

**TINGKAT TOKSISITAS *Bacillus thuringiensis* KOLEKSI  
BALAI BESAR PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN  
VEKTOR DAN RESERVOIR PENYAKIT (B2P2VRP)  
SALATIGA DAN ISOLAT SURABAYA TERHADAP  
BERBAGAI STADIUM LARVA *Aedes aegypti***

**SKRIPSI**



**UIN SUNAN AMPEL  
S U R A B A Y A**

**Disusun Oleh:**

**NUR RIZATUL ADDINIYAH  
NIM: H01215007**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN AMPEL  
SURABAYA  
2019**

## PERNYATAAN KEASLIAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Nur Rizatul Addiniyah

NIM : H01215007

Program Studi : Biologi

Angkatan : 2015

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan plagiat dalam penulisan skripsi saya yang berjudul: “TINGKAT TOKSISITAS *Bacillus thuringiensis* KOLEKSI BALAI BESAR PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN VEKTOR DAN RESERVOIR PENYAKIT (B2P2VRP) SALATIGA DAN ISOLAT SURABAYA TERHADAP BERBAGAI STADIUM LARVA *Aedes aegypti*”. Apabila suatu saat nanti terbukti saya melakukan tindakan plagiat, maka saya bersedia menerima sanksi yang telah ditetapkan.

Demikian pernyataan keaslian ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Surabaya, 17 Desember 2019

Yang menyatakan,



Nur Rizatul Addiniyah  
NIM. H01215007

## PENGESAHAN TIM PENGUJI SKRIPSI

Skripsi Nur Rizatul Addiniyah ini telah dipertahankan di depan tim penguji skripsi di  
Surabaya, 16 Desember 2019

Mengesahkan,  
Dewan Penguji

Penguji I



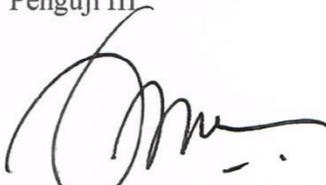
Esti Tyastirin, M.KM.  
NIP. 198706242014032001

Penguji II



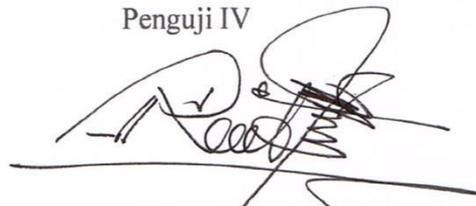
Dr. Moch. Irfan Hadi, S.KM., M.KL.  
NIP. 198604241014031003

Penguji III



Nirmala Fitria Firdhausi, M.Si.  
NIP. 198506252011012010

Penguji IV



Mujib Ridwan, M.T.  
NIP. 198604272014031004

Mengetahui,  
Dekan Fakultas Sains dan Teknologi  
UIN Sunan Ampel Surabaya



Dra. Eni Purwati, M.Ag.  
NIP. 196512211990022001



KEMENTERIAN AGAMA  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN AMPEL SURABAYA  
PERPUSTAKAAN

Jl. Jend. A. Yani 117 Surabaya 60237 Telp. 031-8431972 Fax.031-8413300  
E-Mail: perpus@uinsby.ac.id

LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI  
KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai sivitas akademika UIN Sunan Ampel Surabaya, yang bertanda tangan di bawah ini, saya:

Nama : Nur Rizatul Addiniyah  
NIM : H01215007  
Fakultas/Jurusan : Sains dan Teknologi/Biologi  
E-mail address : nurrizatula@gmail.com

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Perpustakaan UIN Sunan Ampel Surabaya, Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif atas karya ilmiah :

Sekripsi  Tesis  Desertasi  Lain-lain (.....)

yang berjudul :

Tingkat Toksisitas *Bacillus thuringiensis* Koleksi Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Vektor

Dan Reservoir Penyakit (B2P2VRP) Salatiga dan Isolat Surabaya terhadap Berbagai Stadium

*Larva Aedes aegypti*

beserta perangkat yang diperlukan (bila ada). Dengan Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif ini Perpustakaan UIN Sunan Ampel Surabaya berhak menyimpan, mengalih-media/format-kan, mengelolanya dalam bentuk pangkalan data (database), mendistribusikannya, dan menampilkan/mempublikasikannya di Internet atau media lain secara **fulltext** untuk kepentingan akademis tanpa perlu meminta ijin dari saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan atau penerbit yang bersangkutan.

Saya bersedia untuk menanggung secara pribadi, tanpa melibatkan pihak Perpustakaan UIN Sunan Ampel Surabaya, segala bentuk tuntutan hukum yang timbul atas pelanggaran Hak Cipta dalam karya ilmiah saya ini.

Demikian pernyataan ini yang saya buat dengan sebenarnya.

Surabaya, 03 Januari 2020

Penulis

(Nur Rizatul Addiniyah)











berkembang di masyarakat kebanyakan berupa insektisida kimiawi. Sedangkan insektisida kimiawi memiliki residu yang tinggi dan dapat mempengaruhi habitat organisme lain maupun lingkungan (Teknologi *et al.*, 2015). Untuk itu diperlukan insektisida yang ramah lingkungan dan efektif membunuh larva/jentik nyamuk.

Insektisida yang telah dikembangkan selain kimia yaitu memanfaatkan makhluk hidup berupa bakteri biasa disebut bioinsektisida. Bakteri yang telah diketahui dapat mengendalikan larva Ordo Diptera adalah *Bacillus thuringiensis israelensis*. Pada tahun 1901, bakteri ini diketahui memiliki kemampuan membunuh ulat sutera. Kemudian *Anagasta kuehniella* ditemukan mati pada tahun 1911 (Yulian, 2016).

*Bacillus thuringiensis* merupakan bakteri gram-positif berbentuk batang dan aerob maupun anaerob fakultatif. Bakteri ini memiliki kemampuan menghasilkan kristal protein selama fase sporulasi. Kristal protein *Bacillus thuringiensis israelensis* berbentuk oval. Kristal inilah yang toksik terhadap larva nyamuk. Kristal protein aktif dalam kondisi alkali dalam usus tengah larva (Blondine dan Yuniarti, 2001).

*Bacillus thuringiensis israelensis* telah terbukti toksik terhadap larva nyamuk. Namun bakteri ini tidak toksik terhadap organisme bukan target (*non-target*), mudah terurai dan ramah lingkungan. Atas dasar alasan tersebut maka *Bacillus thuringiensis israelensis* dijadikan sebagai prioritas utama untuk dikembangkan menjadi bioinsektisida (Shiddiqi, Hermanto, & Jusuf, 2013). Berikut beberapa penelitian terkait efektivitas *Bacillus thuringiensis* terhadap larva nyamuk:

Tabel 1.1. Penelitian tentang efektivitas *Bacillus thuringiensis* terhadap larva nyamuk.

Tahun	Author	Judul Penelitian
2010	Zulfaidah Pebata G., Bagyo Y. dan Tri Handayani K.	Strategi Pemberantasan Nyamuk Aman Lingkungan: Potensi <i>Bacillus thuringiensis</i> Isolat Madura sebagai Musuh Alami Nyamuk <i>Aedes aegypti</i>
2013	Lidwina Faraline T., Suharjono, Zulfaidah P.G., dan Nobukazu, N.	Studi Toksisitas <i>Bacillus thuringiensis</i> Isolat Lokal Jawa Timur Berdasarkan Ketinggian Tempat terhadap Larva <i>Aedes aegypti</i>
2014	Esti Rahardianingtyas dan Rendro Wianto	Isolasi <i>Bacillus thuringiensis</i> dari Berbagai Habitat di Kabupaten dan Kota Magelang dan Patogenesisnya terhadap Jentik Nyamuk <i>Aedes aegypti</i>
2015	Dian Perwitasari, D. anwar M., Hrlper S.P.M., dan Amrul Munif	Pengaruh Beberapa Dosis <i>Bacillus thuringiensis</i> Var <i>Israelensis</i> Serotype H-14 terhadap Larva <i>Aedes aegypti</i>
2015	Rini Purnawati, Titi C. Sunarti, KhaswarS., dan Mulyorini R.	Produksi Bioinsektisida oleh <i>Bacillus thuringiensis</i> byMenggunakan Kultivasi Media Padat
2016	Yelbi Rizki Yulian	Uji Efektivitas Isolat <i>Bacillus thuringiensis</i> yang Berasal dari Tanah Naungan Bungur ( <i>Lagerstroemia speciosa</i> ) terhadap Stadium Dewasa <i>Aedes aegypti</i>
2017	Citra Inneke Wibowo	Efektivitas <i>Bacillus thuringiensis</i> Pengendalian Larva Nyamuk <i>Anopheles</i> sp.
2018	Ahmad Faisal Nasution	Isolasi dan Uji Toksisitas Isolat <i>Bacillus Thuringiensis</i> Lokal terhadap Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti</i>

*Bacillus thuringiensis* dapat ditemukan ditanah yang merupakan habitat normal bakteri tersebut. namun juga dapat ditemukan di bawah pohon, cabang dan lubang pohon yang sudah tua, bangkai serangga, dedaunan, serta tanah becek(Sudigdoadi, Sukandar, & Faridah, 2017). Menurut Sansinenea (2012), spora bakteri ini mampu bertahan lama ditanah kemudian mengalami fase germinasi jika terdapat nutrisi.

























#### d. Nyamuk dewasa

Nyamuk dewasa yang baru menetas dari stadium pupa tidak langsung terbang meninggalkan tempatnya semula namun mereka akan beristirahat di atas permukaan air. Hal ini bertujuan agar sayap dan badan mereka kering serta bertambah kuat sebelum akhirnya dapat terbang. Nyamuk jantan dan betina muncul dengan perbandingan jumlahnya 1:1. Umur nyamuk betina dapat mencapai 2-3 bulan (Achmadi, 2011).

#### 2.1.5 Midgut Larva *Aedes aegypti*

Sel yang menyusun saluran pencernaan larva dipengaruhi oleh umur larva. Semakin sedikit umur larva maka sel-sel saluran pencernaannya mengalami perkembangan seperti halnya larva instar I dan II, sedangkan instar III dan IV sudah berkembang menjadi lebih kompleks. Menurut Gama dkk (2010), nyamuk memiliki sel epitel usus tengah yang pendek sehingga semakin bertambahnya umur larva maka bertambah pula sel saluran penyusun pencernaannya. Dengan bertambahnya sel saluran penyusun pencernaan menyebabkan larva semakin tahan terhadap bahan-bahan toksik (resisten).

Resistensi larva juga melibatkan selaput peritrofik yang ada di dalam usus tengah larva. Selaput peritrofik merupakan saluran yang tersusun dari kitin dan protein hasil sekresi epitel. Selaput ini



tepung Mediteranian (*Anagasta kuehniella*) yang mati pada tahun 1911. Bakteri tersebut memiliki karakteristik yang sama dengan yang ditemukan oleh Iswanta. Bakteri tersebut dinamakan *Bacillus thuringiensis* (Schaeter, 2009).

*Bacillus thuringiensis* merupakan bakteri berbentuk batang berukuran 3 - 5  $\mu\text{m}$ , bersifat aerob fakultatif (dapat berkembang biak dengan sedikit atau tanpa oksigen), memiliki sifat Gram-positif yaitu mampu menyerap warna kristal violet saat dilakukan pewarnaan gram karena memiliki dinding sel yang dilapisi peptidoglikan yang tebal. *Bacillus thuringiensis* membentuk protein dengan karakteristik menyerupai endospora yang terletak parasentral atau terminal dengan bentuk oval hingga silindris (Hatmatanti, 2000).

*Bacillus thuringiensis* memiliki morfologi yang mirip dengan *Bacillus cereus*. Keduanya dibedakan berdasarkan adanya paraspora kristal protein yang toksik terhadap insekta terutama *Lepidoptera*, *Coleoptera* dan *Diptera* (Rahardianingtyas dan Rendro, 2014). Kristal protein yang dibentuk selama sporulasi, terletak terpisah dari spora (Yulian, 2016).

*Bacillus thuringiensis* dapat bersifat non motil (tidak dapat bergerak) dan motil (bergerak) dengan flagela peritrik yaitu flagela berjumlah banyak dan berada disekeliling tubuh (Broderick *et al.*, 2006). *Bacillus thuringiensis* yang diinokulasi pada medium padat



dilakukan oleh Rahardianingtyas dan Rendro (2014) menunjukkan adanya bakteri *Bacillus thuringiensis* yang berhasil diisolasi berasal dari tanah, diantaranya dibawah pohon beringin (*Ficus benjamina*), kebun salak (*Salacca zalacca*), lubang pohon rambutan (*Nephelium lappaceum*), lubang pohon jengkol (*Pithecellobium jiringa*), pohon suren (*Toona sinensis*) yang mati, tanah dikebun ketela pohon (*Manihot utilissima*), tanah pohon jangkang (*Sterculia foetida*), lubang pohon kelapa (*Cocos nucifera*), lubang pohon kelengkeng (*Dimocarpus longan*), lubang pohon sonokeling (*Dalbergia latifoliai*), tanah pohon trembesi (*Albizia saman*), dan lubang pohon pakis (*Diplazium esculentum*).

Selain itu, bakteri ini juga biasa diisolasi dari insekta yang mati dari Ordo *Coleoptera*, *Diptera* dan *Lepidoptera*. Bangkai insekta memiliki kuantitas yang lebih banyak untuk mendapatkan isolat bakteri *Bacillus thuringiensis*.

#### **2.2.4 Kristal Protein *Bacillus thuringiensis***

Ciri khas *Bacillus thuringiensis* adalah kemampuannya dalam membentuk tubuh paraspora (kristal) bersamaan dengan pembentukan spora, yaitu pada saat sel mengalami sporulasi. Kristal protein pada bakteri *Bacillus thuringiensis* juga digolongkan berdasarkan bentuknya. Kristal protein yang memiliki bentuk bulat merupakan subspecies *israelensis* yang memiliki



delapan kelas utama yaitu *cryI* sampai *cryX* berdasarkan berat molekulnya, homologi sekuen asam amino di N-terminalnya dan aktivitas insektisidalnya (Bahagiawati, 2002). Delapan protein kristal tersebut adalah:

- a. *CryI* toksik terhadap serangga Lepidoptera
- b. *CryII* toksik terhadap Lepidoptera dan Diptera
- c. *CryIII* toksik terhadap Coleoptera
- d. *CryIV* toksik terhadap Diptera
- e. *CryV* toksik terhadap Lepidoptera dan Coleoptera
- f. *CryVI* toksik terhadap Nematoda
- g. *CryIXF* toksik terhadap Lepidoptera
- h. *CryX* toksik terhadap Lepidoptera (Margino dan Mangundihardjo, 2002).

Kristal protein *Bacillus thuringiensis* tersusun atas polipeptida diantaranya adalah *cryIA*, *cryIC*, *cryID* dengan berat molekul 130-140 kDa. Polipeptida tersebut bersifat protoksin, berubah menjadi toksin apabila berat molekulnya berkisar antara 30 sampai 80 kDa. Keadaan tersebut terjadi ketika polipeptida terhidrolisis dalam saluran pencernaan larva oleh adanya enzim protease dan kondisi pH alkali (Bahagiawati, 2002). Masing-masing subspecies memiliki kandungan protein yang berbeda. Perbedaan ini dapat dilihat pada Tabel 2.1.



suhu tinggi hingga 80°C (Dini, 2005). Ketika lingkungan mendukung, spora akan mengalami fase germinasi seperti suhu yang optimal dalam perkembangan *Bacillus thuringiensis*, yaitu sekitar 26-37°C (Khetan, 2000).

Seperti halnya bakteri yang lain, pertumbuhan sel *Bacillus thuringiensis* juga dibagi menjadi empat fase yaitu fase lag, fase eksponensial (fase log), fase stasioner, dan fase kematian. Pertumbuhan yang intensif terjadi pada fase eksponensial berlangsung antara 16-18 jam setelah inokulasi. Pada fase stasioner sel mulai membentuk endospora dan kristal toksin. Sporulasi akan berlangsung sempurna setelah 20-24 jam. Saat kultur berumur 32-42 jam endospora dan kristal toksin mengalami lisis (keluar dari tubuh sel). Oleh karena itu, apabila digunakan sebagai bioinsektisida dalam jumlah banyak maka *Bacillus thuringiensis* diperbanyak secara fermentasi pada fase stasioner (Sansinenea, 2012).

### **2.2.6 Mekanisme Kerja Kristal Protein *Bacillus thuringiensis***

Kristal protein *Bacillus thuringiensis* akan bekerja setelah adanya aktivitas proteolisis di dalam saluran pencernaan serangga (Jati, Zahida, & Yulia, 2014). Menurut Khaetan (2001), kristal protein yang masuk dalam saluran pencernaan serangga yang

rentan terhadap toksin atau tidak resisten akan berubah menjadi aktif setelah melalui serangkaian proses.

Pertama, ketika masuk ke dalam cairan usus tengah serangga yang bersifat alkali kristal protein akan larut. Kemudian, kristal protein yang awalnya bersifat protoksin akan menjadi toksin (aktif) oleh enzim protease. Setelah itu, molekul toksin menembus membran peritrophic yang kemudian akan berikatan dengan binding brush border membrane vesicle (BBMV) yang terletak diujung sel mikrovili. Selanjutnya, ikatan reseptor fragmen midgut yang toksik akan menyebabkan kerusakan pada epithelium usus tengah, akibatnya terjadi perubahan permeabilitas sel yang akhirnya dapat mengganggu transfer ion  $\text{Na}^+$  dan  $\text{K}^+$  (perubahan osmotik) akibat adanya porus yang terbentuk. Terakhir, toksin beredar keseluruh tubuh larva hingga menyebabkan kematian (Khetan, 2000; Pujiastuti, 2004).

Gejala awal dari infeksi *Bacillus thuringiensis* adalah berhubungan dengan perilaku makan dan metabolisme (Khetan, 2000). Satu jam pertama larva akan berhenti makan, pada jam kedua aktivitas larva berkurang. Kemudian pada empat jam selanjutnya kondisi larva lemas, akhirnya larva mengalami paralisis pada jam keenam dan mati. Mekanisme kerja kristal protein dapat dilihat pada Gambar 2.12.





































Warna ungu yang ditunjukkan oleh bakteri gram positif disebabkan karena kemampuan bakteri dalam mempertahankan zat warna kristal violet setelah diberi larutan lugol iodine (larutan pemucat). Pemberian lugol iodine digunakan agar afinitas pengikatan zat warna oleh bakteri meningkat sehingga bakteri lebih kuat dalam mengikat warna. Pemberian larutan ini juga menyebabkan pewarna akan lebih terlihat jelas (Campbell, 2003).

Pewarnaan menggunakan kristal violet menyebabkan terbentuknya ikatan kompleks *mg-Ribonucleid acid-Crystal violet*. Ikatan tersebut tahan terhadap alkohol sehingga warna tersebut tidak luntur. Pemberian zat warna terakhir yaitu safranin menyebabkan bakteri Gram negatif berwarna merah, sedangkan pada bakteri Gram positif tidak mengalami perubahan warna. Hal tersebut disebabkan karena pewarna kristal violet dapat dipertahankan oleh dinding sel bakteri sehingga warnanya tidak berubah (Campbell, 2003).

Ciri Genus *Bacillus* sendiri yaitu mampu menunjukkan hasil positif pada uji katalase menggunakan larutan *hydrogen peroxide* (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Uji katalase dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri untuk menghasilkan enzim katalase. Pada uji ini, hasil positif ditunjukkan oleh adanya gelembung yang berarti O<sub>2</sub> dapat terpecah. Reaksi uji katalase dapat dilihat pada reaksi berikut:



Hasil pemecahan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oleh enzim katalase berupa air (H<sub>2</sub>O) dan oksigen (O<sub>2</sub>). Uji ini sangat penting untuk mengetahui kebutuhan oksigen bakteri (Yulvizar, 2013). Hasil positif uji katalase menunjukkan bakteri tersebut bersifat aerob dan anaerob fakultatif. Karena kedua jenis bakteri





Hasil tersebut sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Jung *et al* (1994), bahwa *Bacillus thuringiensis* strain H-14 menunjukkan uji gula positif pada uji sukrosa. Sedangkan menunjukkan hasil negatif pada uji laktosa. Pemecahan sukrosa juga tidak luput dari peran metabolisme bakteri itu sendiri agar menjadi komponen sederhana yang dapat diangkut ke sitoplasma.

Sukrosa termasuk dalam golongan disakarida. Maka dari itu, sukrosa akan dipecah menjadi polisakarida yang sederhana yaitu menjadi fruktosa dan glukosa. Selanjutnya kedua gula tersebut dipecah lagi menjadi senyawa yang lebih sederhana lagi dimana hasil akhir pada tahap fermentasi ini adalah asam. Asam yang terbentuk inilah yang kemudian menurunkan pH media sehingga terjadi perubahan warna pada media yang awalnya berwarna merah menjadi kuning.

Berdasarkan Tabel 4.3, ke 5 isolat bakteri menunjukkan hasil negatif pada uji indol. Dimana tidak terbentuknya cincin merah pada media saat ditetesi dengan reagen kovaks. Hal ini berarti bahwa isolat tidak memiliki kemampuan untuk memecah amino tryphosphat menjadi senyawa yang mengandung nitrogen. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Adriani(2011), bahwa *Bacillus thuringiensis* menunjukkan hasil negatif pada uji indol.

Hasil uji *Methyl red* (MR) pada ke 5 isolat bakteri menunjukkan hasil positif pada semua isolat (Tabel 4.3). Hasil tersebut menunjukkan bahwa ke 6 isolat bakteri memiliki kemampuan menghasilkan *metilen glikon* (asam campuran) dari glukosa yang terkandung dalam media MR (Gambar 4.3). Sedangkan pada uji Voges Proskover (VP) hasil positif ditunjukkan oleh isolat SK8, SK10 dan SK14. Ketiga isolat bakteri tersebut mampu







yang biasa disebut dengan Bti yang toksik terhadap Ordo Diptera (Nasution, 2018). Kristal protein Bti bersifat toksik terhadap lalat hitam dan larva nyamuk serta aman untuk manusia (Lee *et al*, 2008).

Menurut Jung *dkk* (1994) dalam Nasution (2018), *Bacillus thuringiensis* H-14 menunjukkan hasil positif pada uji katalase, uji motilitas, uji sukrosa dan hidrolisis pati. Sedangkan bakteri tersebut menunjukkan hasil negatif pada uji sitrat. Isolat bakteri dari Surabaya yang sesuai dijadikan sebagai uji toksisitas terhadap larva *Aedes aegypti* berdasarkan karakterisasi morfologi, pewarnaan gram, uji biokimia, pewarnaan endospora dan kristal protein yang telah dilakukan adalah isolat SK10.

#### **4.5 Uji Toksisitas *Bacillus thuringiensis* Koleksi B2P2VRP Salatiga dan Isolat Surabaya terhadap Berbagai Stadium Larva *Aedes aegypti***

Larva *Aedes aegypti* diperoleh dari Insektarium Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Vektor dan Reservoir Penyakit (B2P2VRP) Salatiga. *Bacillus thuringiensis* yang digunakan berasal dari Laboratorium Mikrobiologi B2P2VRP Salatiga (Kode: SLTG) dan Isolat Surabaya (Kode: SK10). Uji toksisitas menggunakan 6 konsentrasi yaitu 0 ml, 0,5 ml, 1 ml, 1,5 ml, 2 ml dan 2,5 ml. Hasil uji toksisitas dapat dilihat pada grafik berikut:





mortalitasnya pada berbagai instar larva dengan berbagai konsentrasi. Sedangkan pada isolat SK10 hasil mortalitas terbesar ditunjukkan oleh larva instar I pada konsentrasi 1,5 ml sebesar 20%. Sementara pada konsentrasi 0 ml (kontrol) tidak menunjukkan mortalitas.

Isolat SLTG yang digunakan merupakan *Bacillus thuringiensis* H-14 galur lokal, yang artinya bakteri ini sudah terbukti toksik terhadap Diptera khususnya larva nyamuk. Penelitian yang dilakukan oleh Pattipeilohy (2012) menunjukkan kandungan kristal protein dalam isolat SLTG disandi oleh gen *cry1Aa*, *cry4Aspe*, *cry4Bspe* dan *cry11gral*. Gen tersebut sesuai dengan gen yang mengkode kristal protein pada *Bacillus thuringiensis* ssp. *israelensis* (H-14) produk luar yang digunakan sebagai kontrol positif.

Menurut Clements (2012), *Bacillus thuringiensis* ssp. *israelensis* H-14 memiliki kristal protein meliputi Cry4Aa, Cry4Ba, Cry10Aa, Cry11Aa, Cyt1Aa, Cyt1Ca dan Cyt2Ba. Bakteri tersebut toksik terhadap Diptera dengan 47 Genus dan 103 spesies. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Saraswati (2007), kristal protein yang memiliki toksisitas terhadap larva nyamuk dan lalat hitam yaitu Cry4, dimana protein tersebut dibagi menjadi 4 tipe yaitu *cry4A*, *cry4B*, *cry4C* dan *cry4D*. Kristal protein yang spesifik toksik terhadap nyamuk khususnya *Aedes aegypti* yaitu Cry4A dan Cry4B.

Sedangkan isolat SK10 merupakan isolat bakteri yang identifikasinya hanya sampai pada tahap spesies yaitu *Bacillus thuringiensis* dengan melihat ada tidaknya kristal protein (Gambar 4.5.b). *Bacillus thuringiensis* memiliki toksisitas yang spesifik berdasarkan subspecies (Tabel 4.5).



hitam akhirnya setelah beberapa hari akan hancur. Pembengkakan epitel menyebabkan terganggunya jaringan usus tengah serangga, setelah itu kemampuan makan serangga terhenti.

Ketika Cry atau bakteri yang mengandung kristal protein termakan oleh larva yang rentan (tidak resisten) akan disalurkan ke dalam saluran pencernaan. Awalnya kristal protein bersifat protoxin atau tidak aktif. Namun setelah ada dalam saluran pencernaan serangga yang sifatnya alkali, kristal protein menjadi toksin karena adanya enzim protease. Setelah itu toksin melewati membran peritrophic lalu berikatan dengan reseptor spesifik yang disebut dengan kadenin yang ada pada binding brush border membrane vesicle (BBMV) pada membran sel-sel usus. Toksin yang berikatan dengan protein kadenin menghasilkan aktivasi jalur kematian onkotik dan atau juga membentuk oligomer toksin. Akumulasi oligomer menghasilkan penyisipan toksin dalam membran, pembentukan pori, sel mengalami perubahan osmotik dan pada akhirnya larva mati (Khetan, 2000; Pujiastuti *et al.*, 2004; Gama & Nakagoshi, 2014).

*Bacillus thuringiensis* tidak memiliki efek langsung pada organisme akuatik selain nyamuk, lalat hitam, kutu daun, tengu, udang dan chironomidi. Jadi dapat dikatakan bahwa *Bacillus thuringiensis* dapat digunakan sebagai pengendali hayati nyamuk dengan tetap menjaga ekosistem yang lain (Gama dan Nakagoshi, 2014). Menurut Saraswati (2007), *Bacillus thuringiensis* tidak toksik terhadap serangga organisme nontarget dikarenakan protein Cry memiliki reseptor khusus pada serangga target. Protein Cry tidak





yang mengumpamakan orang musyrik dengan laba-laba. Kemudian muncullah pertanyaan dari orang-orang musyrik “untuk apa laba-laba dan lalat itu disebut?”, lalu Allah menurunkan ayat yang artinya:

*“Sesungguhnya Allah tiada segan membuat perumpamaan berupa nyamuk atau lebih rendah dari itu.....”*. Q.S. Al Baqarah ayat 26.

Ayat tersebut memberitahukan bahwa Dia tidak pernah membedakan dan memandang remeh apa yang telah diciptakan-Nya. Ada pula yang mengartikan, Allah juga tidak takut membuat perumpamaan apa saja baik dalam bentuk yang besar maupun kecil (Ad-Dimasyqi, 2004).

Berdasarkan penafsiran di atas, meskipun orang musyrik menganggap nyamuk sebagai hal yang hina namun ternyata hewan ini memiliki manfaat yang salah satunya yaitu menjadi bahan penelitian. Oleh karena itu, penelitian ini dapat membuktikan betapa besar Kuasa-Nya dan ciptaan-Nya yang tak terbatas. Dan Dia tidak pernah menyia-nyiakan setiap ciptaan-Nya. Dia menciptakannya dengan sungguh-sungguh bahkan setiap apa yang hambanya lakukan akan mendapatkan balasan (Al-Hilal, 2005). Semoga hasil penelitian ini dapat menambahkan iman dan ketaqwaan kita kepada Allah sebagai sang pencipta.







- Gillot, C. 2005. *Entomology*. Plenum Press, New York.
- Hatmatanti, A. 2000. Pengenalan *Bacillus* spp.. *Oseana*. 25 (1): 31-41.
- Herms, W. 2006. *Medical Entomology*. The Macmillan Company, United States of America.
- Hermanto, S., Eddy, J., dan M. Hero, S. 2013. Eksplorasi Protein Toksin *Bacillus thuringiensis* dari Tanah di Kabupaten Tangerang. *Valensi*. 3 (1): 48-56.
- Hopp, and Foley. 2001. *The Aedes aegypti Live Cycle*. Assessing the Impact of Treatment of Septic Tanks with Expanded Polystyrene Beads on *Aedes aegypti* Larval and Adult Mosquito, Stanford.
- Khetan, S. (2000). Microbial Pest Control. *Microbial Pest Control*. <https://doi.org/10.1201/9781482270631>.
- Jati, W.B., Felicia Z., dan Indah M. 2014. Uji Kemampuan Isolat P75 *Bacillus thuringiensis* Berliner terhadap Daya Bunuh Larva Nyamuk *Aedes aegypti*. *Makalah Seminar Nasional Mikrobiologi*. 105-116.
- Lantang, D., dan Runtuboi, D.Y. 2012. Karakterisasi Bakteri *Bacillus thuringiensis* Asal Hutan Lindung Kampus Uncen Jayapura, serta Deteksi Toksisitasnya terhadap Larva Nyamuk *Anopheles*. *J. Biol. Papua*. 4 (1): 19-24.
- Margino, S. dan S. Mangundihardjo. 2002. Pemanfaatan Keanekaragaman Hayati untuk Biopestisida di Indonesia. *Lokakarya Keanekaragaman Hayati untuk Perlindungan Tanaman*. Yogyakarta.
- Nasution, Faisal, Ahmad. 2018. Isolasi dan Uji Toksisitas Isolat *Bacillus thuringiensis* Lokal terhadap Larva Nyamuk *Aedes aegypti*. *Tesis*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sumatera Utara, Medan.
- Neva, F.A., and Brown, H.W. 1994. *Basic Clinical Parasitology*. Connecticut, Appleton & Langue.
- Nuidja, I.N. 2005. *Air Tergenang, Aedes aegypti Berkembang*. Kesehatan Lingkungan Hidup, Denpasar.
- Palgunadi, B.U. dan Asih, R. 2011. *Aedes aegypti sebagai Vektor Penyakit Demam Berdarah Dengue*. Universitas Wijaya Kusuma, Surabaya.
- Pattipeilohy, H.C.B., Rendro, W., dan Sukarno. (2000). Pengendalian Jentik Nyamuk Vektor Demam Berdarah, Malaria dan Filariasis Menggunakan Strain Lokal *Bacillus thuringiensis* H-14. *Bulletin Penelitian kesehatan*, 27: 178-184.
- Pattipeilohy, H.C.B. dan R.A. Yuniarti. (2001). Uji Patogenesis Isolat *B. thuringiensis* yang Ditumbuhkan dalam Buah Kelapa terhadap Berbagai

- Jentik Nyamuk di Laboratorium. Stasiun Penelitian Vektor Penyakit Salatiga. *J. Cermin Dunia Kedokteran*, 131: 20-22.
- Pujiastuti, Yulia. 2004. Toksisitas Kristal Protein dan Spora Isolat *Bacillus thuringiensis* pada Larva Lepidoptera. *Agria*.1 (1): 27-29.
- Purnawati, R., Titi, C.S., Khaswar, S., Mulyorini, R. 2015. Produksi Bioinsektisida oleh *Bacillus thuringiensis* menggunakan Kultivasi Media Padat. *Jurnal Teknologi Industri Pertanian*. 25 (3): 205-214.
- Rahardianingtyas, E., dan Rendro, W. 2014. Isolasi *Bacillus thuringiensis* dari berbagai Habitat di Kabupaten dan Kota Magelang dan Patogenitas terhadap Jentik Nyamuk *Aedes aegypti*. *Jurnal Vektora*. 6 (1): 13-18.
- Rahman, Noer, Fauziah. 2014. Isolasi Bakteri *Bacillus thuringiensis* dari Tanah Kota Makassar dan Uji Bioinsektisida terhadap Larva Nyamuk *Aedes aegypti*. *Skripsi*. Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Alauddin, Makassar.
- Sanchis, V., and Denis, Bourguet. 2008. *Bacillus thuringiensis*: Applications in Agriculture and Insect Resistance Management. A Review. *Dev*. 28: 11-20.
- Sansisenenea, E. 2012. *Bacillus thuringiensis Biotechnology*. Springer Dorcrecht Heidelberg, New York.
- Saraswati, Ni, Putu, A. 2007. Deteksi dan Identifikasi Gen *cry4* pada Isolat *Bacillus thuringiensis* Daerah Bogor dan Sekitarnya. *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Sembel, D.T. 2009. *Entomologi Kedokteran*. Andi, Yogyakarta.
- Sembiring, Terang, Uli, J. 2011. *Entomologi Kesehatan: Arthropoda Pengganggu Kesehatan dan Parasit yang Dikandungnya*. Universitas Indonesia Press, Jakarta.
- Shiddiqi, M. Hero. 2011. Eksplorasi Protein Toksin *Bacillus thuringiensis* dari Tanah di Kabupaten Tangerang. *Skripsi*. Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Soedarto. 2008. *Parasitologi Klinik*. Airlangga University Pers, Surabaya.
- Sudigdoadi, S., Handyana, S., dan Lia Faridah. 2017. Isolasi *Bacillus thuringiensis* Lokal dari Tanah Kota Bandung berdasarkan Ketinggian. *Majalah Kedokteran Bandung*. 49 (2): 110-114.
- Suharto. 2004. Pathogenicity of Beauveria Isolates on *Plutell xylostella*. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia*. 10 (2): 8-12.
- Suman, D.S., Shrivastava, A.R., Pant, S.C., and Parashar, B.D. 2011. Differentiation of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) with Egg Surface Morphology and Morphometrics Using Scanning Electron Microscopy. *Arthropod Struct Dev*. 40: 479-483.

- Triprisila, Faraline, T., Suharjono, Zulfaidah, Penata, G., dan Nobukazu, N. 2013. Studi Toksisitas *Bacillus thuringiensis* Isolat Lokal Jawa Timur Berdasarkan Ketinggian Tempat terhadap Larva *Aedes aegypti*. *Jurnal Biotropika*. 1 (3): 90-94.
- Untung, K. 2006. *Pengantar Pelelolaan Hama Terpadu*. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta:
- .World Health Organization. 2012. Global Strategy for Dengue Prevention and Control 2012-2020. [http://reliefweb.int/sites/reliefweb.int/files/resource/9789241504034\\_eng.pdf](http://reliefweb.int/sites/reliefweb.int/files/resource/9789241504034_eng.pdf). (Diakses pada 29 Juni 2018).
- Yulian, R. Yelbi. 2016. Uji Efektivitas *bacillus thuringiensis* yang Berasal dari Tanah Naungan Bungur (*Lagerstroemia speciosa*) terhadap Stadium Dewasa *Aedes aegypti*. *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Lampung, Bandar Lampung.
- Yulvizar, Cut. 2013. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Probiotik pada *Rastrelliger* sp.. *Biospecies*. 6 (2): 1-7.

