penyakit virus. Dalam: Sutanto I, Sungkar S, editor. *Parasitologi kedokteran*. Edisi Keempat. Jakarta: Balai Penerbit FKUI; 2004. p. 236-8.
5. Malar M, Sivanathan P. The ecology and biology of *Ae. aegypti* (L.) and *Ae. albopictus* and the resistance status of *Ae. albopictus* (field strain) against organophosphates in Penang, Malaysia. Malaysia: 2006.
6. Kristina, Isminah, Wulandari L. *DBD*. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan; 2004.
7. Zulhasril. Efikasi metabolit *Bacillus thuringiensis* varietas *israelensis* serotipe H-14 berspora dan serotipe H-14 tidak berspora terhadap larva *Ae. Aegypti* [tesis]. Jakarta: Universitas Indonesia; 1995.
8. Bravo A, Gill SS, Soberon M. Mode of action of *Bacillus thuringiensis* Cry and Cyt toxins and their potential for insect control. *Toxicon*. 2007;49(4):423-35.
9. World Health Organization. *Dengue haemorrhagic fever: diagnosis, treatment, prevention, and control*. Second Edition. Geneva: WHO; 2007.
10. Lopes J, Arantes OMN, Cenci MA. Evaluation of a new formulation of *Bacillus thuringiensis israelensis*. *Braz J Biol*. 2010;70(4):1109-13.
11. Amalraj DD, Sahu SS, Jambulingam P, Boopathi DPS, Kalyanasundaram M, Das PK. Efficacy of aqueous suspension and granular formulations of *Bacillus thuringiensis* (vectobac) against mosquito vectors. *Acta Tropica*. 2000;75(2):243-6.

12. Charles JF, LeRoux CN. Mosquitocidal bacterial toxins: diversity, mode of action and resistance phenomena. *SciELO*. 2000; 95(1):201-6.
13. Glare TR, O'Callaghan M. Environmental and health impacts of *Bacillus thuringiensis israelensis*. Report for The Ministry of Health. Lincoln:1998.
14. Boisvert M. Utilization of *Bacillus thuringiensis* based formulations for the biological control of mosquitos. Dalam: Cote JC, Otvoz IS, Schwartz JL, ed. Proceedings of 6th Pacific Rim Conference on the biotechnology of *Bacillus thuringiensis* and its environmental impact. Victoria: 2005.
15. Tyrell DJ, Davidson LI, Bulla LE, Ramoska WA. Toxicity of parasporal crystals of *Bacillus thuringiensis* to mosquitos. *Appl Environ Microbiol*. 1979;38: 656-8.
16. WHO. *Bacillus thuringiensis* in drinking water. Background document for development of WHO guidelines for drinking water. Geneve: 2009.
17. Mittal PK. Biolarvicides in vector control: challenges and prospects. *J Vect Borne Dis*. 2003;40:20–32.
18. Becker N. The use of *Bacillus thuringiensis* subsp. *Israelensis* against mosquitoes, with special emphasis on the ecological impact. *Israel Journal of Entomology*. 1998;XXXH:63-9.