

## **Efektivitas Stabilitas *Bacillus thuringiensis* H-14 Isolat Salatiga Sediaan Bubuk Terhadap Jentik *Anopheles* SPP. di Kabupaten Purworejo**

### ***STABILITY EFFECTIVENESS STABILITY OF SALATIGA BACILLUS THURINGIENSIS H-14 ISOLATE IN POWDER PREPARATION AGAINST PURWOREJO ANOPHELES SPP. LARVAE IN PURWOREJO DISTRICT***

Arief Nugroho\*, Arum Triyas Wardani, Rendro Wianto, Warido, dan Subiantoro

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Vektor dan Reservoir Penyakit  
Jl. Hasanudin No.123 Salatiga 50721, Jawa Tengah, Indonesia

\*Email : ariefnugroho12@gmail.com

*Submitted : 04-03-2020, Revised : 23-07-2020, Revised : 27-08-2020, Accepted : 29-09-2020*

#### **Abstract**

*Malaria is a vector-borne disease that is still a health problem in Indonesia. Control of vector mosquito larvae using *Bacillus thuringiensis* (Bt H-14) is an alternative biolarvicide. B2P2VRP has developed Salatiga Bt H-14 isolate in powder preparation which need to be tested for effectiveness stability. This study aims to determine the effectiveness stability of Salatiga powder Bt H-14 isolate against larvae of *Anopheles* spp. Preparation of Salatiga powder Bt H-14 isolate and its bioassay test against larvae of *Anopheles aconitus* were carried out at laboratory of the B2P2VRP. The stability test was carried out at the laboratory of UII Yogyakarta. The stability effectiveness test was carried out in the field in Purworejo using *Anopheles* spp. larvae taken in the field. The bioassay test ( $LC_{90}$ ) at initial and after stored at  $54^{\circ}C \pm 2^{\circ}C$  for two weeks were 6.485 ppm and 13.009 ppm, respectively. The study showed the effectiveness of stability decreased on days 2 and 3 (<70%) at dose of 26,018 ppm because of rain. Statistical test showed a difference in the effectiveness of reducing larvae mortality at days 2 and 3. The study confirmed the reduction of effectiveness of Salatiga powder Bt H-14 Isolate after stability test.*

*Keywords: Anopheles larvae, Bacillus thuringiensis, effectiveness, Purworejo, stability*

#### **Abstrak**

Malaria merupakan salah satu penyakit tular vektor yang masih menjadi masalah kesehatan di Indonesia. Pengendalian jentik nyamuk vektor menggunakan *Bacillus thuringiensis* (Bt H-14) merupakan salah satu biolarvisida alternatif. B2P2VRP telah mengembangkan Bt H-14 isolat Salatiga sediaan bubuk maka perlu diuji stabilitas. Penelitian ini bertujuan menentukan efektivitas stabilitas Bt H-14 isolat Salatiga sediaan bubuk terhadap jentik *Anopheles* spp di lapangan. Pembuatan Bt H-14 Isolat Salatiga sediaan bubuk dan uji bioassay terhadap jentik *Anopheles aconitus* dilakukan di laboratorium B2P2VRP. Uji stabilitas dilakukan di laboratorium UII Yogyakarta. Uji efektivitas stabilitas dilakukan di Purworejo menggunakan jentik *Anopheles* spp. yang diambil di lapangan. Hasil uji bioassay ( $LC_{90}$ ) sebelum dan setelah penyimpanan suhu  $54^{\circ}C \pm 2^{\circ}C$  selama 2 minggu adalah 6,485 ppm dan 13,009 ppm. Hasil menunjukkan efektivitas stabilitas menurun pada hari ke 2 dan 3 (<70%) pada dosis 26,018 ppm adanya pengaruh hujan. Uji statistik menunjukkan adanya perbedaan efektivitas penurunan kematian jentik saat hari ke 2 dan 3. Hasil penelitian menunjukkan adanya penurunan efektivitas dari Bt H-14 Isolat Salatiga sediaan bubuk setelah dilakukan uji stabilitas.

Kata kunci : *Anopheles larvae, Bacillus thuringiensis, efektivitas, Purworejo, stabilitas*

## PENDAHULUAN

Kasus malaria ditemukan di seluruh wilayah Indonesia. Berdasarkan nilai *Annual Parasite Incidence* (API), secara nasional selama tahun 2009-2017 cenderung menurun dari 1,8 per 1000 penduduk tahun 2009 menjadi 0,99 per 1000 penduduk pada tahun 2017.<sup>1</sup> Di Provinsi Jawa Tengah, tercatat nilai API pada tahun 2017 sebesar 0,03 per 1000 penduduk. Akan tetapi, dari 35 kabupaten/kota di Jawa Tengah masih terdapat 6 Kabupaten yang masuk dalam fase pembebasan malaria yaitu Purworejo, Banjarnegara, Kebumen, Banyumas, Cilacap dan Purbalingga.<sup>2</sup> Kabupaten Purworejo merupakan salah satu daerah dengan kasus malaria di Provinsi Jawa Tengah. Pada tahun 2016 terdapat 423 kasus dengan nilai API sebesar 0,59 per 1000 penduduk. Angka ini menurun dibandingkan dengan tahun 2015 dengan kasus malaria sebanyak 651 kasus.<sup>3</sup>

Salah satu upaya eliminasi malaria yang dapat dilakukan adalah pengendalian jentik nyamuk vektor malaria. Penggunaan insektisida kimia untuk pengendalian vektor dalam jangka waktu lama dan frekuensi tinggi akan menimbulkan dampak negatif seperti munculnya resistensi vektor, pencemaran lingkungan, efek buruk pada manusia, ataupun kematian organisme yang bukan sasaran.<sup>4,5</sup> Salah satu metode pengendalian secara biologi adalah menggunakan biolarvisida *Bacillus thuringiensis* (H-14) atau *Bt* H-14. *Bti* menghasilkan kristal protein yang tersusun atas racun Cry dan Cyt yang bersifat toksik terhadap jentik nyamuk. Kristal protein apabila termakan oleh jentik nyamuk akan berikatan dengan sel epitel usus dan mengakibatkan lubang pada usus sehingga jentik mati.<sup>6,7</sup>

Balai Besar Litbang Vektor dan Reservoir Penyakit (B2P2VRP) telah mengisolasi isolat *Bacillus thuringiensis* yang telah diambil dari berbagai habitat tanah di Kota Salatiga, Kabupaten Purworejo dan Kabupaten Flores Timur. Hasil uji serologi dan uji patogenitasnya terhadap jentik nyamuk vektor didapat *B.thuringiensis* H-14 mampu membunuh jentik nyamuk *Aedes aegypti* dan *Culex quinquefasciatus*.<sup>8</sup> B2P2VRP juga mengembangkan *Bt* H-14 isolat Salatiga berbentuk sediaan cair dan bubuk yang telah

terbukti efektif membunuh jentik nyamuk *Cx.quinquefasciatus*.<sup>9</sup> *Bacillus thuringiensis israelensis* sediaan bubuk juga telah diuji efektif mengurangi kepadatan larva nyamuk di daerah malaria.<sup>10</sup> Pengembangan *Bt* H-14 sediaan bubuk mempunyai kelebihan antara lain mempunyai masa simpan yang lama, dan mudah larut dalam air.<sup>11</sup> Selain itu, pengembangan *Bt* H-14 sediaan bubuk menyesuaikan dengan perilaku makan dari jentik *Anopheles* yang mengambil makanan di permukaan air.<sup>12</sup>

Sediaan bubuk *Bt* H-14 Isolat Salatiga yang telah dibuat perlu dilanjutkan dengan uji stabilitas. Uji stabilitas dilakukan untuk memastikan kualitas, keamanan dan manfaat suatu sediaan memenuhi spesifikasi yang diharapkan serta stabil selama penyimpanan. Uji stabilitas dalam penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh penyimpanan yang meliputi suhu dan kelembaban terhadap efektivitas sediaan bubuk *Bt* H-14 Isolat Salatiga dan menjamin produk tetap memiliki kualitas yang sama pada saat pengiriman.<sup>13</sup> Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan efektivitas stabilitas *Bt* H-14 isolat Salatiga sediaan bubuk terhadap jentik *Anopheles* spp. yang berasal dari Purworejo.

## BAHAN DAN METODE

Jenis penelitian adalah penelitian intervensi yang menggunakan desain penelitian berupa eksperimental murni. Pembuatan sediaan bubuk *Bt* H-14 isolat Salatiga dan uji *bioassay* dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi B2P2VRP, uji efektivitas lapangan dilakukan di Dusun Pager Gunung, Desa Kedung Pomahan Kulon, Kecamatan Kemiri, Kabupaten Purworejo, Jawa Tengah. Uji stabilitas *Bt* H-14 Isolat Salatiga sediaan bubuk dilakukan di Laboratorium pengujian obat, makanan, dan kosmetika Universitas Islam Indonesia (UII) Yogyakarta. Waktu penelitian dilakukan pada Bulan Juli-November 2017.

### Alat dan Bahan

Alat meliputi : jarum ose, cawan petri, *magnetic stirrer*, tabung Erlenmeyer, *object glass*, autoklaf, mikroskop, *fermentor* (New Brunswick scientific), *shaker* (Biosan), *freeze dryer* (*VirTis*

*Freezmobile* Sentry 2.0 25el), pipet, tray, senter, diper, dan mangkok plastik. Sedangkan bahan meliputi : isolat *B. thuringiensis* H-14 isolat Salatiga, *Nutrient agar*, *Tryptose Phosphate Broth* (TPB), spiritus, Naphthalene Black, Gurr's Giemsa R66, akuades, kapas, aluminium foil, alkohol 70%, dan NaCl steril. Jentik yang digunakan untuk uji *bioassay* di laboratorium adalah jentik *Anopheles aconitus* yang dipelihara di laboratorium B2P2VRP sedangkan untuk uji efektivitas menggunakan jentik *Anopheles* spp. yang didapat dari lapangan.

## Cara Kerja

### 1. Proses pembuatan bubuk Bt H-14 Isolat Salatiga

Proses pembuatan bubuk *Bti* Isolat Salatiga dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi B2P2VRP. Proses dilakukan dengan cara kultur murni *B.thuringiensis* diinkubasi pada media *plate nutrient agar* (NA) selama 2 hari pada suhu 30°C. Kemurnian diamati melalui pengecatan dengan metode Chilcott dan Wigley. Koloni dianggap murni jika penampakan makroskopis tanpa kontaminan dan pengamatan mikroskopis menunjukkan keberadaan kristal protein toksin dan spora. Kultur kemudian ditransfer sebanyak empat ose pada media TPB 200 ml dilanjutkan dengan penggojogan pada agitasi 170 rpm dan temperatur 30°C selama 24 jam. Selanjutnya kultur diambil sebagai sampel untuk diamati keberadaan kristal protein toksin dan spora serta ketiadaan kontaminan. Kemudian kultur diambil 20 ml dipindahkan pada 180 ml TPB dan dibuat menjadi tiga tabung Erlenmeyer 2 liter dan digojog pada agitasi 170 rpm dan temperatur 30°C selama 22 jam. Pengamatan dengan pengecatan kembali dilakukan setelah inkubasi 1 hari. Setelah itu kultur sebanyak 400 ml dipindahkan lagi ke dalam 3,8 liter media TPB dalam fermentor dengan putaran 170 rpm pada dO<sub>2</sub> 10%, selama 24 jam. Kultur dipanen dan diputar dengan sentrifuse pada 4000 rpm selama 15 menit pada temperatur 4°C untuk dibuang supernatannya. Endapan atau pelet dicuci dengan larutan NaCl 0,85%. Tabung berisi pelet diisi dengan 1 ml larutan NaCl kemudian diputar dengan sentrifuse pada 4000 rpm selama 15

menit pada temperatur 4°C dan supernatan yang dihasilkan kembali dibuang. Proses pencucian di atas diulang sekali lagi kemudian pelet yang dihasilkan dikeringkan dengan *freeze dryer* hingga menjadi bubuk. Sediaan bubuk ditimbang dan dikemas dalam kemasan aluminium foil.

### 2. Uji bioassay laboratorium

Uji *bioassay* dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi B2P2VRP. Pengujian *bioassay* terdiri dari kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Masing masing, baik kontrol maupun perlakuan menggunakan 4 ulangan. Kelompok kontrol dan perlakuan disiapkan dengan mengisi mangkok enamel dengan 200 ml akuades, kemudian ditambahkan 20 ekor jentik *Anopheles aconitus* instar 3 akhir yang dipelihara di laboratorium B2P2VRP. Kelompok kontrol diperlakukan tanpa pemberian *Bt* H-14 isolat Salatiga sediaan bubuk. Dosis uji *Bt* H-14 isolat Salatiga sediaan bubuk yang digunakan terhadap kelompok perlakuan adalah 0,5 ppm; 1 ppm; 2 ppm; 4 ppm; 6 ppm; dan 8 ppm. Dalam pembuatan larutan stok sediaan bubuk yang diperoleh, dibuat pengenceran dengan cara melarutkan 200 mg sediaan bubuk kedalam 200 ml akuadest steril. Larutan kemudian dibuat homogen menggunakan shaker. Kematian jentik diamati selama 24 jam. Untuk menentukan nilai *Lethal Concentration* (LC)/daya bunuh pada 50% dan 90% kematian jentik nyamuk dilakukan analisis Probit.

### 3. Uji stabilitas

Uji stabilitas dilakukan di Laboratorium pengujian obat, makanan, dan kosmetika Universitas Islam Indonesia (UII) Yogyakarta. Uji stabilitas pada penelitian ini memakai metode uji stabilitas dipercepat pada suhu 54°C ± 2 °C selama 2 minggu mengacu pada WHO dan FAO tentang pedoman pengembangan pestisida.<sup>14</sup> Terhadap sediaan bubuk *B.thuringiensis* H-14 isolat Salatiga, sebanyak 2 gram yang sudah dikemas dan disegel dilakukan uji stabilitas dengan cara menyimpan produk dalam suhu 54°C ± 2 °C selama 2 minggu dalam *climate chamber*. Setelah 2 minggu, sediaan bubuk *B.thuringiensis* H-14 isolat Salatiga tersebut dilakukan uji *bioassay* dan uji efektivitasnya kembali.

#### 4. Uji efektivitas lapangan

Hasil uji *bioassay* di laboratorium ( $LC_{90}$ ) sediaan bubuk *B. thuringiensis* H-14 Isolat Salatiga diaplikasikan di kobakan-kobakan perindukan jentik *Anopheles* yang ada di lapangan dengan dosis yang bertingkat. Pada kelompok perlakuan dan kontrol masing-masing digunakan kobakan yang ada di lapangan dengan luas berkisar 0,06 – 1,20 m<sup>2</sup>. Aplikasi dilakukan dengan menggunakan sentinel. Sentinel merupakan wadah berbentuk tabung yang terbuat dari kawat ram yang ditutupi oleh kain tile polos sebagai tempat pengujian jentik nyamuk di lapangan. Sentinel tersebut diletakkan ke dalam kobakan. Pada kelompok perlakuan diberikan jentik nyamuk *Anopheles* spp. yang dikoleksi di lapangan sebanyak 20 ekor jentik di tiap kobakan di dalam sentinel dan diberikan *Bt* H-14 isolat Salatiga sediaan bubuk, sedangkan kelompok kontrol negatif hanya diberi jentik nyamuk *Anopheles* spp. tanpa pemberian *Bt* H-14 isolat Salatiga sediaan bubuk. Pengujian dilakukan sebanyak 6 perlakuan dengan 5 ulangan dan 4 kontrol. Pengamatan dilakukan dengan melihat jumlah kematian jentik *Anopheles* spp. yang berada di dalam sentinel. Pengamatan dilakukan sebelum aplikasi, serta 1,2,3 hari sesudah aplikasi. Untuk mengetahui efektivitas *B. thuringiensis* H-14 isolat Salatiga sediaan bubuk, persentase reduksi dihitung dengan menggunakan formula Mulla.<sup>15,16</sup>

#### Analisis Data

Untuk menentukan nilai  $LC_{90}$  *Bt* H-14 isolat Salatiga, data dianalisis Probit menggunakan SPSS. Uji statistik Kruskal Wallis untuk mengetahui perbedaan efektivitas penurunan kematian jentik *Anopheles* spp. sebelum dan sesudah uji stabilitas dilakukan menggunakan SPSS versi 17.0. Persentase penurunan kematian

jentik *Anopheles* spp. di lapangan dihitung menggunakan rumus Mulla yaitu<sup>16</sup> :

$$\text{Persen penurunan} = 100 - \frac{C1 \times T2}{C2 \times T1} \times 100, \text{ dimana :}$$

C1 = jumlah jentik *Anopheles* pada kobakan kontrol sebelum aplikasi

C2 = jumlah jentik *Anopheles* pada kobakan kontrol sesudah aplikasi

T1 = jumlah jentik *Anopheles* pada kobakan perlakuan sebelum aplikasi

T2 = jumlah jentik *Anopheles* pada kobakan perlakuan sesudah aplikasi

#### HASIL

Hasil uji *bioassay* di laboratorium di dapat nilai  $LC_{50}$  dan  $LC_{90}$  *Bt* H-14 Isolat Salatiga sediaan bubuk terhadap *An.aconitus* selama 24 jam pada berbagai konsentrasi *Bti* sebelum dan sesudah dilakukan uji stabilitas seperti terlihat pada Tabel 1 berikut.

Hasil uji efektivitas *Bt* H-14 Isolat Salatiga sediaan bubuk terhadap *Anopheles* spp. di lapangan sebelum dilakukan uji stabilitas untuk melihat efek residunya selama 3 hari setelah aplikasi dapat dilihat pada Tabel 2 berikut.

Hasil uji efektivitas *Bt* H-14 Isolat Salatiga sediaan bubuk terhadap *Anopheles* spp. di lapangan setelah dilakukan uji stabilitas untuk melihat efek residunya selama 3 hari setelah aplikasi dapat dilihat pada Tabel 3 berikut.

Hasil uji statistik untuk melihat perbedaan efektivitas penurunan kematian jentik *Anopheles* spp. di lapangan sebelum dan sesudah uji stabilitas menunjukkan pada hari 1 tidak ada perbedaan yang signifikan, sedangkan pada hari ke 2 dan ke 3 menunjukkan adanya perbedaan efektivitas penurunan kematian jentik *Anopheles* spp. di lapangan ( $p$  value < 0,05). Hasil pengujian statistik ditunjukkan pada Tabel 4 berikut.

**Tabel 1. Uji *bioassay* *Bt* H-14 Isolat Salatiga Sediaan Bubuk Menggunakan Jentik *Anopheles aconitus* Sebelum dan Sesudah Uji Stabilitas**

Perlakuan	LC50 (ppm)	Rentang batas		LC90 (ppm)	Rentang batas	
		bawah	atas		bawah	atas
Sebelum uji stabilitas*	2,043	1,715	2,426	6,485	5,136	8,835
Setelah uji stabilitas+	3,38	2,643	4,266	13,009	9,488	20,575

Keterangan : \*sebelum disimpan dalam suhu 54oC ± 2 oC selama 14 hari; +setelah disimpan dalam suhu 54oC ± 2 oC selama 14 hari

**Tabel 2. Uji efektifitas Bt H-14 Isolat Salatiga Sediaan Bubuk Terhadap Jentik *Anopheles* spp di Lapangan Sebelum Uji Stabilitas**

Waktu (hari)	Jumlah jentik <i>Anopheles</i> spp.							Persentase Penurunan					
	K	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T1	T2	T3	T4	T5	T6
0	20	20	20	20	20	20	20						
1	20,0	1,25	0,00	0,00	0,00	0,20	0,00	93,75	100	100	100	99,00	100
2	17,0	2,50	0,20	0,20	0,00	0,00	0,20	85,29	98,82	98,82	100	100	98,82
3	16,0	2,00	2,20	2,00	2,00	2,60	3,60	87,50	86,25	87,50	87,50	83,75	77,50

K = Kontrol; T1 = 4 ppm; T2 = 6,485 ppm (LC90); T3 = 12,97 ppm (LC90 x 2); T4 = 19,455 ppm (LC90 x 3); T5 = 25,94 ppm (LC90 x 4); T6 = 32,425 ppm (LC90 x 5)

**Tabel 3. Uji efektifitas Bt H-14 Isolat Salatiga Sediaan Bubuk Terhadap Jentik *Anopheles* spp di Lapangan Setelah Uji Stabilitas**

Waktu (hari)	Jumlah jentik <i>Anopheles</i> spp.							Persentase Penurunan					
	K	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T1	T2	T3	T4	T5	T6
0	20	20	20	20	20	20	20						
1	20,0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	100	100	100	100	100	100
2	17,0	8,20	9,00	9,00	6,00	5,60	7,00	51,76	47,06	43,53	64,71	67,06	58,82
3	20,0	10,20	12,80	13,40	8,75	9,20	11,00	49,00	36,00	33,00	56,25	54,00	25,00

K = Kontrol; T1 = 6,485 ppm; T2 = 10 ppm; T3 = 13,009 ppm (LC90); T4 = 26,018 ppm (LC90 x 2); T5 = 39,027 ppm (LC90 x 3); T6 = 52,036 ppm (LC90 x 4)

**Tabel 4. Hasil Uji Statistik**

Hasil	Persentase kematian		
	Hari 1	Hari 2	Hari 3
Asymp. Sig.	0,14	0,004*	0,004*

Keterangan : \*signifikan jika  $p \text{ value} \leq 0,05$

## PEMBAHASAN

Pada uji *bioassay* di laboratorium diketahui bahwa konsentrasi daya bunuh ( $LC_{90}$ ) *Bt* H-14 Isolat Salatiga sediaan bubuk menggunakan jentik *An. aconitus* sesudah uji stabilitas nilainya menjadi lebih besar daripada sebelum dilakukan uji stabilitas. Ini berarti efektivitas/kemampuan daya bunuh dari *Bt* H-14 Isolat Salatiga sediaan bubuk sesudah uji stabilitas mengalami penurunan dibandingkan sebelum uji stabilitas. Hasil ini menunjukkan bahwa suhu merupakan salah satu faktor penting yang mempengaruhi degradasi bahan aktif selama penyimpanan.<sup>17</sup> Adanya suhu tinggi dapat mempengaruhi reaksi kimia. Suhu yang tinggi dapat menyebabkan stabilitas suatu sediaan menjadi berkurang.<sup>18,13</sup> Hasil ini sejalan dengan beberapa penelitian yang menunjukkan bahwa suhu di atas 50°C dapat menurunkan viabilitas spora dan kristal protein *B. thuringiensis*.<sup>19,20</sup> Kristal protein yang

mengandung racun tersebut saat termakan oleh jentik nyamuk akan merusak saluran pencernaan sehingga menyebabkan kematian pada jentik.<sup>7,21</sup>

Rata-rata suhu air selama pengamatan lapangan sebelum uji stabilitas sebesar 28,87°C, pH air rata-rata sebesar 8,25, salinitas air sebesar 0‰ dan kelembaban udara rata-rata sebesar 64,34%; sedangkan rata-rata suhu air di lapangan setelah uji stabilitas sebesar 28,73°C, pH air rata-rata sebesar 8,57, salinitas air sebesar 0‰ dan kelembaban udara rata-rata sebesar 78,36%. Kondisi lingkungan pada saat pengujian yaitu pH air, suhu air dan kelembaban udara tidak berpengaruh secara signifikan terhadap efektivitas sediaan bubuk *Bacillus thuringiensis* H-14 terhadap jentik *Anopheles* spp. berdasarkan hasil penelitian di Kulon Progo.<sup>22</sup> Ada faktor lain yang mempengaruhi efektivitas *B. thuringiensis* H-14 seperti kejernihan air saat pengujian di lapangan. Pada kondisi air yang bersih, *B. thuringiensis* H-14 efektif selama 7-17 hari, sedangkan pada

air yang tercemar polusi mampu efektif 4-7 hari.<sup>23</sup> Adanya vegetasi dapat mempengaruhi kondisi air saat pengujian. Vegetasi yang ditemukan saat uji lapangan adalah lumut dan dedaunan kering. Vegetasi perairan dapat menjadi habitat yang ideal untuk perkembangbiakan jentik nyamuk.<sup>24</sup> Hal ini menunjukkan bahwa selain pengaruh konsentrasi *Bt* H-14 yang diberikan, adanya kondisi lingkungan juga memberikan pengaruh pada toksisitas biolarvisida.<sup>25,26</sup>

Hasil efek residu saat pengujian di lapangan sebelum uji stabilitas menunjukkan bahwa pada saat hari ke 2 dan ke 3 sudah terjadi penurunan. Konsentrasi 19,45 ppm ( $LC_{90}$  labx 3) masih mampu membunuh jentik *Anopheles* spp. >70% hingga hari ke 3. Kemampuan efek residu *Bt* H-14 bergantung pada konsentrasi *Bt* H-14 yang diberikan. Hasil uji statistik menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan signifikan efektivitas bubuk *Bt* H-14 terhadap jentik *Anopheles* spp. pada pengamatan hari pertama, namun terdapat perbedaan signifikan pada pengamatan hari kedua dan ketiga untuk pengujian di lapangan. Perbedaan efektivitas tersebut bisa disebabkan oleh menurunnya kristal *Bt* H-14 akibat pengaruh penyimpanan, atau bisa juga disebabkan oleh faktor menurunnya konsentrasi *Bt* H-14 karena pengaruh hujan. Kendala di lapangan adalah saat dilakukan pengujian *Bt* H-14 Isolat Salatiga sediaan bubuk sesudah uji stabilitas dilakukan pada bulan Oktober 2017. Bulan tersebut sudah memasuki musim penghujan. Pada saat pengujian di lapangan turun hujan saat malam hari sebelum pengamatan hari ke 2 dan ke 3. Hal ini berdampak pada pengenceran *Bt* H-14 Isolat Salatiga sediaan bubuk pada pengamatan hari ke 2 dan 3 sehingga menyebabkan toksisitas *Bt* H-14 menjadi turun mengakibatkan penurunan kepadatan jentik sudah <70 %.

Hasil penelitian di Malaysia menunjukkan bahwa efektivitas residu *Bti* dapat bertahan hingga 2 minggu saat diuji di luar ruangan.<sup>27</sup> Penelitian di Ethiopia melaporkan efektivitas residu *Bti* serbuk mampu membunuh 50% populasi larva hingga 13 hari.<sup>28</sup> Penelitian lain menunjukkan bahwa di habitat alami *Anopheles*, efek residu mampu mengurangi kepadatan pupa *Anopheles* hingga 60-90% selama 3-5 bulan.<sup>29</sup> Efektivitas residu *Bt* H-14 Isolat Salatiga sediaan bubuk di lapangan berdasarkan hasil penelitian ini sejalan

dengan hasil beberapa penelitian di beberapa daerah seperti di Kulon Progo, Indonesia; Ghana; dan Benin yang menyatakan bahwa efek residu dari *Bt* H-14 bertahan selama 3-4 hari.<sup>22,30,31</sup>

## KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan *Bt* H-14 Isolat Salatiga sediaan bubuk efektivitasnya mengalami penurunan pada hari ke 3 (< 70%) setelah dilakukan uji stabilitas.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh DIPA B2P2VRP. Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kepala B2P2VRP yang telah memberikan saran, masukan serta mendukung penelitian ini. Ucapan terima kasih juga ditujukan kepada Kepala Dinas Kesehatan Kabupaten Purworejo dan jajaran stafnya serta Kepala Puskesmas Kemiri beserta stafnya atas bantuan dan kerja sama selama pelaksanaan penelitian lapangan. Ucapan terima kasih juga ditujukan kepada rekan-rekan peneliti dan teknisi B2P2VRP yang telah membantu pelaksanaan penelitian.

## DAFTAR RUJUKAN

1. Kementerian Kesehatan RI. Profil Kesehatan Indonesia Tahun 2017 [Internet]. 2018. Available from: website: <http://www.kemkes.go.id>
2. Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Tengah. Profil Kesehatan Provinsi Jawa Tengah Tahun 2017. Semarang : Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Tengah; 2018.
3. Dinas Kesehatan Kabupaten Purworejo. Profil kesehatan 2016. Purworejo : Dinas Kesehatan Kabupaten Purworejo; 2017.
4. Yuantari MGC, Widianarko B, Sunoko HR. Analisis Risiko Paparan Pestisida Terhadap Kesehatan Petani. Jurnal Kesehat Masyarakat. 2015;10(2):239-45.
5. Liu N. Insecticide Resistance in Mosquitoes: Impact, Mechanisms, and Research Directions. Annual Review of Entomology. 2015;60(1):537-59.
6. Osman GEH, Already R, Assaeedi ASA,

- Organji SR, El-Ghareeb D, Abulreesh HH, et al. Bioinsecticide *Bacillus thuringiensis* a comprehensive review. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*. 2015;25(1):271–88.
7. Zhang Q, Hua G, Adang MJ. Effect and mechanisms of *Bacillus thuringiensis* crystal toxins for mosquito larvae. *Insect Science*. 2016;24(5):714–29.
  8. Blondine Ch.p, Widyastuti U, Widiarti, Sukarno, Subiantoro. Uji Serologi Isolat *Bacillus thuringiensis* dan Patogenisitasnya Terhadap Jentik Nyamuk Vektor. *Buletin Penelitian Kesehatan*. 1999;26(2&3):91–8.
  9. Anggraeni YM, Rahardianingtyas E, Wianto R. *Bioassay* *Bacillus thuringiensis* H-14 Isolat Salatiga Sediaan Bubuk dan Cair Terhadap *Culex quinquefasciatus*. *Vektora*. 2015;7(2):51–6.
  10. Mpofo M, Becker P, Mudambo K, De Jager C. Field effectiveness of microbial larvicides on mosquito larvae in malaria areas of Botswana and Zimbabwe. *Malaria Journal*. 2016;15(1):1–8.
  11. Tamilselvan S, Manonmani AM, Jambulingam P. Fly ash-based water dispersible powder formulation of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*: Development & laboratory evaluation against mosquito immatures. *Indian J Med Res*. 2017;146(6):714–21
  12. Wibowo CI. Efektivitas *Bacillus thuringiensis* dalam Pengendalian Larva Nyamuk *Anopheles* sp. *Biosfera*. 2017;34(1):39
  13. Sayuti NA. Formulasi dan Uji Stabilitas Fisik Sediaan Gel Ekstrak Daun Ketepeng Cina (*Cassia alata* L.). *Jurnal Kefarmasian Indonesia*. 2015;5(2):74–82.
  14. WHO, FAO. Manual on Development and Use of FAO and WHO Specifications for Pesticides. 2010.
  15. Dambach P, Louis VR, Kaiser A, Ouedraogo S, Sié A, Sauerborn R, et al. Efficacy of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* against malaria mosquitoes in northwestern Burkina Faso. *Parasites and Vectors*. 2014;7(371):1–8.
  16. World Health Organization. Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides. World Health Organization Communicable Disease Control, Prevention and Eradication Who Pesticide Evaluation Scheme. 2005. 1–41 p
  17. Moustafa MAM, Saleh MA, Ateya IR, Kandil MA. Influence of some environmental conditions on stability and activity of *Bacillus thuringiensis* formulations against the cotton leaf worm, *Spodoptera littoralis* (Boisd.) (Lepidoptera: Noctuidae). *Egypt J Biol Pest Control*. 2018;28(61):1–7
  18. Zaini AN, Gozali D. Pengaruh Suhu Terhadap Stabilitas Obat Sediaan Suspensi. *Jurnal Farmaka*. 2016;14(2):1–11.
  19. Brar SK, Verma M, Tyagi RD, Valéro JR, Surampalli RY. Starch industry wastewater-based stable *Bacillus thuringiensis* liquid formulations. *J Econ Entomol*. 2005;98(6):1890–8.
  20. Sorokulova IB, Krumnow AA, Pathirana S, Mandell AJ, Vodyanoy V. Novel Methods for Storage Stability and Release of *Bacillus* Spores. *Biotechnol Prog*. 2008;24(5):1147–53.
  21. Palma L, Muñoz D, Berry C, Murillo J, Caballero P. *Bacillus thuringiensis* Toxins: An Overview of Their Biocidal Activity. *Toxins (Basel)*. 2014;6(12):3296–325.
  22. Zaini AN, Gozali D. Pengaruh Suhu Terhadap Stabilitas Obat Sediaan Suspensi. *Jurnal Farmaka*. 2016;14(2):1–11.
  23. Wardani AT, Anggraeni YM, Nugroho A, Wianto R, Rahardianingtyas E. Pengaruh kondisi lingkungan terhadap efektivitas *Bacillus thuringiensis* H-14 Isolat Salatiga sediaan serbuk untuk pengendalian jentik *Anopheles* spp di Kabupaten Kulon Progo. *Vektora*. 2019;11(2):103–10.
  24. Urabayala S, Kamaraju R, Tiwari S, Ghosh SK, Valecha N. Field testing & evaluation of the efficacy & duration of effectiveness of a biolarvacide, Bactivec® SC (*Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* SH-14) in Bengaluru, India. *Indian Journal of Medical Research* [Internet]. 2018;147:299–307. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23144490>
  25. Ma M, Huang M, Leng P. Abundance and distribution of immature mosquitoes in urban rivers proximate to their larval habitats. *Acta Tropica* [Internet]. 2016;163:121–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2016.08.010>

26. Zequi J, Lopes J, Santos FP, Vilas-Boas GT. Efficacy and persistence of two *Bacillus thuringiensis israelensis* formulations for the control of *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) under simulated field conditions. *International Journal of Mosquito Research*. 2015;2(3):05–9.
27. Zogo B, Tchiekoi BNC, Koffi AA, Dahounto A, Ahoua Alou LP, Dabiré RK, et al. Impact of sunlight exposure on the residual efficacy of biolarvicides *Bacillus thuringiensis israelensis* and *Bacillus sphaericus* against the main malaria vector, *Anopheles gambiae*. *Malaria Journal* [Internet]. 2019;18(1):1–9. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12936-019-2687-0>
28. Lau KW, Chen CD, Lee HL, Sofian-Azirun M. Evaluation of insect growth regulators, temephos and *Bacillus thuringiensis israelensis* against *Aedes aegypti* (L) in plastic containers. *Tropical Biomedicine*. 2015;32(4):684–92.
29. Demissew A, Balkew M, Girma M. Larvicidal activities of chinaberry, neem and *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) to an insecticide resistant population of *Anopheles arabiensis* from Tolay, Southwest Ethiopia. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* [Internet]. 2016;6(7):554–61. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.apjtb.2016.03.013>.
30. Afrane YA, Mweresa NG, Wanjala CL, Gilbreath TM, Zhou G, Lee MC, et al. Evaluation of long-lasting microbial larvicide for malaria vector control in Kenya. *Malaria Journal*. 2016;15(1):1–9.
31. Nartey R, Owusu-dabo E, Kruppa T, Baffour-awuah S, Annan A, Oppong S, et al. Use of *Bacillus thuringiensis* var *israelensis* as a viable option in an Integrated Malaria Vector Control Programme in the Kumasi Metropolis, Ghana. *Parasites and Vectors*. 2013;6(116):1–10.
32. Dje`nontin A, Pennetier C, Zogo B, Soukou KB, Ole-Sangba M, Akogbe'to M, et al. Field Efficacy of Vectobac GR as a Mosquito Larvicide for the Control of Anopheline and Culicine Mosquitoes in Natural Habitats in Benin, West Africa. *PLoS One*. 2014;9(2):1–7.