

PENGEMBANGBIAKAN *Bacillus thuringiensis* H-14 GALUR LOKAL PADA BERBAGAI MACAM PH MEDIA AIR KELAPA DAN TOKSISITASNYA TERHADAP JENTIK NYAMUK VEKTOR *Aedes .aegypti* DAN *Anopheles aconitus*

Blondine Ch.P,* Lulus Susanti*

Bacillus thuringiensis H-14 LOCAL STRAIN CULTURE on VARIOUS KINDS OF COCONUT WATER pH AND ITS TOXICITY AGAINST *Aedes aegypti* and *Anopheles aconitus* MOSQUITO LARVAE

Abstract

The culture of bioinsecticide containing active *Bacillus thuringiensis* H-14 local strain on various kinds on coconut water pH and its toxicity against *Aedes aegypti* and *Anopheles aconitus* were carried out in the laboratory on Institute of Vector and Reservoir Control Research and Development Salatiga. The objectives of this study were : To determine the optimum pH from various kinds of coconut water pH for culturing of *B. thuringiensis* H-14 local strain. This study was using 20 coconuts with 6 – 8 months age coconut on average weight around 1 kg that contained water approximately 400-500 ml/coconut were taken from Kunir Rejo village, Butuh regency, Purworejo district. Fifteen out of 20 coconuts were used to culture cells and spores of *B. thuringiensis* H-14 local strain and 5 coconuts were used to analyze the contain of coconut water in the Institute of Health Laboratory Semarang. The results showed, that *B. thuringiensis* H-14 local strain can culture at ranges from pH 7 to pH 8.5 with the pH7 as the optimum pH. Total Viable Cell (TVC) and a Total Viable Spore Count (TVSC) were $3,5 \times 10^{10}$ cells /ml and $3,3 \times 10^{10}$ spores/ml respectively. The Lethal Concentration (LC50) = 10.56 ppm and LC95 = 22. 13 ppm against *Ae. aegypti* larvae and LC50 = 5 ppm and LC95 = 11 ppm against *An. aconitus* larvae. The result showed the analyze test contain of coconut water were 1.92 % carbohydrate, 0.01 % fat, 0.06 % protein and reduced glucose 1.87 %. Coconut water can be used as an alternative local media to culture *B. thuringiensis* H-14 local strain.

Key words : *B. thuringiensis* H-14, pH, coconut water media.

Pendahuluan

Pengendalian terhadap malaria, DBD dan penyakit tular vektor yang lain terus menerus baik secara kimiawi, biologis maupun fisik. Pengendalian vektor secara biologik merupakan pengaturan populasi vektor oleh musuh di alam.

Pengendalian secara biologik saat ini telah menjadi alternatif dalam pengendalian vektor karena aman lingkungan, toksisitas terhadap serangga vektor tinggi, dan bersifat spesifik. Salah satu pengendali biologi yang dikembangkan adalah *B. thuringiensis* var. *israelensis*, yang telah dijadikan sebagai bahan bioinsektisida untuk pengendali larva nyamuk dan lalat hitam.

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

Bacillus thuringiensis adalah salah satu bakteri patogen serangga, tergolong ke dalam kelas Schizomycetes, ordo Eubacteriae, family Bacillaceae. *Bacillus thuringiensis* H-14 adalah bakteri yang mempunyai sel vegetatif berbentuk batang dengan ukuran panjang 3–5 μm dan lebar 1,0–1,2 μm , memiliki flagella dan membentuk spora. Bersifat gram positif, umumnya aerob fakultatif, dan dapat tumbuh pada berbagai media dengan kisaran suhu pertumbuhan 15°C–40°C.

Ciri khas bakteri *B. thuringiensis* H-14 adalah kemampuannya membentuk kristal paraspora hodi (tubuh paraspora), bersamaan dengan pembentukan spora. Kristal toksin ini merupakan delta endotoksin yang menyebabkan lisis pada sel-sel epitelium jentik sehingga mudah merusak membran dasar dan menyebabkan kematian jentik.¹

Bacillus thuringiensis var *israelensis* harganya mahal, karena masih harus impor dari luar negeri. Saat ini di B2P2VRP (Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Vektor dan Reservoir Penyakit) telah mengembangbiakan *B. thuringiensis* H-14 galur lokal hasil isolasi tanah di wilayah Salatiga, dan toksisitasnya tinggi terhadap jentik *Ae. aegypti* dan *An. aconitus*, *Cx. quinquefasciatus*.²

Buah kelapa (*Cocos nucifera*) merupakan salah satu media pengembangbiakan *B. thuringiensis* H-14, karena terbukti memiliki kandungan nutrisi yang baik untuk fermentasi *B. thuringiensis* H-14 var *israelensis* maupun *B. thuringiensis* H-14 galur lokal. Kandungan nutrisi tersebut adalah karbohidrat sederhana (glukosa, fruktosa), asam-asam amino (alin, arginin dan asam glutamat).

Penelitian pengembangbiakan *B. thuringiensis* H-14 dengan menggunakan media kelapa (air kelapa dan endospermnya) telah dilakukan oleh beberapa peneliti.^{3,4} Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa pengembangbiakan *B. thuringiensis* H-14 dengan menggunakan media air kelapa memiliki pertumbuhan dan toksisitas yang baik. Begitu pula *B. thuringiensis* H-14 dengan menggunakan media air kelapa dalam bentuk bubuk (*powder*) ternyata memiliki tingkat toksisitas yang lebih tinggi daripada media IPS (Media standar dari Pasteur, Perancis) yang terdiri dari Nutrient Broth, Yeast extract dan salts medium) dengan pH 7,3.⁵

pH media dan suhu lingkungan merupakan faktor yang berpengaruh pada perkembangbiakan *B. thuringiensis* H-14. Menurut Chilcott dan Pillai⁵ pH panen *B. thuringiensis* H-14 pada media kelapa adalah sebesar 7,9–8,3. Sedangkan penelitian yang dilakukan oleh Umi Widyastuti dan Blondine,⁶ menunjukkan bahwa pH yang baik untuk perkembangbiakan *B. thuringiensis* H-14 adalah 6, 7 dan 8. Dalam penelitian ini akan dilakukan pengembangbiakan *B. thuringiensis* H-14 galur lokal pada berbagai macam pH air kelapa yaitu pH 7, 7,3, 7,5, 8 dan 8,5 untuk memperoleh pH optimum bagi pengembangbiakan *B. thuringiensis* H-14 galur lokal.

Berdasarkan hal tersebut di atas, maka tujuan umum penelitian ini adalah menentukan pH optimum dari berbagai macam pH media air kelapa yang digunakan untuk perkembangbiakan *B. thuringiensis* H-14 galur lokal. Tujuan khusus adalah: 1) menentukan jumlah sel hidup dan spora hidup *B. thuringiensis* H-14 galur lokal pada berbagai macam pH air kelapa 2). menentukan LC50 (*Lethal Concentration* 50%) dan LC95 jentik nyamuk *Ae. aegypti* dan *An. aconitus* selama 24 pengujian dari berbagai macam pH media air kelapa, 3). mengukur kandungan nutrisi (karbohidrat, lemak, protein dan gula reduksi) media air kelapa bagi perkembangbiakan *B. thuringiensis* H-14 galur lokal.

Bahan dan Cara Kerja

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Januari sampai dengan Oktober 2008 di Laboratorium B2P2VRP Salatiga dan Kabupaten Purworejo.

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah air kelapa dari jenis kelapa (*Cocos nucifera*) yang diambil dari daerah Salatiga dan Desa Kunir Rejo, Kabupaten Purworejo. Nutrien agar (NA), NaOH, HCl, aquades, jentik *Ae. aegypti*, *An. aconitus*. Alat yang digunakan adalah pH meter, pipet, Gilson micropipet E 20680 A, mangkok plastik, Beaker Glass, thermohyrometer, shaker, timbangan O'House, kertas, autoclave. Erlenmeyer 150 ml, jarum ose standar, petridish, inkubator, tabung gelas, dan tabung reaksi.

Cara Kerja

1. Pengembangbiakan *B. thuringiensis* H-14 Galur Lokal

Kelapa yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 20 buah. Lima dari 20 buah kelapa digunakan untuk uji analisis kandungan air kelapa. Pengambilan air kelapa dilakukan menurut metode kerja yang dilakukan oleh Chilcott dan Pillai di mana air kelapa tidak disteril menggunakan *autoclave*. Dalam penelitian ini dilakukan modifikasi dimana air kelapa sebelum digunakan dilakukan sterilisasi terlebih dahulu menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit. Sesudah disteril, dilakukan perlakuan sebagai berikut:

Menyiapkan media air kelapa dengan pH 7,0; 7,3; 7,5; 8,0; 8,5, masing – masing sebanyak 50 ml. Pengaturan pH dilakukan dengan cara menambahkan sedikit demi sedikit larutan NaOH 0.1N atau HCl ke dalam media air kelapa, kemudian diukur dengan menggunakan pH meter digital, sampai didapatkan pH yang diinginkan. Ambil biakan murni *B. thuringiensis* H-14 galur lokal sebanyak 2 ose dimasukkan pada masing-masing media air kelapa yang sudah ditentukan pH. Di gojog (*shaker*) selama 2 x 24 jam, kemudian dilakukan uji efikasi dan penghitungan jumlah sel dan spora hidup menurut Soesanto dalam Blondine.⁷

2. Penghitungan Jumlah Sel dan Spora.

a. Penghitungan jumlah sel hidup :

Formulasi cair *B. thuringiensis* H-14 galur lokal yang telah digojog dari berbagai macam pH (7,0; 7,3; 7,5 ; 8,0 ; 8,5), yang diperoleh diambil sebanyak 1 ml dan ditambahkan 9 ml akuades dalam tabung gelas, kemudian dikocok sampai homogen. Sesudah itu dibuat pengenceran seri 10^{-1} – 10^{-10} dalam akuades. Dari masing-masing pengenceran diambil 0,1 ml dan ditaburkan ke dalam plat Petri yang kemudian ditambahkan agar nutrisi sebanyak 20 ml. Selanjutnya diinkubasikan selama 48 jam pada suhu 30°C. Setelah itu dihitung jumlah sel *B. thuringiensis* H-14 galur lokal yang tumbuh pada plat berisi agar nutrisi.

b. Penghitungan jumlah spora hidup

Untuk memperoleh jumlah spora, maka kultur bakteri *B. thuringiensis* H-14 galur lokal yang berada dalam media pengembangbiakan

pada masing-masing pengenceran 10^{-1} – 10^{-10} dipanaskan selama 30 menit pada suhu 60°C. Maksud pemanasan adalah untuk mematikan kuman-kuman yang tidak berspora seperti *Pseudomonas*, *Streptococcus* dan *Staphylococcus*. Dari masing-masing pengenceran formulasi cair *B. thuringiensis* H-14 galur lokal diambil sebanyak 0,1 ml dan ditaburkan ke dalam plat Petri. Kemudian ditambahkan agar nutrisi, diinkubasikan selama 48 jam pada suhu 30°C. Sesudah itu dihitung jumlah spora *B. thuringiensis* H-14 galur lokal yang tumbuh pada plat Petri.

3. Uji Efikasi Terhadap Jentik Nyamuk *Ae. aegypti* dan *An. aconitus*

Larutan stok kultur murni *B. thuringiensis* H-14 galur lokal dalam media air kelapa dengan pH 7, diambil 1 ml dan dimasukkan ke dalam *beaker glass* yang berisi 99 ml air, dikocok sampai homogen. Sesudah itu dari larutan diambil 30 µL, 50 µL, 70 µL, 90µL, 100 µL, 300 µL, 500 µL, 700 µL, 900 µL menggunakan *Gilson* micropipet E.20680 A dan dimasukkan kedalam mangkok plastik berisi 20 ekor jentik nyamuk *Ae. aegypti*, dengan volume total 100 ml sehingga di dapat konsentrasi 3 ppm, 5 ppm, 7 ppm, 9 ppm, 10 ppm, 30 ppm, 50 ppm, 70 ppm dan 90 ppm. Kematian jentik diamati selama 24 dan 48 jam pengujian. Untuk mendapatkan LC50 dan LC95 *B. thuringiensis* H-14 galur lokal yang dibiakkan dengan media air kelapa digunakan analisis Probit.⁸ Perlakuan yang sama dilakukan pula pada jentik *An. aconitus* dan pH yang lain (7,3, 7,5, 8 dan 8,5).

4. Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian ini adalah eksperimental murni (*true eksperimen*), karena semua variabel dapat dikendalikan.⁹

5. Populasi dan Sampel Penelitian

a. Populasi penelitian

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah jentik nyamuk *Ae.aegypti* dan *An.aconitus* instar III yang terdapat di laboratorium B2P2VRP. Kelapa di Daerah Salatiga dan Desa Kunir Rejo, Kabupaten Purworejo

b. Sampel penelitian

Sampel penelitian adalah jentik *Ae.aegypti* dan *An.aconitus* instar III yang digunakan untuk uji toksisitas *B. thuringiensis* H-14 galur lokal. Sampel kelapa yang digunakan adalah jenis *Cocos nucifera*, dengan umur panen 6 - 8 bulan, dengan berat rata-rata 1 kg.

c. Besar sampel penelitian

Banyak ulangan pengujian efikasi mengikuti rumus Federrer dalam Kemas.¹⁰ Banyak ulangan sebanyak 3 kali.

$$(t - 1)(r - 1) \geq 15$$

$$(9 - 1)(r - 1) \geq 15$$

$$8r \geq 23$$

$$r \geq 2,9 \sim r = 3.$$

Keterangan :

t : jumlah perlakuan (jumlah konsentrasi)

r : jumlah ulangan.

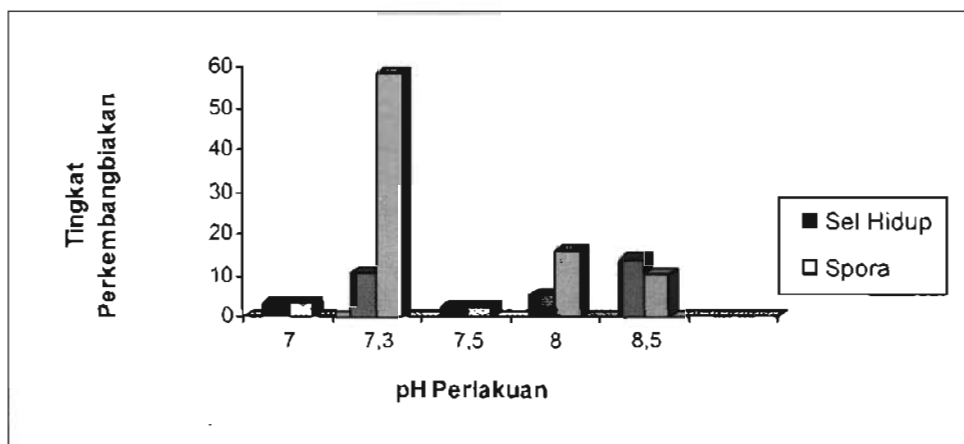
Hasil

Buah kelapa (*C. nucifera*) terdapat di sepanjang pantai Desa Kunir Rejo, Kabupaten Purworejo yang memiliki kandungan nutrisi yang kompleks sehingga dapat menjadi salah satu media pengembangbiakan *B. thuringiensis* H-14 galur lokal. Pada dasarnya pohon kelapa terdapat di sepanjang pantai. Pohon - pohon kelapa tersebut mapu tumbuh dari ketinggian 20 – 1000 m dpl. Sampel kelapa yang digunakan dalam penelitian berada pada ketinggian 150 m dpl dan berumur 6 – 8 bulan yang sudah siap dikonsumsi masyarakat dengan berat rata-rata 1 kg. Sedangkan pH tanah pohon kelapa sebesar 8,5.

Jumlah sel hidup dan spora hidup yang diperoleh dari pengembangbiakan *B. thuringiensis* H-14 galur lokal pada media air kelapa dengan kisaran pH 7, 7,3, 7,5, 8, 8,5 disajikan pada Tabel 1 dan Gambar 1.

Tabel.1. Jumlah Sel Hidup dan Spora Hidup *B. thuringiensis* H-14 Galur Lokal Pada Berbagai pH Air Kelapa

pH	Jumlah Sel/ml	Jumlah Spora/ml
7	3.5×10^{10}	3.3×10^{10}
7.3	10.7×10^{10}	58.7×10^{10}
7.5	2.3×10^{10}	2.5×10^{10}
8	5.4×10^{10}	16.1×10^{10}
8.5	13.9×10^{10}	10.1×10^{10}



Gambar 1. Perkembangbiakan Sel dan Spora Hidup *B. thuringiensis* H-14 Galur Lokal Pada Berbagai Kisaran pH Media Air Kelapa

Pada Tabel 1 diperoleh jumlah sel hidup paling banyak pada pH 8,5 yaitu sebesar 13.9×10^{10} sel/ml, dengan jumlah spora sebesar 10.1×10^{10} spora/ml. Jumlah spora terbanyak justru pada pH 7,3 yaitu sebesar 58.7×10^{10} spora/ml, dengan jumlah sel sebesar 10.7×10^{10} sel/ml. Pengembangbiakan *B. thuringiensis* H-14 galur lokal dalam media air kelapa dengan kisaran pH 7, 7,5 dan 8 adalah berturut-turut 3.5×10^{10} sel/ml dan 3.3×10^{10} spora/ml, 2.3×10^{10} sel/ml dan 2.5×10^{10} spora/ml serta 5.4×10^{10} sel/ml dan 16.1×10^{10} spora/ml.

Uji statistik dengan tingkat kepercayaan 95%, menunjukkan pada uji T-test ada beda nyata pada pengembangbiakan sel pada berbagai pH dengan $P=0.23$ ($p>0,05$). Sedangkan pengembangbiakan spora pada berbagai kisaran

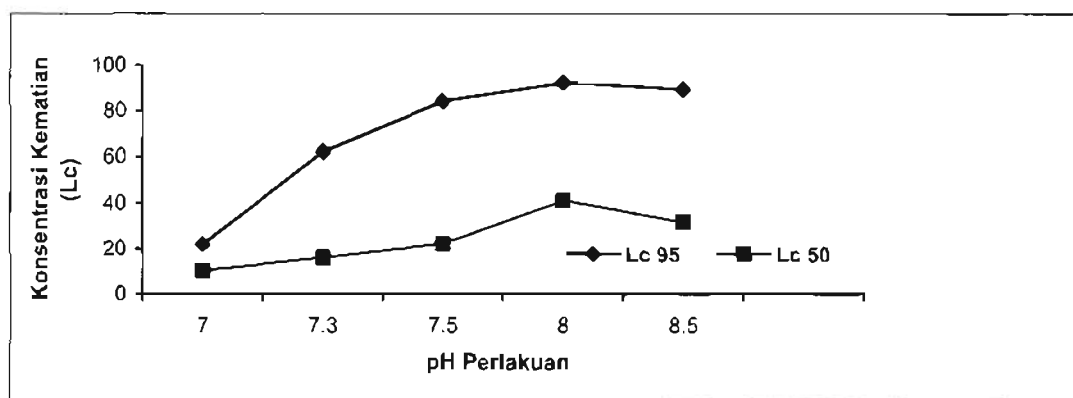
pH menunjukkan beda nyata pula pada $P=0.142$ ($p>0,005$).

Hasil kematian 50% (LC 50) dan 95 % (LC 95) jentik *Ae. aegypti* oleh *B. thuringiensis* H-14 galur lokal pada berbagai kisaran pH disajikan pada Tabel 2 dan Gambar 2.

Kematian jentik *Ae. aegypti* oleh *B. thuringiensis* H-14 galur lokal pada media air kelapa pada pH 7 sebesar LC50 = 10,56 ppm dan LC95 = 22,13 ppm. Kematian 50% dan 95% jentik *Ae. aegypti* pada pH 7,3, 7,5, 8 dan 8,5 adalah sebagai berikut. PH 7,3 adalah sebesar LC50 = 16,10 ppm dan LC95 = 62,16 ppm pada pH 7,3. PH 7,5 sebesar LC50 = 22.23 ppm dan LC95 = 84.05 ppm. PH 8 sebesar LC50 = 41.26 ppm dan LC95 = 92.20 ppm. Sedangkan pH 8,5 adalah sebesar LC50 = 31.79 ppm dan LC95 = 89.32 ppm (Tabel 2).

Tabel 2. Kematian Jentik *Aedes aegypti* oleh *B. thuringiensis* H-14 Galur Lokal Pada Berbagai pH Air Kelapa Selama 24 Jam Pengujian

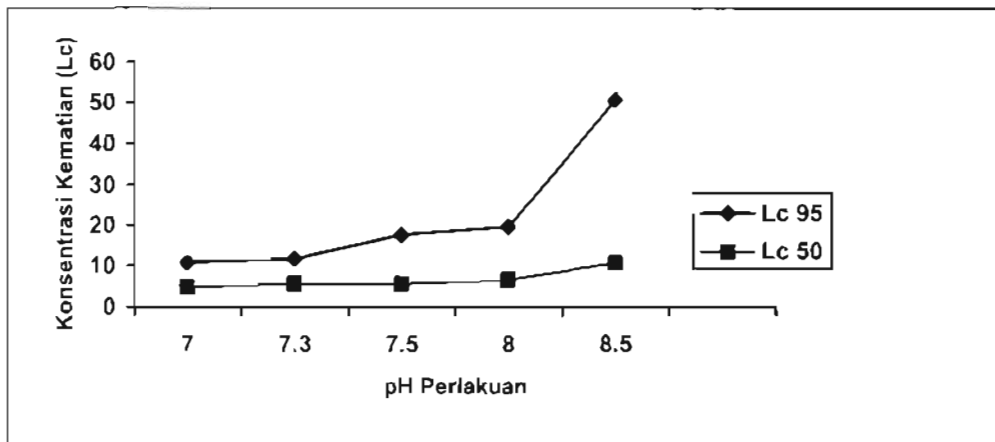
PH	Konsentrasi kematian (ppm)	
	LC50	LC95
7	10.56	22.13
7.3	16.10	62.16
7.5	22.23	84.05
8	41.26	92.20
8.5	31.79	89.32



Gambar 2. Kematian Jentik *Ae. aegypti* oleh *B. thuringiensis* H-14 Galur Lokal Pada Berbagai pH Air Kelapa

Tabel 3. Kematian Jentik *Anopheles aconitus* oleh *B. thuringiensis* H-14 Galur Lokal Pada Berbagai pH Air Kelapa Selama 24 Jam Pengujian

PH	Konsentrasi kematian (ppm)	
	LC50	LC95
7	5,0	11,0
7.3	6,0	12,0
7.5	6,0	18,0
8	7,0	20,0
8.5	11,0	51,0



Gambar 3. Kematian Jentik *An. aconitus* oleh *B. thuringiensis* H-14 Galur Lokal Pada Berbagai pH Air Kelapa

Bacillus thuringiensis H-14 galur lokal yang dikembangbiakan dalam media air kelapa pada pH 7 membutuhkan konsentrasi yang lebih kecil dibandingkan dengan pH 7,3, 7,5, 8 dan 8,5 untuk membunuh jentik *Ae. aegypti* yaitu LC50 = 10,56 ppm dan LC95 = 22,13 ppm. Hasil kematian 50% (LC 50) dan 95% (LC 95) jentik *An. aconitus* oleh *B. thuringiensis* H-14 galur lokal pada berbagai kisaran pH disajikan pada Tabel 3 dan Gambar 3.

Tabel 3 menunjukkan bahwa *B. thuringiensis* H-14 yang dikembangbiakan pada media air kelapa pH 7 masih membutuhkan konsentrasi yang lebih kecil untuk membunuh jentik *An. aconitus* dibandingkan dengan pH 7,3 pH 7,5, pH 8 dan pH 8,5 yaitu sebesar LC50 = 5,0 ppm dan LC95 = 11,0 ppm. Walaupun demikian ke empat pH tersebut masih membutuhkan konsentrasi yang lebih kecil untuk membunuh

jentik *An. aconitus* dibandingkan jentik *Ae. aegypti*. Kematian 50% dan 95% jentik *An. aconitus* pada pH 7,3, 7,5, 8 dan 8,5 adalah sebagai berikut. PH 7,3 adalah sebesar LC50 = 6,0 ppm dan LC95 = 12,0 ppm. PH 7,5 sebesar LC50 = 6,0 ppm dan LC95 = 18,0 ppm. PH 8 sebesar LC50 = 7.0 ppm dan LC95 = 20 ppm. Sedangkan pH 8,5 adalah sebesar LC50 = 11.0 ppm dan LC95 = 51.0 ppm (Tabel 3).

Hasil analisis kandungan air kelapa yang dilakukan di Laboratorium Kesehatan Semarang, menunjukkan bahwa air kelapa dari Purworejo ini memiliki kandungan karbohidrat sebesar 1,92%, kadar lemak 0.01%, kadar gula reduksi 1,87% dan kandungan protein sebesar 0,06%.

Pembahasan

Jumlah sel dan spora hidup *B. thuringiensis* H-14 galur lokal yang diperoleh pada ke 5 pH

media air kelapa (pH 7,7,3, 7,5, 8 dan 8,5) tidak sama (Tabel 1). Pengembangbiakan sel dan spora *B. thuringiensis* H-14 galur lokal cukup variatif pada berbagai kisaran pH. Jumlah sel dan spora hidup terbanyak pada pH 8,5 yaitu 13.9×10^{10} sel/ml dan pH 7,3 (58.7×10^{10} spora /ml). Setelah dilakukan uji T test maka ada beda nyata pengembangbiakan sel hidup *B. thuringiensis* H-14 galur lokal pada berbagai pH ($p > 0,05$). Begitupula ada beda nyata antara jumlah spora hidup *B. thuringiensis* H-14 galur lokal pada berbagai pH yang diperoleh ($p > 0,05$). Hal ini kemungkinan disebabkan oleh adanya ketersediaan jumlah karbohidrat, kadar gula reduksi dan kandungan protein yang tidak sama pada media air kelapa dari berbagai pH. Seperti telah diketahui unsur-unsur tersebut merupakan sumber yang penting dalam pengembangbiakan sel hidup *B. thuringiensis* H-14 galur lokal. Hal ini didukung pula oleh Stenbus dalam Treselia¹ yang menyatakan bahwa kandungan karbohidrat, asam amino dibutuhkan untuk pengembangbiakan *B. thuringiensis* H-14.

Walaupun jumlah sel dan spora hidup tidak sama pada berbagai pH, hal ini tidak merupakan prinsip. Yang lebih penting adalah toksisitas (*bioassay test*) dari bakteri tersebut dalam menentukan aktivitas larvasidanya. Hal ini pula didukung oleh Bulla dkk dalam Blondine² yang menyatakan bahwa hasil pengujian toksisitas lebih penting untuk menentukan aktivitas larvasidanya.

Bacillus thuringiensis H-14 galur lokal yang dikembangbiakan dalam media air kelapa pada pH 7 membutuhkan konsentrasi yang lebih kecil untuk membunuh jentik *Ae. aegypti* yaitu LC 50 = 10.56 ppm dan LC95 = 22.13 ppm dibandingkan dengan ke 4 pH lain (pH 7,3, 7,5, 8, dan 8,5) selama 24 jam pengujian (Tabel 2). Hal ini mungkin disebabkan oleh reaksi patogenisitas yang berada di dalam usus tengah jentik pada berbagai media pH tidak sama.

Pada Tabel 3 terlihat pula *B. thuringiensis* H-14 galur lokal yang dikembangbiakan dalam media air kelapa pada berbagai pH (7,7,3,7,5,8 dan 8,5) ternyata membutuhkan konsentrasi yang tidak sama untuk membunuh 50% dan 95% jentik *An. aconitus*. Konsentrasi terkecil diperoleh pada pH 7 yaitu membutuhkan LC50 = 5,0 dan LC95 = 11,0 ppm untuk membunuh jentik *An. aconitus* selama 24 jam pengujian. Konsentrasi *B. thuringiensis* H-14 galur lokal yang dibutuhkan

untuk membunuh jentik *An. aconitus* dari berbagai pH lebih kecil dibandingkan dengan konsentrasi yang dibutuhkan untuk membunuh jentik *Ae. aegypti*. Hal ini mungkin disebabkan oleh pengaruh perilaku makan jentik dan tingkat sedimentasi/pengendapan *B. thuringiensis* H-14 galur lokal terhadap kematian jentik *An. aconitus*. Kemungkinan lain adalah sampai dengan beberapa hari jumlah sel dan spora masih berada di permukaan air yang merupakan sasaran makan jentik *An. aconitus*.

Hubungan antara kristal protein yang dihasilkan dengan jentik serangga sasaran sangat spesifik. Begitupula lingkungan usus tengah serangga sangat berperan dalam menentukan spesivitas serangga. Hal ini didukung oleh Jaquet dalam Blondine¹¹ yang melaporkan bahwa tiga faktor yang menentukan potensi deltaendotoksin *B. thuringiensis* adalah asal toksin (galur *B. thuringiensis*), kemampuan cairan usus untuk melarutkan kristal protein serta kerentanan serangga sasaran terhadap toksin.

Strain bakteri dan spesies serangga yang diuji merupakan faktor yang berpengaruh pula pada toksisitas bakteri tersebut. Faktor pada bakteri adalah struktur kristal yang tersusun oleh protein, susunan molekul asam amino dan karbohidrat yang mempunyai ikatan yang lebih mudah dipecah oleh enzim protease yang dihasilkan oleh serangga. Faktor yang ada pada serangga yang dapat mempengaruhi toksisitas *B. thuringiensis* adalah pH yang dapat mempengaruhi kelarutan kristal protein serta enzim protease yang ada dalam saluran pencernaan serangga untuk melarutkan kristal protein menjadi molekul yang toksik.¹

Walaupun terdapat perbedaan jumlah sel, jumlah spora hidup dan LC50, LC95 diantara ke lima pH (7, 7,3, 7,5, 8 dan 8,5) media air kelapa, tetapi ke lima pH tersebut dapat digunakan sebagai kisaran pH bagi perkembangbiakan *B. thuringiensis* H-14 dengan pH 7 sebagai pH optimum. Ini disebabkan perkembangbiakan *B. thuringiensis* H-14 galur lokal pada media air kelapa pH 7, membutuhkan konsentrasi yang lebih kecil untuk membunuh jentik nyamuk *Ae. aegypti* dan *An. aconitus*.

Kandungan nutrisi seperti karbohidrat 1,92%, lemak 0,01%, kadar gula reduksi 1,87% dan protein 0,06% yang diperoleh dari air kelapa merupakan kandungan yang berpengaruh

bagi perkembangbiakan *B. thuringiensis* H-14 galur lokal.

Kesimpulan

Bacillus thuringiensis H-14 galur lokal dapat dikembangbiakan dalam media air kelapa pada kisaran pH 7 – 8,5 dengan pH optimum 7.

Ucapan Terima Kasih

Pada kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih kepada kepala Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Vektor dan Reservoir Penyakit (B2P2VRP), Salatiga yang telah memberi kesempatan terlaksananya penelitian ini. Teknisi yang telah membantu pelaksanaan penelitian di lapangan dan laboratorium mikrobiologi B2P2VRP. Rasa terima kasih ditujukan pula kepada Kepala Dinas Kesehatan Kabupaten Purworejo yang telah memberikan izin untuk melaksanakan penelitian ini.

Daftar Pustaka

1. Trizelia, Pemanfaatan *Bacillus thuringiensis* H-14 untuk Pengendalian Hama *Crocidolomia binotalis*, IPB, Bogor, 2001.
2. Blondine Ch.P. dan Damar, T.B., Pengendalian Vektor (Larva) Demam Berdarah Dengue, Malaria dan Filariasis Menggunakan Strain Lokal *Bacillus thuringiensis* varietas *israelensis*. Jurnal Kedokteran YARSI., 2000, 8 (1), 72 – 79.
3. Blondine Ch.P, Yohanes Sudini dan Hono Wiyono. Partisipasi Masyarakat dalam Membiakkan Bioinsektisida *Bacillus thuringiensis* H-14 Galur Lokal dalam Buah Kelapa untuk mengendalikan Jentik Vektor Malaria *Anopheles sundaicus* di kampung Laut, Kabupaten Cilacap. Jurnal Kedokteran YARSI., 2005, 13 (2), 184 – 190.
4. Misfit Putrina dan Fardedi. Pemanfaatan Air Kelapa dan Air rendaman Kedelai Sebagai Media Perbanyak Bakteri *Bacillus thuringiensis* Barliner. Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian Indonesia. 2007. 9(1), 64-70.
5. Chillcott C.N & J.S Pillai, *The Use of Coconut Wastes for Production of Bacillus thuringiensis H-14 var.israelensis.*, Mircen Journal, New Zeland, 1985.
6. Widyastuti, U, Blondine Ch.P, Pengaruh PH dan Suhu Penyimpanan Terhadap Aktivitas Larvasida *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* di Laboratorium. Jurnal Kedokteran YARSI, 2004.
7. Blondine Ch.P. Patogenisitas 2 Formulasi (bubu 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/
8. Finney, D.J., "Probit Analysis", 3rd, ed., Cambridge Univ. Press. London, 1971.
9. Hanafiah, K.A., "Rancangan Percobaan : Teori dan Aplikasi", Raja Grafindo Persada, Jakarta, 1991, 9-10.
10. Kemas, A.H. Rancangan Percobaan Teori dan Aplikasi. Jakarta. Rajawali Press. 1993. hal.135
11. Blondine Ch.P. Efektivitas Vectobac 12 AS (*Bt* H-14) dan *Bacillus thuringiensis* H-14 Terhadap Vektor Malaria An. *maculatus* di Kobakan Desa Hargotirto, Kecamatan Kokap, Kabupaten Kulon Progo. Buletin Penelitian Kesehatan. 2004. 32(1)17-28.