

LAMA PENYIMPANAN GALUR LOKAL *Bacillus thuringiensis* H-14 DALAM BUAH KELAPA DAN UJI EFIKASINYA TERHADAP BERBAGAI JENTIK NYAMUK VEKTOR DI LABORATORIUM

Blondine Ch.P*

Abstract

An investigation using *Bacillus thuringiensis* H-14 local strain which was kept in coconuts during the days 4, 7, 14, 21 and 28 and its efficacy test toward malaria (*Anopheles* spp), filaria (*Culex quinquefasciatus*) and Dengue Haemorrhagic Fever (*Aedes aegypti*) which were conducted in the microbiology laboratory in Vector Control Research and Reservoir Unit Salatiga. The efficacy test of *B. thuringiensis* H-14 local strain was conducted according to the 1989 WHO procedure of to obtain the survival death of concentration vector larvae test. The result showed that *B. thuringiensis* H-14 local strain, which was kept in coconuts during the days 4, 7, 14, and 28, was still effective to kill various of vector mosquito larvae test even though at different concentration. The smaller concentration of *B. thuringiensis* H-14 local strain for controlling 50% and 90% 3rd instar larvae *Cx. quinquefasciatus* (from 5 species which were tested) was 0.002 ml/100 ml (LC 50) and 0.003 ml/100 ml (LC 90) with a Total Viable Cell (TVC) and a Total Viable Spore Count (TVSC) of 6.8×10^6 cells/ml and 7.1×10^6 spores/ml at day 14th after an exposure of 24 hours respectively. After an exposure of 48 hours, the concentration needed to kill the larvae, which was mentioned above, was 0.001 ml/100 ml (LC50) and 0.027 ml/100 ml (LC90). The investigation should be developed further by using local media for formulating the local strain of *B. thuringiensis* H-14.

Keywords : Lethal Concentration (LC), mosquito, *B. thuringiensis* H-14

Pendahuluan

Penyakit malaria, demam berdarah dan filariasis masih merupakan masalah kesehatan masyarakat di Indonesia. Upaya pengendalian vektor penyakit tersebut telah dilakukan dengan penggunaan insektisida kimia, karena cara tersebut efektif, hasilnya dapat diketahui dengan cepat. Namun demikian penggunaan insektisida secara terus menerus menyebabkan makin meningkatkan resistensi vektor, matinya musuh alami dan pencemaran lingkungan. Sebagai alternatif dalam pengendalian vektor telah dicoba pengendalian hayati menggunakan *Bacillus thuringiensis* H-14 galur lokal. Bakteri ini merupakan bioinsektisida yang aman bagi lingkungan dan bersifat spesifik target serta tidak menimbulkan resistensi vektor. Untuk

memproduksi spora dan kristal protein toksik yang merupakan racun perut bagi serangga sasaran (jentik nyamuk), telah digunakan berbagai media antara lain media kimia TPB (*Tryptose Phosphate Broth*) dan media lokal (air rendaman kedelai dan air kelapa).¹ Penggunaan media lokal seperti buah kelapa (air kelapa dan endosperemnya) relatif murah dan dapat diperoleh setiap saat dibandingkan dengan media kimia yang mahal. Beberapa peneliti seperti Misfit P dan Fardedi² menggunakan media air kelapa untuk membiakkan *B. thuringiensis* H-14. Begitu pula penelitian yang dilakukan di Alexander Van Humboldt Lima Peru, yang menggunakan buah kelapa (air kelapa dan endosperemnya) untuk produksi *B. thuringiensis* H-14, efektif membunuh jentik nyamuk vektor. Penelitian yang sama juga

* Balai Penelitian Vektor dan Reservoir Penyakit, Jl. Hasanudin 123, Salatiga

telah dilakukan di laboratorium mikrobiologi BPVRP (Balai Penelitian Vektor dan Reservoir Penyakit), Salatiga. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa *B. thuringiensis* H-14 galur lokal yang dibiakan dalam buah kelapa efektif membunuh jentik nyamuk vektor (*Anopheles*, *Aedes* dan *Culex*).³

Berdasarkan informasi tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui lama penyimpanan *B. thuringiensis* H-14 galur lokal dalam buah kelapa pada suhu kamar dan uji efikasinya terhadap berbagai jentik vektor malaria (*Anopheles* spp), DBD (*Aedes aegypti*) dan filariasis (*Culex quinquefasciatus*).

Bahan dan Cara Kerja

A. Bahan penelitian

Jasad hayati yang diteliti adalah bioinsektisida *B. thuringiensis* H-14 galur lokal dalam formulasi cair sebagai bakteri patogen jentik nyamuk. Jentik nyamuk vektor yang digunakan dalam penelitian ini adalah *An. sundaicus*, *An. maculatus*, *An. aconitus*, *Ae. aegypti* dan *Cx. quinquefasciatus* masing-masing instar III akhir hasil kolonisasi laboratorium. Buah kelapa yang digunakan adalah kelapa tua dengan berat sekitar 400 – 700 gram/butir.

B. Cara kerja

Persiapkan 6 buah kelapa tua yang beratnya 400 – 700 gram. Hal ini disebabkan kelapa dengan ukuran berat tersebut sudah cukup mengandung asam amino, karbohidrat, kadar lemak, kadar protein dan kadar gula reduksi sebesar 1.87%. Air karbohidrat 1.92%, kadar lemak 0.01%, kadar protein 0.06%, dan kadar gula reduksi sebagai unsur-unsur yang menunjang perkembangan dan pembiakan *B. thuringiensis* H-14. Dari 6 buah kelapa tua yang disiapkan, 5 buah kelapa digunakan untuk membiakkan *B. thuringiensis* H-14 galur lokal dan 1 buah kelapa untuk kontrol (tanpa perlakuan *B. thuringiensis* H-14 galur lokal).

Cara menyimpan dan membiakkan bakteri *B. thuringiensis* H-14 galur lokal adalah sebagai berikut:

1. Kelapa dibuang sabutnya kemudian dengan alkohol 90% dibersihkan titik lembaga (tempat tunas tumbuh).
2. Pada titik lembaga dibuat lubang kira-kira 1,5

cm.

3. Dimasukkan 1 – 5 ml *B. thuringiensis* H-14 galur lokal formulasi cair pada lubang kelapa.
4. Lubang kelapa segera ditutup dan dilapisi lilin (*candle wax*) dan diinkubasikan pada temperatur kamar untuk terjadi pertumbuhan. Sesudah hari ke-4, 7, 14, 21 dan 28 perkembangbiakan, dilakukan uji efikasi terhadap jentik vektor yang diuji dan dilakukan menurut prosedur WHO dalam Blondine,⁴ untuk memperoleh konsentrasi kematian 50% dan 90%.

Uji efikasi dilakukan sampai dengan hari ke-28 karena pertumbuhan dan pengembangbiakan optimal *B. thuringiensis* H-14 galur lokal dalam buah kelapa sampai dengan hari ke-28.

Uji efikasi dilakukan sebagai berikut: Larutan stok *B. thuringiensis* H-14 galur lokal yang dibiakkan pada 4 hari penyimpanan dalam buah kelapa dilakukan dengan cara mengambil 1 ml larutan formulasi cair *B. thuringiensis* H-14 galur lokal dimasukkan ke dalam *beaker glass* yang berisi 99 ml akuades dan dikocok sampai homogen. Kemudian dari larutan stok diambil berturut-turut sebanyak 30 ul, 50 ul, 70 ul, 90 ul, 100 ul, 300 ul, 500 ul, 700 ul dan 900 ul menggunakan *Gilson micropipete* E 20680 A dan dimasukkan ke dalam mangkok plastik yang berisi 20 ekor jentik *An. maculatus* instar III akhir, hasil kolonisasi di laboratorium dalam volume total akuades 100 ml, untuk mendapatkan konsentrasi final yang dibutuhkan yaitu 3 ppm, 5 ppm, 7 ppm, 9 ppm, 10 ppm, 30 ppm, 50 ppm, 70 ppm dan 90 ppm. Ulangan dilakukan 3 kali. Sebagai kontrol, mangkok plastik hanya diisi dengan 100 ml akuades dan 20 ekor jentik *An. maculatus*. Kematian jentik diamati 24 dan 48 jam pengujian.

Uji efikasi *B. thuringiensis* H-14 galur lokal terhadap jentik vektor *An. sundaicus*, *An. aconitus*, *Ae. aegypti* dan *Cx. quinquefasciatus* dilakukan dengan cara yang sama pada penyimpanan dan perkembangbiakan hari ke-7, 14, 21 dan 28 hari. Uji efikasi terhadap jentik *An. sundaicus* tidak menggunakan akuades sebagai pengencer *B. thuringiensis* H-14 galur lokal, tetapi menggunakan air yang bersalinitas. Untuk memperoleh nilai LC50 dan LC90 *B. thuringiensis* H-14 galur lokal yang disimpan dan dibiakan dalam buah kelapa digunakan analisis probit.⁵

Hasil Penelitian

Uji efikasi *B. thuringiensis* H-14 galur lokal pada penyimpanan dan perkembangbiakan hari ke-4, 7, 14, 21 dan 28 dalam buah kelapa terhadap berbagai jentik vektor (*An. sondaicus*, *An. maculatus*, *An. aconitus*, *Ae. aegypti* dan *Cx. quinquefasciatus*) disajikan pada Tabel 1, 2, 3, 4, dan 5.

Bacillus thuringiensis H-14 galur lokal pada penyimpanan dan perkembangbiakan hari ke-4, 7, 14, 21, dan 28 dalam buah kelapa dengan jumlah sel hidup dan jumlah spora hidup yang tidak sama, membutuhkan konsentrasi yang berbeda pula untuk mematikan jentik vektor *An. sondaicus* (Tabel 1 dan Gambar 1). Konsentrasi *B. thuringiensis* H-14 galur lokal yang terkecil untuk mematikan jentik vektor *An. sondaicus* adalah pada penyimpanan dan perkembangbiakan hari ke 14 yaitu pada konsentrasi 0,039 ml/100 ml (LC50) dan 0,103 ml/100ml (LC90) selama 24 jam

pengujian dan 0,030 ml/100 ml (LC50) dan 0,103 ml/100 ml (LC90) selama 48 jam pengujian. Sedangkan konsentrasi terbesar diperoleh pada penyimpanan dan perkembangbiakan *B. thuringiensis* H-14 galur lokal pada hari ke 4 yaitu 0,051 ml/100 ml (LC50) dan 0,148 ml/100 ml (LC90) selama 24 jam pengujian dan 0,035 ml/100 ml (LC50) dan 0,109 ml/100 ml (LC90) selama 48 jam pengujian.

Konsentrasi *B. thuringiensis* H-14 galur lokal yang dibutuhkan untuk membunuh 50 % dan 90 % jentik *An. sondaicus* pada penyimpanan dan perkembangbiakan hari ke 4, 7, 14, 21 dan 28 hari adalah berturut-turut berkisar antara 0,039 ml/100 ml – 0,070 ml/100ml (LC50) dan 0,103 – 0,148 ml/100 ml (LC90) selama 24 jam perlakuan. Pada 48 jam perlakuan membutuhkan konsentrasi sebesar 0,028 ml/100 ml – 0,058 ml/100 ml (LC50) dan 0,084 – 0,120 ml/100 ml (LC90) (Tabel 1 dan Gambar 1).

Tabel 1. Jumlah Sel Hidup dan Spora Hidup Formulasi Cair *B. thuringiensis* H – 14 Galur Lokal Pada Penyimpanan dan Perkembangbiakan Hari ke-4, 7, 14, 21 dan 28 dalam Buah Kelapa Serta Uji Efikasinya Terhadap Jentik Vektor *An. sondaicus*

BL H – 14 Galur lokal (hari)	Jumlah sel hidup (sel/ ml)	Jumlah spora hidup (spora/ ml)	Kematian 50% dan 90% jentik vektor <i>An. sondaicus</i>			
			24 jam (ml/100 ml)		48 jam (ml/100ml)	
			LC 50	LC 90	LC 50	LC 90
4	$3,9 \times 10^6$	$6,5 \times 10^6$	0,051	0,148	0,035	0,109
7	$6,2 \times 10^6$	$6,4 \times 10^6$	0,042	0,113	0,028	0,084
14	$6,8 \times 10^6$	$7,1 \times 10^6$	0,039	0,103	0,030	0,103
21	$9,9 \times 10^6$	$1,34 \times 10^7$	0,061	0,120	0,040	0,085
28	$6,4 \times 10^6$	$4,8 \times 10^6$	0,070	0,145	0,058	0,120

Kondisi Lingkungan Abiotik di Laboratorium:

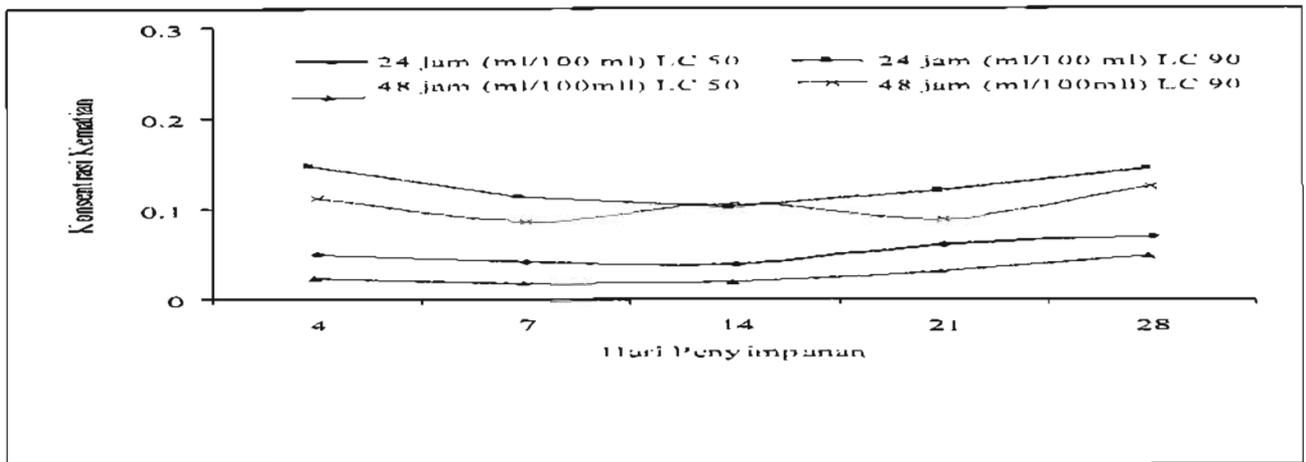
Kelembaban relatif: 77% - 92%

Suhu udara : 20 – 25°C

Suhu air : 23 – 25°C

PH air : 6

Salinitas : 15 – 18‰



Gambar 1. Konsentrasi formulasi cair *B. thuringiensis* H – 14 galur lokal pada penyimpanan dan perkembangbiakan hari ke-4, 7, 14, 21 dan 28 dalam buah kelapa terhadap jentik vektor *An.sundaicus*

Tabel 2. Jumlah Sel Hidup dan Spora Hidup Formulasi Cair *B. thuringiensis* H – 14 Galur Lokal Pada Penyimpanan dan Perkembangbiakan Hari ke-4, 7, 14, 21 dan 28 dalam Buah Kelapa Serta Uji Efikasinya Terhadap Jentik Vektor *An. maculatus*

Bt. H – 14 Galur lokal (hari)	Jumlah sel hidup (sel/ ml)	Jumlah spora hidup (spora/ ml)	Kematian 50% dan 90% jentik vektor <i>An. maculatus</i>			
			24 jam (ml/100 ml)		48 jam (ml/100ml)	
			LC 50	LC 90	LC 50	LC 90
4	3.9×10^6	$6,5 \times 10^6$	0,048	0,151	0,031	0,115
7	$6,2 \times 10^6$	$6,4 \times 10^6$	0,044	0,151	0,033	0,117
14	$6,8 \times 10^6$	$7,1 \times 10^6$	0,043	0,096	0,030	0,079
21	$9,9 \times 10^6$	$1,34 \times 10^7$	0,053	0,140	0,034	0,139
28	$6,4 \times 10^6$	$4,8 \times 10^6$	0,044	0,103	0,029	0,081

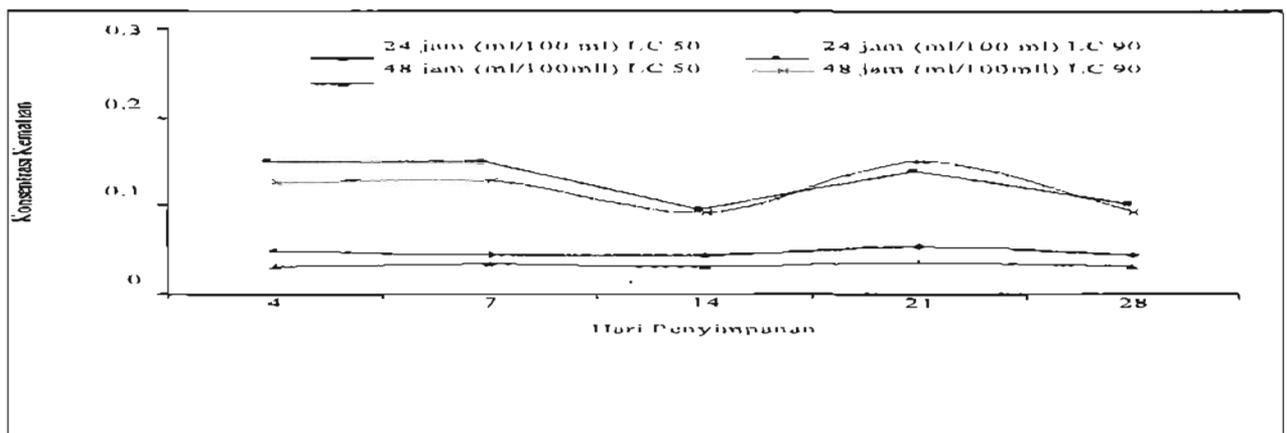
Kondisi Lingkungan Abiotik di Laboratorium:

Kelembaban relatif: 77% - 92%

Suhu udara : 20 – 25°C

Suhu air : 23 – 25°C

PH air : 6



Gambar 2. Konsentrasi Formulasi Cair *B. thuringiensis* H-14 Galur Lokal Pada Penyimpanan dan Perkembangbiakan Hari ke-4, 7, 14, 21 dan 28 Dalam Buah Kelapa Terhadap Jentik Vektor *An. maculatus*

Pada Tabel 2 dan Gambar 2, menunjukkan *B. thuringiensis* H-14 galur lokal yang disimpan dan dibiakkan dalam buah kelapa pada hari ke-14 dalam buah kelapa membutuhkan konsentrasi yang lebih kecil dibandingkan dengan penyimpanan dan pertumbuhan hari ke-4, 7, 21 dan 28 untuk membunuh jentik vektor *An. maculatus*. Besarnya konsentrasi tersebut adalah 0,043 ml/100 ml (LC50) dan 0,096 ml/100 ml (LC90) selama 24 jam pengujian dan 0,030 ml/100 ml (LC50) dan 0,079 ml/100 ml (LC90) selama 48 jam pengujian. Konsentrasi terbesar adalah sama pada penyimpanan dan perkembangbiakan *B. thuringiensis* H-14 galur lokal hari ke-4 dan hari ke-7 yaitu untuk membunuh 90% jentik vektor *An. maculatus* berturut-turut membutuhkan konsentrasi sebesar 0,151 ml/100 ml (LC90), sedangkan LC50 sebesar 0,048 ml/100 ml dan 0,044 ml/100 ml selama 24 jam pengujian. Pengujian 48 jam, masing-masing membutuhkan konsentrasi sebesar 0,031 ml/100 ml (LC50) dan 0,115 ml/100 ml (LC90) serta 0,033 ml/100 ml (LC50) dan 0,117 ml/100 ml (LC90). Konsentrasi *B. thuringiensis* H-14 galur lokal yang dibutuhkan untuk membunuh 50% dan 90% jentik *An. maculatus* pada penyimpanan dan perkembangbiakan hari ke-4, 7, 14, 21 dan 28 hari adalah berturut-turut berkisar antara 0,043 – 0,053 ml/100 ml (LC50) dan 0,096 – 0,151 ml/100 ml (LC90) selama 24 jam perlakuan. Pada 48 jam

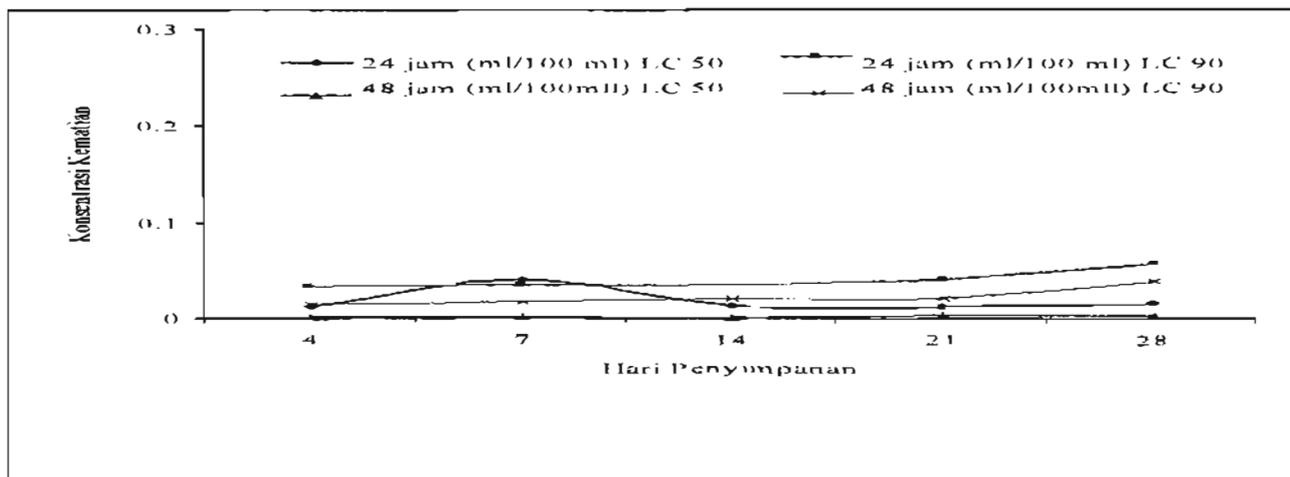
perlakuan membutuhkan konsentrasi sebesar 0,029 – 0,034 ml/100 ml (LC50) dan 0,079 – 0,139 ml/100 ml (LC90) (Tabel 2 dan Gambar 2).

Konsentrasi terkecil *B. thuringiensis* H-14 galur lokal yang diperoleh untuk membunuh jentik vektor *An. aconitus* yaitu pada penyimpanan dan perkembangbiakan hari ke-4 dan ke-7. Konsentrasi tersebut adalah 0,032 ml/100 ml (LC90) dan LC50 masing-masing 0,013 ml/100 ml dan 0,014 ml/100 ml selama 24 jam pengujian. Pada 48 jam pengujian membutuhkan konsentrasi sebesar 0,009 ml/100 ml (LC50) dan 0,018 ml/100 ml (LC90) serta 0,010 ml/100 ml (LC50) dan 0,026 ml/100 ml (LC90). Konsentrasi terbesar diperoleh pada penyimpanan dan perkembangbiakan *B. thuringiensis* H-14 galur lokal hari ke 28 yaitu sebesar 0,016 ml/100 ml (LC50) dan 0,053 ml/100 ml (LC90) selama 24 jam pengujian serta 0,013 ml/100 ml (LC50) dan 0,047 ml/100 ml (LC90). Konsentrasi *B. thuringiensis* H-14 galur lokal yang dibutuhkan untuk membunuh 50% dan 90% jentik *An. aconitus* pada penyimpanan dan perkembangbiakan hari ke-4, 7, 14, 21 dan 28 hari adalah berturut-turut berkisar antara 0,013 – 0,041 ml/100 ml (LC50) dan 0,032 – 0,053 ml/100 ml (LC90) selama 24 jam perlakuan. Pada 48 jam perlakuan membutuhkan konsentrasi sebesar 0,009 – 0,013 ml/100 ml (LC50) dan 0,018 – 0,047 ml/100 ml (LC90) (Tabel 3 dan Gambar 3).

Tabel 3. Jumlah Sel Hidup dan Spora Hidup Formulasi Cair *B. thuringiensis* H – 14 Galur Lokal Pada Penyimpanan dan Perkembangbiakan Hari ke-4, 7, 14, 21 dan 28 dalam Buah Kelapa Serta Uji Efikasinya Terhadap Jentik Vektor *An. aconitus*

Bt H – 14 Galur lokal (hari)	Jumlah sel hidup (sel/ ml)	Jumlah spora hidup (spora/ ml)	Kematian 50% dan 90% jentik vektor <i>An. aconitus</i>			
			24 jam (ml/100 ml)		48 jam (ml/100ml)	
			LC 50	LC 90	LC 50	LC 90
4	3,9 x 10 ⁶	6,5 x 10 ⁶	0,013	0,032	0,009	0,018
7	6,2 x 10 ⁶	6,4 x 10 ⁶	0,041	0,033	0,011	0,022
14	6,8 x 10 ⁶	7,1 x 10 ⁶	0,014	0,032	0,010	0,026
21	9,9 x 10 ⁶	1,34 x 10 ⁷	0,013	0,037	0,012	0,028
28	6,4 x 10 ⁶	4,8 x 10 ⁶	0,016	0,053	0,013	0,047

Kondisi Lingkungan Abiotik di Laboratorium:
 Kelembaban relatif : 77% - 92%
 Suhu udara : 20 – 25°C
 Suhu air : 23 – 25°C
 PH air : 6



Gambar 3. Konsentrasi Formulasi Cair *B. thuringiensis* H – 14 Galur Lokal Pada Penyimpanan dan Perkembangbiakan hari ke-4, 7, 14, 21 dan 28 dalam Buah Kelapa Terhadap Jentik Vektor *An. aconitus*

Tabel 4. Jumlah Sel Hidup dan Spora Hidup Formulasi Cair *B. thuringiensis* H – 14 Galur Lokal Pada Penyimpanan dan Perkembangbiakan Hari ke-4, 7, 14, 21 dan 28 dalam Buah Kelapa Serta Uji Efikasinya Terhadap Jentik Vektor *Ae. aegypti*

<i>Bt.</i> H – 14 Galur lokal (hari)	Jumlah sel hidup (sel/ ml)	Jumlah spora hidup (spora/ ml)	Kematian 50% dan 90% jentik vektor <i>Ae. aegypti</i>			
			24 jam (ml/100 ml)		48 jam (ml/100ml)	
			LC 50	LC 90	LC 50	LC 90
4	$3,9 \times 10^6$	$6,5 \times 10^6$	0,051	0,111	0,041	0,087
7	$6,2 \times 10^6$	$6,4 \times 10^6$	0,054	0,138	0,043	0,107
14	$6,8 \times 10^6$	$7,1 \times 10^6$	0,049	0,113	0,029	0,084
21	$9,9 \times 10^6$	$1,34 \times 10^7$	0,062	0,117	0,038	0,096
28	$6,4 \times 10^6$	$4,8 \times 10^6$	0,065	0,121	0,034	0,094

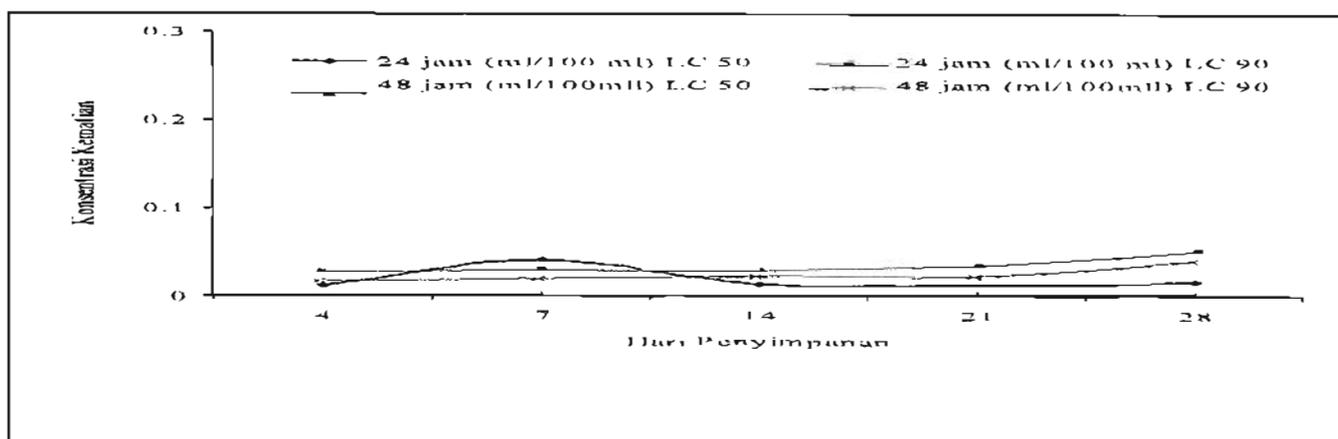
Kondisi Lingkungan Abiotik di Laboratorium.

Kelembaban relatif : 77% - 92%

Suhu udara : 20 – 25 °C

Suhu air : 23 – 25 °C

PH air : 6



Gambar 4. Konsentrasi Formulasi Cair *B. thuringiensis* H – 14 Galur Lokal Pada Penyimpanan dan Perkembangbiakan Hari ke-4, 7, 14, 21 dan 28 Dalam Buah Kelapa Terhadap Jentik Vektor *Ae. aegypti*

Untuk membunuh jentik vektor *Ae. aegypti* ternyata membutuhkan konsentrasi *B. thuringiensis* H-14 galur lokal yang lebih besar dibandingkan dengan 4 spesies (*An. sudaicus*, *An. maculatus*, *An. aconitus* dan *Cx. quinquefasciatus*) jentik vektor yang diuji selama penyimpanan dan perkembangbiakan hari ke-4, 7, 14, 21 dan 28 hari. Konsentrasi terkecil diperoleh pada penyimpanan dan perkembangbiakan *B. thuringiensis* H-14 galur lokal hari ke-4 yaitu sebesar 0,051 ml/100 ml (LC50) dan 0,111 ml/100 ml (LC90) selama 24 jam pengujian. Pada 48 jam pengujian membutuhkan konsentrasi sebesar 0,041 ml/100 ml (LC50) dan 0,087 ml/100 ml (LC90). Sedangkan konsentrasi terbesar diperoleh pada penyimpanan dan perkembangbiakan *B. thuringiensis* H-14 galur lokal hari ke 7 yaitu sebesar 0,054 ml/100 ml (LC50) dan 0,138 ml/100 ml (LC90) selama 24 jam pengujian. Pada 48 jam pengujian membutuhkan konsentrasi sebesar 0,043 ml/100 ml (LC50) dan 0,107 ml/100 ml (LC90). Konsentrasi *B. thuringiensis* H-14 galur lokal yang dibutuhkan untuk membunuh 50% dan 90% jentik *Ae. aegypti* pada penyimpanan dan perkembangbiakan hari ke-4, 7, 14, 21 dan 28 adalah berturut-turut berkisar antara 0,049 – 0,065 ml/100 ml (LC50) dan 0,111 – 0,138 ml/100 ml (LC90) selama 24 jam perlakuan. Pada 48 jam perlakuan membutuhkan konsentrasi sebesar 0,029 – 0,043 ml/100 ml (LC50) dan 0,084 – 0,107 ml/100 ml (LC90) (Tabel 4 dan Gambar 4).

Berbeda dengan jentik vektor *Ae. aegypti*, jentik vektor *Cx. quinquefasciatus* justru membutuhkan konsentrasi *B. thuringiensis* H-14 galur lokal yang lebih kecil pada penyimpanan dan perkembangbiakan hari ke-4, 7, 14, 21, dan 28 dibandingkan dengan 4 spesies lain yang diuji. Konsentrasi terkecil diperoleh pada penyimpanan dan perkembangbiakan *B. thuringiensis* H-14 hari ke 14 yaitu sebesar 0,002 ml/100 ml (LC50) dan 0,003 ml/100 ml (LC90) selama 24 jam pengujian dan 0,001 ml/100 ml (LC50) dan 0,027 ml/100 ml (LC90) selama 48 jam pengujian (Tabel 5 dan Gambar 5).

Konsentrasi terbesar diperoleh pada penyimpanan dan perkembangbiakan *B. thuringiensis* H-14 galur lokal hari ke 28 yaitu 0,007 ml/100 ml (LC50) dan 0,015 ml/100 ml (LC90) selama 24 jam pengujian. Pada 48 jam pengujian membutuhkan konsentrasi sebesar 0,005 ml/100 ml (LC50) dan 0,013 ml/100 ml (LC90). Konsentrasi *B. thuringiensis* H-14 galur lokal yang dibutuhkan untuk membunuh 50% dan 90% jentik *Cx. quinquefasciatus* pada penyimpanan dan perkembangbiakan hari ke-4, 7, 14, 21 dan 28 adalah berturut-turut berkisar antara 0,002 – 0,007 ml/100 ml (LC50) dan 0,003 – 0,015 ml/100 ml (LC90) selama 24 jam perlakuan. Pada 48 jam perlakuan membutuhkan konsentrasi sebesar 0,001 – 0,005 ml/100 ml (LC50) dan 0,001 – 0,027 ml/100 ml (LC90) (Tabel 5 dan Gambar 5).

Tabel 5. Jumlah Sel Hidup dan Spora Hidup Formulasi Cair *B. thuringiensis* H – 14 Galur Lokal Pada Penyimpanan dan Perkembangbiakan Hari ke-4, 7, 14, 21 dan 28 hari dalam Buah Kelapa Serta Uji Efikasinya Terhadap Jentik Vektor *Cx. quinquefasciatus*

<i>Bt.</i> H – 14 Galur lokal (hari)	Jumlah sel hidup (sel/ ml)	Jumlah spora hidup (spora/ ml)	Kematian 50% dan 90% jentik vektor <i>Cx.</i> <i>quinquefasciatus</i>			
			24 jam (ml/100 ml)		48 jam (ml/100ml)	
			LC 50	LC 90	LC 50	LC 90
4	$3,9 \times 10^6$	$6,5 \times 10^6$	0,003	0,006	0,002	0,001
7	$6,2 \times 10^6$	$6,4 \times 10^6$	0,004	0,008	0,003	0,006
14	$6,8 \times 10^6$	$7,1 \times 10^6$	0,002	0,003	0,001	0,027
21	$9,9 \times 10^6$	$1,34 \times 10^7$	0,005	0,012	0,004	0,010
28	$6,4 \times 10^6$	$4,8 \times 10^6$	0,007	0,015	0,005	0,013

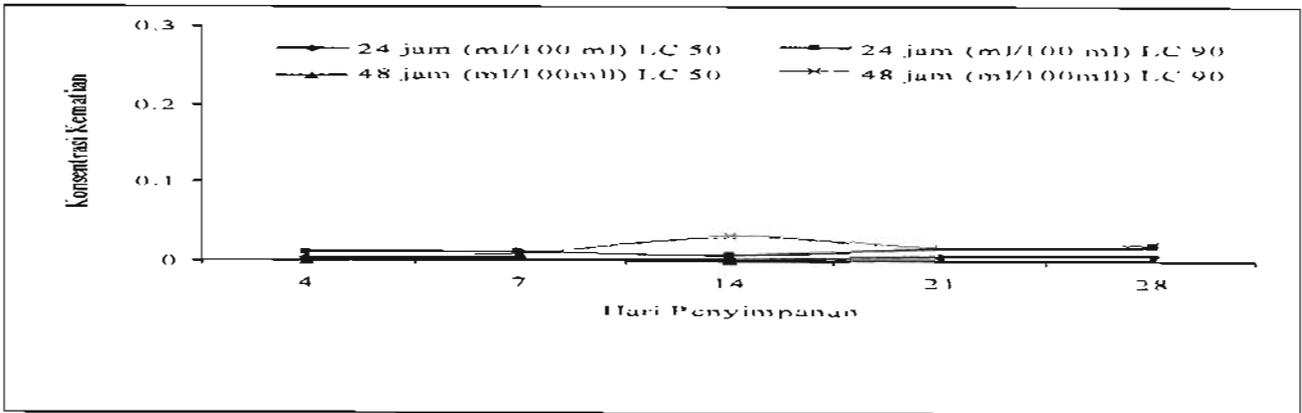
Kondisi Lingkungan Abiotik di Laboratorium:

Kelembaban relatif : 77% - 92%

Suhu udara : 20 – 25 °C

Suhu air : 23 – 25 °C

PH air : 6



Gambar 5. Konsentrasi Formulasi Cair *B. thuringiensis* H – 14 Galur Lokal Pada Penyimpanan dan Perkembangbiakan Hari ke 4, 7, 14, 21 dan 28 dalam Buah Kelapa Terhadap Jentik Vektor *Cx. quinquefasciatus*

Kondisi laboratorium seperti kelembaban ruangan, suhu udara ruangan, suhu air, pH air dan salinitas air yang diukur pada saat sebelum dan selama perlakuan adalah sebagai berikut: Kelembaban ruangan adalah sebesar 77% - 92 %, suhu ruangan 20 – 25°C, suhu air 23 – 25°C, pH air, 6 dan salinitas 15 – 18‰.

pembahasan

Dalam penelitian ini digunakan buah kelapa (air kelapa dan endospermnya) sebagai media penyimpanan dan perkembangbiakan *B. thuringiensis* H-14 galur lokal karena air kelapa mengandung sumber nutrisi seperti karbohidrat, kadar lemak, kadar protein dan kadar gula reduksi bagi perkembangbiakan *B. thuringiensis* H-14. Selain itu unsur nitrogen sebagai sumber nutrisi yang terdapat dalam air kelapa berupa NH_4^+ , NO_3^- dan NO_2^- . Ada perbedaan jumlah sel hidup dan spora hidup *B. thuringiensis* H-14 galur lokal pada hari ke-4, 7, 14, 21 dan ke 28 pada pengembangbiakan dalam air kelapa. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh jumlah nutrisi dan protein yang berada dalam air kelapa pada hari ke-4, 7, 14, 21 dan 28 hari tidak sama banyak sehingga dapat mempengaruhi pengembangbiakan sel dan spora *B. thuringiensis* H-14.

Tabel 1 – 5 menunjukkan dengan jumlah sel hidup dan jumlah spora yang tidak sama pada penyimpanan dan perkembangbiakan *B. thuringiensis* H-14 galur lokal dalam buah kelapa selama hari ke 4, 7, 14, 21 dan 28, memperoleh konsentrasi yang berbeda pula untuk membunuh berbagai spesies jentik vektor yang diuji (*An.*

sundaicus, *An. maculatus*, *An. aconitus*, *Ae. aegypti* dan *Cx. quinquefasciatus*). Perbedaan tersebut dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor. Faktor-faktor seperti instar jentik, makanan, periode pemaparan (*exposure period*), kualitas air, galur bakteri, perbedaan kepekaan masing-masing jentik nyamuk yang diuji, suhu air dan formulasi, khususnya tingkat sedimentasi/pengendapan dilaporkan sangat mempengaruhi efikasi *B. thuringiensis* H-14 terhadap jentik nyamuk. Formulasi cair *B. thuringiensis* H-14 yang disimpan dan dibiakkan dalam buah kelapa pada penyimpanan hari ke-4, 7, 14, 21 dan 28 membutuhkan konsentrasi yang lebih kecil untuk membunuh 50% dan 90% jentik vektor *Cx. quinquefasciatus* yaitu berturut-turut sebesar 0,002 – 0,007 ml/100 ml (LC50) dan 0,003 – 0,015 ml/100 ml (LC90) selama 24 jam perlakuan dibandingkan dengan konsentrasi yang diperoleh untuk membunuh jentik vektor *Anopheles* spp dan *Ae. aegypti*. Tersedianya toksin di daerah makan jentik dan kebiasaan makan jentik vektor mungkin sangat berpengaruh dalam efikasi *B. thuringiensis* H-14 galur lokal terhadap jentik vektor yang diuji. Seperti diketahui bahwa jentik vektor *Anopheles* spp mempunyai kebiasaan mengambil makanan (termasuk toksin) di daerah permukaan (lebih kurang 1 – 2 mm) (*surface feeders*), *Ae. aegypti*, di dasar perairan (*bottom feeders*) dan *Cx. quinquefasciatus* sedikit di bawah permukaan (*suspension feeders*). Kemungkinan sampai dengan hari ke 3 jumlah spora masih cukup banyak di bawah permukaan air sehingga sepenuhnya mencapai sasaran makan jentik vektor *Culex*. Hal ini didukung pula oleh Nguyen⁷ yang

melaporkan bahwa jumlah spora bakteri *B. thuringiensis* H-14 adalah sama banyak di permukaan dan dasar air pada hari ke 3 dan ke 7 sesudah aplikasi. Selain itu kemampuan cairan usus tengah jentik vektor *Culex quinquefasciatus* untuk melarutkan kristal protein toksin lebih cepat sehingga dengan konsentrasi *B. thuringiensis* H-14 yang kecil sudah di peroleh kematian. Kerentanan serangga sasaran terhadap toksin yang dihasilkan dan kemampuan cairan usus untuk melarutkan kristal protein sangat menentukan potensi delta-endotoksin *B. thuringiensis* H-14. *Bacillus thuringiensis* H-14 galur lokal yang diformulasi dalam bentuk cair menggunakan media kimia TPB (*Tryptose Phosphate Broth*), membutuhkan konsentrasi yang lebih kecil yaitu 0,002 ml/l (LC90) untuk membunuh jentik vektor *Cx. quinquefasciatus* dibandingkan dengan konsentrasi 0,008 ml/l (LC90) untuk membunuh jentik vektor *An. aconitus* di laboratorium. Begitu pula formulasi cair *B. thuringiensis* H-14 galur lokal yang menggunakan media lokal infus kedelai, dapat membunuh jentik vektor *Cx. quinquefasciatus* pada konsentrasi yang lebih kecil yaitu 0,022 ml/l (LC90) dibandingkan dengan konsentrasi 0,059 ml/l (LC90) dan 0,024 ml/l (LC90) berturut-turut untuk membunuh jentik vektor *An. aconitus* dan *Ae. Aegypti*.⁴

Jumlah sel hidup dan jumlah spora hidup yang dihasilkan pada penyimpanan dan perkembangbiakan *B. thuringiensis* H-14 galur lokal dalam buah kelapa selama 4,7,14, 21 dan 28 hari tidak sama. Walaupun tidak sama, hal ini tidak berpengaruh terhadap toksisitas dari bakteri tersebut dalam menentukan aktivitasnya. Pada Tabel 1 - 5 terlihat jumlah sel hidup dan jumlah spora hidup *B. thuringiensis* H-14 galur lokal yang sedikitpun sudah dapat mematikan berbagai jentik vektor yang diuji walaupun pada konsentrasi yang tidak sama. Hal ini didukung pula oleh Bulla dalam Blondine,⁸ yang menyatakan bahwa hasil pengujian toksisitas lebih penting untuk menentukan aktivitas larvisidanya.

Kematian berbagai jentik vektor yang diuji ditentukan selama 24 jam dan 48 jam, sebagai dasar utama untuk menghitung jentik yang hidup. Daya bunuh *B. thuringiensis* H-14 galur lokal sangat cepat dan biasanya tidak ada perbedaan kematian jentik selama 24 jam dan 48 jam yang dihitung secara kumulatif. Selain itu pengamatan selama 48 jam juga untuk menegaskan pembacaan kematian jentik selama 24 jam serta untuk mengecek

intervensi komponene faktor-faktor lain selain *Bacillus*. Kondisi laboratorium seperti kelembaban ruangan, suhu udara ruangan, suhu air, pH air dan salinitas air yang diukur pada saat sebelum dan selama perlakuan merupakan kondisi yang baik terhadap efikasi formulasi cair *B. thuringiensis* H-14 galur lokal.

Kesimpulan

Formulasi cair *B. thuringiensis* H-14 galur lokal yang disimpan dan dikembangkan dalam buah kelapa selama hari ke 4, 7, 14, 21, dan 28 masih efektif membunuh berbagai jentik vektor (*An.sundaicus*, *An. maculatus*, *An. aconitus*, *Ae. aegypti* dan *Cx. quinquefasciatus*) di laboratorium.

Saran

Penelitian ini akan dikembangkan lebih lanjut yaitu dengan mengaplikasikan bakteri *B. thuringiensis* H-14 galur lokal di lapangan, menggunakan media lokal untuk formulasi bakteri tersebut.

Daftar Pustaka

1. Blondine, Ch.P., Damar,T.B., dan Rendro,W., Pertumbuhan Strain Lokal *Bacillus thuringiensis israelensis* pada Media Alternatif (Air Kelapa dan Rendaman Kedelai) untuk Mengendalikan Larva Nyamuk *Aedes aegypti*, Seri Penelitian Fakultas Biologi. 1999. 2: 133-138.
2. Misfit P & Fardedi. Pemanfaatan Air Kelapa dan Air Rendman Kedelai Sebagai Media Perbanyak Bakteri *Bacillus thuringiensis* Barliner. Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian Indonesia, 2007.9(1):64-70
3. Blondine, Ch.P., Yusniar, A.,Rendro,W., dan Sukarno, Uji Coba Strain Lokal *Bacillus thuringiensis* H-14 yang Ditumbuhkan dalam Media Air Kelapa Terhadap Jentik Nyamuk *Anopheles aconitus* dan *Culex pipiens quinquefasciatus* Perangkap Sentinel di Kolam Kotamadya Salatiga. Bull. Pen. Kes. 1999/2000. 27 (2): 282-292.
4. Blondine Ch P. Formulasi *Bacillus thuringiensis* H-14 galur lokal dalam Media Infus Kedelai dan Uji Patogenitasnya Terhadap Jentik Nyamuk Vektor. Jurnal

-
- Kedokteran Yarsi.. 2004. 12(1):22-28.
5. Blondine Ch P., Patogenisitas 2 Formulasi (bubuk dan cair) dari *Bacillus thuringiensis* H-14 galur lokal Terhadap Jentik *Anopheles aconitus* dan *Culex quinquefasciatus* di dalam laboratorium. *Jurnal Kedokteran Yarsi..* 2003. 11(3):24-29.
 6. Blondine Ch.P., 2000. Aktivitas Larvisidal Galur Lokal *Bacillus thuringiensis* H-14 Yang Ditumbuhkan dalam Media Air Kelapa terhadap *Anopheles* spp di Desa Pabelan Kabupaten Semarang. *Jurnal Kedokteran Yarsi.* 2000. 8 (3): 48-55.
 7. Nguyen, T.T.H., Su,T., dan Mulla, M.S., "Mosquito Control and Bacterial Flora in Water Enriched with Organic Matter and Treated with *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* and *Bacillus sphaericus* Formulations", *Journal of Vector Ecology.* 1999. 24 (2) :138-153.
 8. Blondine Ch P & Damar T B. Pengendalian Vektor (Iruva) Demam Berdarah Dengue, Malaria dan Filariasis menggunakan Strain Lokal *Bacillus thuringiensis* varietas *israelensis*. *Jurnal Kedokteran Yarsi.* 2000. 8 (1): 77-81.