

EFIKASI *Bacillus thuringiensis israelensis* YANG DITUMBUHKAN PADA MEDIA AIR CUCIAN BERAS MEKONGGA TERHADAP LARVA *Aedes aegypti* STRAIN KENDARI

Reni Yunus^{✉*}, Tri Baskoro T. Satoto**

*Politeknik Kesehatan Kemenkes Kendari,
Jl. AH Nasution, No. G.14 Anduonohu, Kota Kendari, Indonesia 93232

**Bagian Parasitologi Universitas Gadjah Mada,
Jl. Farmako Sekip Utara. Yogyakarta, Indonesia 55281
Email: reni_yunus@yahoo.co.id

EFFICACY OF Bacillus thuringiensis israelensis GROWN IN MEKONGGA RICE DISHWATER MEDIA AGAINST Aedes aegypti LARVAE STRAIN KENDARI

Naskah masuk :04 April 2016 Revisi I : 01 September 2016 Revisi II : 12 Oktober 2016 Naskah Diterima :16 Maret 2017

Abstrak

Bacillus thuringiensis var.israelensis (Bti) adalah bakteri yang potensial sebagai bioinsektisida. Kendala dalam memperbanyak bakteri ini adalah sulit mendapatkan media standar untuk mengembangbiakan Bti. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efikasi Bti yang ditumbuhkan pada media air cucian beras pada berbagai variasi konsentrasi terhadap larva *Ae.aegypti* strain Kendari. Penelitian ini menggunakan metode laboratorium eksperimental dengan rancangan post test only group control design. Sampel dalam penelitian ini adalah larva *Ae.aegypti* instar III. Hasil penelitian menunjukkan bahwa Bti yang ditumbuhkan pada media air cucian beras Mekongga efektif mematikan larva *Ae.aegypti* setelah 24 jam paparan, dengan LC_{50} dan LC_{90} masing-masing adalah 3,321 ppm dan 4,945 ppm, dan pada paparan 48 jam dengan LC_{50} dan LC_{90} masing-masing adalah 3,119 ppm dan 4,721 ppm. Nilai LT_{50} yaitu 45,49 jam. Efek residu Bti media air cucian beras Mekongga yang dapat mematikan larva sampai 50% adalah 4 hari. Analisis Anova menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna pada berbagai konsentrasi Bti media air cucian beras Mekongga terhadap kematian larva *Ae.aegypti* strain Kendari. Hal ini menunjukkan bahwa air cucian beras Mekongga merupakan media potensial yang dapat menjadi media alternatif untuk menumbuhkan Bti yang bersifat patogen terhadap larva *Ae.aegypti* strain Kendari.

Kata Kunci: *Aedes aegypti*, *Bacillus thuringiensis israelensis*, Lethal concentration (LC), Lethal Time (LT), efek residu.

Abstract

Bacillus thuringiensis var.israelensis (Bti) is bacterium which is potential as bioinsecticides. Constraints in these bacteria multiply is difficult in obtaining standard media to develop Bti. This study aimed to determine the efficacy of Bti grown on rice water media at various concentrations against *Ae.aegypti* larvae strains Kendari. Method of this study was laboratory experimental with post test only one group control design. The sample in this research were *Ae.aegypti* instar III larvae. The result showed Bti can grow in Mekongga rice dishwater media and effective in eliminating the *Ae.aegypti* larvae strain Kendari after 24 hours exposure, with LC_{50} and LC_{90} are 3,321 ppm and 4,945 pp respectively, while in 48 hours exposure with LC_{50} and LC_{90} are 3,119 ppm and 4,945 ppm respectively. The values of LT_{50} Bti on Mekongga rice dishwater media is 45,49 hours and the residual effect is 4 days. Anova analysis show significant differences on various ceoncentrations of Bti in Mekongga rice dishwater media againts the mortality of *Ae.aegypti* larvae strain Kendari. The study proves that the Mekongga rice dishwater is a potential media which can be alternative media to grow Bti which is pathogen against *Ae.aegypti* starin Kendari.

Keywords: *Aedes aegypti*, *Bacillus thuringiensis israelensis*, Lethal Concentration (LC), Lethal Time (LT),

*Residual effect.***PENDAHULUAN**

Penyakit Demam Berdarah Dengue (DBD) merupakan masalah kesehatan yang sangat penting di Negara tropis dan beberapa negara subtropis di Asia, Amerika, dan Afrika. Penyakit ini telah meluas penyebarannya ke berbagai belahan dunia dan dinyatakan bahwa lebih dari 100 negara statusnya endemis. Penyakit DBD juga dilaporkan mengancam 40 % penduduk yang tinggal di daerah perkotaan, pinggiran kota, dan pedesaan beriklim tropis dan subtropis (Kosiyachinda, 2003).

Penyakit DBD pertama kali dilaporkan di Indonesia sejak adanya kejadian Luar Biasa (KLB) di Jakarta dan Surabaya pada tahun 1968. Pada awal tahun 2004, serangan penyakit DBD terjadi di hampir semua Provinsi di Indonesia, selama bulan Januari dan Februari tahun 2004 (Sembel, 2009). Kasus DBD di Indonesia telah menjadi salah satu masalah kesehatan masyarakat yang insidennya semakin tinggi dan penyebarannya semakin luas (Sungkar S, 2002). Pada tahun 2009 jumlah penderita DBD adalah 154.855 orang dan jumlah penderita meninggal adalah 1384 orang (Kustriastuti, 2010).

Kota Kendari merupakan merupakan salah satu kota endemis DBD di Indonesia. Berdasarkan data dari Dinas Kesehatan Sulawesi Tenggara tahun 2008, seluruh kecamatan di Kota Kendari ditemukan kasus DBD. Dalam beberapa kurun waktu terakhir jumlah kasus DBD selalu meningkat dari tahun ke tahun. Pada tahun 2008 dilaporkan terdapat 711 kasus dengan 4 orang meninggal. Pada tahun 2011, Kota Kendari dinyatakan sebagai daerah dengan jumlah kasus DBD tertinggi di Provinsi Sulawesi Tenggara, yakni 602 kasus dengan 6 orang meninggal (CFR; 0,99 %). Data DBD untuk Provinsi Sulawesi Tenggara Tahun 2015 berjumlah 838 kasus dengan insiden rate DBD 34,66 dan jumlah orang yang meninggal sebanyak 0,95% (Dinkes Provinsi Sulawesi Tenggara, 2015).

Penyakit DBD disebabkan oleh virus Dengue yang ditularkan oleh nyamuk *Ae.aegypti*. Nyamuk ini sangat antropofilik, hidup dekat dengan manusia dan sering hidup di dalam rumah. Menurut WHO vektor yang paling penting dari virus Dengue adalah *Ae.aegypti* yang menjadi target utama pengendalian (WHO, 1999a).

Pemberantasan DBD yang efektif diutamakan untuk mengendalikan vektor, karena belum ditemukan vaksin yang efektif untuk virus dengue. Penyemprotan dengan insektisida kimia saat ini banyak menimbulkan masalah yaitu meningkatnya resistensi, pencemaran lingkungan, keracunan, dan kematian hewan bukan sasaran (Prabakaran et al, 2008). Salah satu metode yang

kini mendapat banyak perhatian para ahli adalah cara biologis dengan menggunakan *Bacillus sp* pembentuk spora (Mardihusodo, 1989). Salah satu species *Bacillus* yang biasa digunakan untuk pemberantasan nyamuk adalah *Bacillus thuringiensis israelensis* serotype H-14 atau disingkat *Bti* (Visser B et al, 1993). Bakteri ini bersifat patogen terhadap larva *Ae.aegypti* yang merupakan vektor DBD. Bakteri ini juga memiliki keuntungan lain dalam mengendalikan vektor DBD yaitu timbulnya resistensi nyamuk rendah dan aman terhadap lingkungan (Prabakaran et al, 2008). Bakteri *Bacillus thuringiensis israelensis* (*Bti*) telah dijadikan sebagai bahan bioinsektisida untuk pengendali larva nyamuk dan lalat hitam (WHO, 1979).

Bakteri *Bti* bersifat gram positif, dan dapat memproduksi kristal protein toksin (delta endotoksin) selama proses sporulasi. Mempunyai efek toksisita yang tinggi terhadap serangga vektor, bersifat spesifik target dan belum menyebabkan resistensi vektor (Mulla et al, 1986). Bakteri *Bti* menghasilkan kristal protein pada masa sporulasi. Kristal protein akan bersifat toksik apabila termakan oleh jentik, berikatan dengan sel epitel usus dan mengakibatkan lubang pada usus sehingga jentik mati (WHO, 1999b). Apabila *Bti* ditumbuhkan pada media yang mendukung pertumbuhannya maka bakteri *Bti* akan menghasilkan toksin (delta endotoksin) yang bersifat patogen terhadap larva. Komposisi media pertumbuhan bakteri mempengaruhi kemampuan bakteri untuk memproduksi toksin. Semakin banyak toksin yang termakan oleh larva maka semakin banyak larva yang mati (WHO, 1991).

Bakteri *Bti* saat ini telah dikembangkan untuk pengendalian vektor, namun usaha untuk memanfaatkan isolat lokal bakteri *Bti* pada skala luas masih sulit dilakukan. Faktor utamanya adalah sulitnya mendapatkan media standar seperti *Tryptose Phospat Broth* (TPB) untuk perbanyakan bakteri, dan harganya relatif mahal. Oleh karena itu, perlu dicari media alternatif yang murah dan mudah didapatkan dengan tidak mengurangi tingkat patogenitasnya.

Penggunaan air cucian beras dapat dikembangkan sebagai media alternatif untuk pertumbuhan *Bti* karena sangat mudah dan murah didapat mengingat masyarakat mengkonsumsi nasi sebagai makanan pokok. Menurut Direktorat Gizi DEPKES RI komposisi kandungan dalam 100 gram beras mengandung protein 8,7 %, lemak kasar 1,5 %, karbohidrat 71,8 %, dan asam amino. Selain itu, beras juga mengandung unsur-unsur seperti Calcium (Ca), Phospor (P), Ferrum (Fe). Magnesium (Mg), serta Vitamin B1 (Direktorat Gizi Depkes, 1991). Bahan-bahan tersebut dapat merangsang pertumbuhan dan menunjang perkembangbiakan *Bti* (Yuniarti & Ch.p

Blondine, 2007).

Air cucian beras lokal dari daerah Kendari dapat dijadikan alternatif media perkembangbiakan bakteri *Bti* yang akan digunakan sebagai larvasida *Ae.aegypti* strain Kendari. Beras yang umumnya dikonsumsi masyarakat Kendari yaitu beras Mekongga, memiliki kadar amilosa sebesar 23 % (Nugraha, 2008). Kandungan amilosa ini dapat mendukung pertumbuhan dan perkembangbiakan bakteri *Bti*.

Penelitian mengenai uji daya bunuh *Bti* yang ditumbuhkan pada air cucian beras lokal Kendari terhadap *Ae.aegypti* asal Kendari belum pernah dilakukan. Kemampuan *Bti* membunuh *Ae.aegypti* berbeda di setiap daerah, mengingat hal itu maka jika bakteri *Bti* yang telah ditumbuhkan dari air cucian beras Mekongga akan diaplikasikan di Kendari untuk pengendalian *Ae.aegypti*, perlu dilakukan penelitian laboratorium untuk mengetahui seberapa besar aktivitas larvasida bakteri tersebut terhadap larva *Ae.aegypti* strain Kendari.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah *Bti* dapat tumbuh pada media air cucian beras Mekongga dan mengetahui patogenitasnya terhadap larva *Ae.aegypti* strain Kendari, untuk mengetahui berapa konsentrasi optimum *Bti* pada media air cucian beras Mekongga yang efektif membunuh larva *Ae.aegypti* strain Kendari, mengetahui nilai LT_{50} *Bti* yang dikembangbiakan pada media air cucian beras Mekongga, serta mengetahui efek residu *Bti* yang dikembangbiakan pada media air cucian beras Mekongga terhadap larva *Ae.aegypti* strain Kendari.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini menggunakan desain eksperimental laboratories dengan rancangan *post test only group control design*. Subyek dibagi dalam dua kelompok yaitu kelompok perlakuan dan kelompok kontrol. Sampel penelitian adalah larva *Ae.aegypti* instar III. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi *Bti* pada media air cucian beras Mekongga. Variabel terikat adalah kematian larva nyamuk *Ae.aegypti* dan umur residu bakteri *Bti*. Variabel terkontrol adalah sumber air, jumlah, instan dan kondisi larva, sedangkan variabel pengganggu adalah suhu dan pH air.

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah air, larutan glukosa, kultur murni *Bti*, media Nutrient Agar (NA), media TPB, aquades steril, media air cucian beras Mekongga, Naphtalen Black dan Gurr's improved R 66 Giemsa. Alat penelitian ini meliputi gelas plastik,

kertas label, nampan plastik, sangkar nyamuk, aspirator, inkubator, autoclave, labu, jarum ose, Erlenmeyer (250 cc), tabung reaksi 25 ml, mangkok (500 ml), shaker, termometer, kertas pH universal, petridish, tabung reaksi, pemanas bunsen, pipet hisap, mikropipet, dan mikroskop.

Cara Kerja

1. Pemasangan Perangkap Telur

Pemasangan perangkap telur (ovitrap) dilakukan pada 100 rumah, baik di dalam maupun luar rumah (Lee et al, 2008). Lokasi pemasangan perangkap telur dilakukan di Kelurahan Kadia, Kecamatan Kadia, Kota Kendari. Penetapan lokasi ini berdasarkan endemisitas wilayah, dimana kelurahan Kadia merupakan salah satu kelurahan dengan jumlah kasus DBD yang tinggi di Kota Kendari (Dinkes Provinsi Sulawesi Tenggara, 2012).

2. Kolonisasi Nyamuk *Aedes Aegypti*

Kolonisasi nyamuk dilaksanakan di Laboratorium Entomologi FK, Universitas Gadjah Mada (UGM). Telur uji dalam kertas saring yang diambil dari ovitrap yang dipasang di daerah endemis DBD di Kota Kendari dimasukkan dalam nampan plastik yang berisi air dari laboratorium. Setelah menetas ditambahkan makanan larva berupa hati ayam dan dilakukan penggantian air maupun makanan larva setiap 2 hari sekali. Pupa yang telah berubah menjadi nyamuk dewasa selanjutnya diidentifikasi untuk membedakan species *Ae.aegypti* yang akan digunakan dalam penelitian dengan species nyamuk yang lain.

3. Pembuatan Media air cucian beras Mekongga

Pembuatan media air cucian beras Mekongga mengacu pada metode yang dilakukan oleh Yuniarti dan Blondine (2007), perbedaan hanya terletak pada jenis beras yang digunakan. Satu kg beras Mekongga dicuci menggunakan 500 ml akuades. Beras diremas-remas dan dibolak-balik sebagaimana mencuci beras untuk dimasak. Air cucian beras disaring agar sekam dan kotoran lainnya tersaring. Selanjutnya air cucian beras Mekongga dimasukkan dalam erlenmeyer untuk disterilkan pada suhu 121° C selama 15 menit (Yuniarti & Ch.p Blondines, 2007).

4. Kultur bakteri *Bacillus thuringiensis israelensis* (*Bti*)

Stok bakteri *Bti* yang merupakan stok kultur yang ada pada NA miring, diambil 2 ose kemudian ditanam dengan metode gores pada medium NA pada cawan petri untuk dibuat kultur murni *Bti* yang

baru yang akan digunakan dalam pengujian. Koloni tunggal yang tumbuh pada medium NA cawan petri, masing-masing diambil ose penuh dan berturut-turut dimasukkan kedalam erlenmeyer yang telah berisi 100 ml air cucian beras Mekongga yang telah steril sehingga akan tumbuh biakan yang murni. Selanjutnya masing-masing media diinkubasikan selama 2 jam, pada suhu 30° C. Selanjutnya masing-masing media digojog (shaker) pada suhu 30° C, dengan kecepatan 175 rpm selama 2x24 jam.

5. Penghitungan Total Viable Spore Count (TVSC)

Penghitungan TVSC yang dilakukan mengacu pada metode Mardihusodo, yaitu Kultur bakteri yang berada pada masing-masing media dibuat pengenceran 10^{-1} sampai 10^{-10} dalam aquades, selanjutnya dipanaskan pada suhu 60° C selama 30 menit, kemudian masing-masing pengenceran diambil 0,1 ml dan ditaburkan dalam plat, lalu ditambahkan dengan Nutrinet Agar (NA, kemudian diinkubasikan selama 48 jam pada suhu 30° C (Mardihusodo, 1995). Jumlah spora atau TVSC bakteri *Bti* yang tumbuh di plat dihitung dengan metode hitungan cawan (Fardiaz, 1989). Terhadap koloni tersangka dilakukan pengecatan dengan cara membuat preparat olesan dengan ditetesi Naphtalen Black selama 2 menit dan Gurr's improved R 66 Giemsa selama 1 menit, kemudian diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 10 kali.

6. Analisis Kandungan Air cucian beras Mekongga

Analisis kandungan Air cucian beras Mekongga dilakukan di laboratorium Analisa bahan Pangan FTP, UGM. Sebanyak 100 ml air cucian beras Mekongga yang telah disterilkan, dianalisa kandungan karbohidrat, protein, dan lemak.

7. Uji Hayati (Bioassay), uji lanjutan penentuan LT50, dan Uji efek residu

Uji hayati diawali dengan pendahuluan untuk menentukan konsentrasi yang dapat membunuh 10% hingga 90% larva *Ae.aegypti*. Hasil uji pendahuluan *Bti* yang tumbuh dari media air cucian beras Mekongga yang menyebabkan kematian *Ae.aegypti* sebesar $\pm 20\%$ dan $\pm 80\%$ digunakan sebagai dasar untuk membuat variasi konsentrasi yang digunakan pada uji akhir. Selanjutnya *Bti* yang tumbuh dari

media air cucian beras Mekongga diujikan terhadap 25 ekor larva *Ae.aegypti*, dengan replikasi sebanyak tiga kali. Sebagai kontrol digunakan air dengan volume 100 ml pada wadah yang berisi 25 ekor larva nyamuk *Ae.aegypti*. Pengamatan kematian larva dilakukan pada paparan 24 jam dan 48 jam. Selanjutnya dihitung nilai LC_{50} dan LC_{90} digunakan analisis probit. Setelah diperoleh nilai konsentrasi pada LC_{50} hasil perhitungan probit, selanjutnya dilakukan uji lanjutan dengan membuat 3 replikasi untuk mencari LT_{50} . Nilai Konsentrasi yang didapat pada LC_{90} dari analisis probit, selanjutnya dilakukan efek residu terhadap larva uji selama 24 jam paparan.

8. Analisis Data

Analisis data yang dipakai dalam penelitian ini adalah analisa probit untuk penentuan LC_{50} , LC_{90} dan LT_{50} (Finney, 1971). Analisa data yang digunakan untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna berbagai konsentrasi terhadap kematian larva *Ae.aegypti* dengan uji Anova, dan untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan antara rerata kematian larva *Ae.aegypti* dari dua macam perlakuan digunakan uji t.

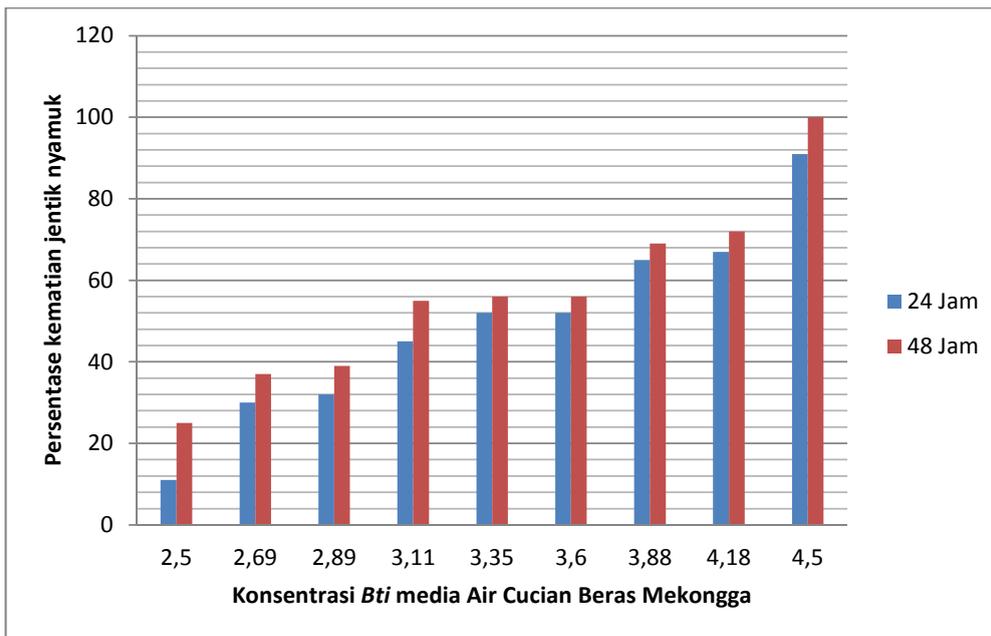
HASIL

Hasil penghitungan spora menunjukkan jumlah spora *Bti* pada media air cucian beras Mekongga yaitu $11,5 \times 10^7$ spora/ml. Pengecatan koloni tersangka juga menunjukkan adanya kristal protein *Bti* yang berwarna hitam dan spora yang berwarna ungu. Pada penelitian ini dilakukan analisa kandungan beras Mekongga. Hasil analisa kandungan beras Mekongga dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Analisa Kandungan air cucian beras Mekongga

No	Nutrient	Kandungan air cucian beras (%)
1	Karbohidrat	0,511
2	Lemak	0,18
3	Protein	0,259

Hasil uji patogenitas *Bti* media air cucian beras Mekongga pada pemaparan 24 jam dan 48 jam dapat dilihat pada gambar di bawah ini.



Gambar 1. Grafik Persentase kematian larva *Ae.aegypti* oleh *Bti* yang ditumbuhkan pada air cucian beras Mekongga setelah pengujian selama 24 dan 48 jam.

Hasil analisis probit untuk menentukan LC₅₀ dan LC₉₀ pada pengamatan 24 dan 48 jam pada berbagai konsentrasi *Bti* dari media air cucian beras Mekongga dapat dilihat pada Tabel 2 di bawah ini.

Uji efek residu yang diaplikasikan dari hasil LC₉₀ *Bti* yang ditumbuhkan dari media air cucian beras Mekongga pada penelitian ini dibandingkan dengan hasil uji efek residu *Bti* yang diambil dari media TPB (media komersial) sebagai pembandingan. Hasil uji efek residu dapat dilihat pada Tabel 3 di bawah ini.

Tabel 2. Hasil analisis probit daya bunuh larvasida *Bti* dari media air cucian beras Mekongga terhadap *Ae.aegypti*

Daya Larvisida(LC)	24 jam (ppm)	Rentang batas		48 jam (ppm)	Rentang batas	
		bawah	Atas		bawah	atas
LC50	3,321	3,217	3,427	3,119	1,763	3,307
LC90	4,945	4,583	5,336	4,722	1,763	5,354

Tabel 3. Hasil uji efek residu *Bti* yang ditumbuhkan pada media air cucian beras Mekongga dan TPB terhadap larva *Ae.aegypti*

Larvisida	Efek residu (hari)	Kontrol
<i>Bti</i> pada media Air Cuciian beras	4 hari	0 (tidak ada larva mati)
<i>Bti</i> pada media TPB	3 hari	0 (tidak ada larva mati)

PEMBAHASAN

Banyaknya jumlah spora *Bti* yang tumbuh dalam media air cucian beras Mekongga dipengaruhi oleh nutrient berupa sumber karbon (berasal dari karbohidrat), sumber nitrogen (dari 2protein), Lemak dan Mineral seperti Mg+2, Mn+2, Fe+2, Zn+2 dan Ca+2.

Berdasarkan jumlah spora yang dihasilkan, maka dapat dikatakan bahwa media air cucian beras Mekongga ternyata dapat membuat *Bti* memproduksi spora dengan baik. Penelitian serupa mengenai media air cucian beras sebagai media alternatif untuk pertumbuhan *Bt.H-14* galur lokal dilakukan oleh Yuniarti dan Blondine (2007), yang melaporkan 3 jenis beras asal pulau Jawa yang dimanfaatkan air cucian untuk pertumbuhan *Bt.H-14* galur lokal, dimana menghasilkan jumlah spora *Bt.H-14* galur lokal yang berbeda-beda pada air cucian beras C4 Super, Mentik, dan Pandanwangi, masing-masing sebesar 22,7 x 106 spora/ml, 18,1 x 106 Spora/ml, dan 6,3 x 106 spora/ml (Yuniarti & Ch.p Blondine, 2007).

Perbedaan jumlah spora ini terjadi karena kandungan bahan pada masing-masing jenis beras berbeda-beda. Pada air cucian beras C4 Super kandungan karbohidrat, protein dan lemak masing-masing sebesar 0,04 %, 0,04 % dan 0,01 %. Pada air cucian beras Mentik kandungan karbohidrat, protein, dan lemak masing-masing sebesar 0,12 %, 0,02 %, dan 0,01 %. Pada air cucian beras Pandanwangi kandungan karbohidrat, protein, dan lemak masing-masing 0,13 %, 0,04 %, dan 0,01 %.

Tabel 1 yang memperlihatkan secara jelas nutrien yang terkandung dalam media air cucian beras Mekongga menunjukkan bahwa didalam media air cucian beras Mekongga terkandung gula yang berasal dari karbohidrat dengan konsentrasi yang tinggi, dimana konsentrasi gula yang tinggi tersebut akan menurunkan pH, selanjutnya kondisi asam tersebut akan menghambat atau bahkan dapat menghentikan pertumbuhan baik sel maupun spora *Bti* (WHO, 2005), sedangkan apabila konsentrasi gula terlalu rendah, maka akan mempercepat berakhirnya pertumbuhan (Dulmage et al, 1990).

Hasil uji hayati menunjukkan pada *Bti* media air cucian beras Mekongga didapatkan variasi konsentrasi yang dapat mematikan larva *Ae.aegypti* berturut-turut adalah: 2,5 ppm, 2,69 ppm, 2,89 ppm, 3,11 ppm, 3,35 ppm, 3,60 ppm, 3,88 ppm, 4,18 ppm, 4,5 ppm. Konsentrasi *Bti* yang ditumbuhkan pada media air cucian beras Mekongga dapat mematikan jentik pada pemaparan 24 jam dengan presentase kematian jentik berturut-turut adalah: 11 %, 30 %, 32 %, 45 %, 52 %, 52 %, 65 %, 67% dan 91 %. Konsentrasi *Bti* yang ditumbuhkan pada media air cucian beras Mekongga

dapat mematikan jentik pada pemaparan 48 jam dengan persentase berturut-turut adalah: 25 %, 39 %, 55 %, 56 %, 56 %, 69 %, 72 %, dan 100 %.

Data yang diperoleh dari analisis probit menunjukkan bahwa *Bti* yang ditumbuhkan pada media air cucian beras Mekongga dapat memberikan reaksi patogenitas terhadap *Ae.aegypti* lebih dari 80 % pada paparan 24 jam. Cepatnya reaksi patogenitas tersebut mungkin ada kaitannya dengan dosis yang dimakan larva uji. Hal ini terlihat dari makin konsentrasi yang diberikan maka makin tinggi kematian larva. Serangga mati beberapa jam sampai 3 minggu setelah menelan spora dan kristal protein tergantung dosis yang termakan dan tergantung pula oleh sifat patogennya (Barjac, 1978).

Hasil analisis probit menunjukkan bahwa LC₅₀ dan LC₉₀ pada pemaparan *Bti* media air cucian beras Mekongga selama 24 jam adalah 3,321 dan 4,945 ppm, sedangkan pada pemaparan selama 48 jam nilai LC₅₀ dan LC₉₀ berturut-turut adalah 3,119 ppm dan 4,722 ppm. Uji lanjutan yang merupakan aplikasi LC₅₀ *Bti* media air cucian beras Mekongga untuk mencari nilai LT₅₀. Pada pengujian ini dibuat 3 replikasi untuk dilakukan pengamatan setiap 24 jam sampai 168 jam atau 7 hari dan dicatat kematian larva. Nilai LT₅₀ *Bti* media air cucian beras Mekongga adalah 45,49 jam sedangkan nilai LT₅₀ konsentrasi *Bti* media TPB adalah 192,50 jam.

Hasil uji efek residu memperlihatkan bahwa *Bti* yang ditumbuhkan dari media air cucian beras Mekongga dapat mematikan lava *Ae.aegypti* hingga 50 % sampai 4 hari, sedangkan *Bti* media TPB dapat mematikan larva sampai 50 % sampai 3 hari. Perbedaan umur residu dari *Bti* media air cucian beras Mekongga dan *Bti* media TPB dimungkinkan oleh adanya perbedaan daya degradasi toksin yang dihasilkan oleh *Bti* yang ditumbuhkan dari media yang berbeda tersebut. Hal ini sesuai dengan laporan yang menunjukkan bahwa efek residual *Bti* dipengaruhi oleh kandungan zat organik dan zat makanan (Pantuwatana et al, 1989). Pada penelitian yang lain dilaporkan bahwa *Bti* memiliki efek residu sampai 16 minggu pada wadah penampungan air (A.Ritchie et al, 2010). Pada penelitian terdahulu juga dilaporkan bahwa *Bti* tidak dapat bertahan dalam lingkungan setelah diaplikasikan, terdapat daya penurunan efikasi dalam beberapa hari, disertai aktivitas residu yang kecil setelah beberapa hari (Glare & O'Callaghan, 1998).

Analisis data dengan uji Anova dilakukan untuk melihat perbedaan kematian larva *Ae.aegypti* dari berbagai konsentrasi *Bti* media air cucian beras Mekongga terhadap kematian *Ae.aegypti* dari pengamatan 24 jam dan 48 jam. Hasil uji Anova berbagai konsentrasi *Bti* media air cucian beras Mekongga terhadap kematian *Ae.aegypti* selama 24

jam, menunjukkan besarnya F hitung jauh lebih besar dari F tabel, demikian juga pada pengamatan kematian larva selama 48 jam, besarnya F hitung jauh lebih besar dari F tabel. Hal ini berarti ada perbedaan rerata kematian larva *Ae.aegypti* yang dipengaruhi oleh perbedaan konsentrasi baik pada pengamatan 24 jam maupun 48 jam. Masing-masing konsentrasi diketahui memiliki perbedaan yang bermakna ($P < 0,05$).

Hasil yang diperoleh dari uji Anova menunjukkan bahwa pada *Bti* media air cucian beras Mekongga masing-masing konsentrasinya mempunyai pengaruh terhadap hasil kematian larva. Adanya perbedaan bermakna dari rata-rata kematian larva *Ae.aegypti* pada berbagai konsentrasi *Bti* media air cucian beras Mekongga kemungkinan disebabkan oleh perbedaan jumlah kristal spora *Bti* pada masing-masing konsentrasi yang diujikan.

Analisis data menggunakan uji t berpasangan bertujuan untuk mengetahui perbedaan kemaknaan antara rerata kematian 24 jam dengan rerata kematian 48 jam oleh larvisida *Bti* media air cucian beras Mekongga memperlihatkan perbedaan yang bermakna antara rerata kematian 24 jam dan rerata kematian 48 jam. Perbedaan yang bermakna antara rerata kematian *Ae.aegypti* antara 24 jam dengan 48 jam adalah terletak pada perbedaan presentase kematian oleh besar kecilnya dosis *Bti* yang diberikan. Dosis *Bti* yang rendah baru akan memberikan pengaruh presentase kematian yang signifikan setelah dipaparkan selama 48 jam, sedangkan dengan dosis yang tinggi *Bti* sudah memberi pengaruh presentase kematian yang signifikan cukup dengan 24 jam dipaparkan pada larva *Ae.aegypti*. Kematian larva yang berlangsung cepat sesuai dengan teori yang menyatakan bahwa toksin dari *Bti* bekerja sangat cepat, sehingga dalam beberapa menit larva akan mati, apabila terpapar *Bti* (Mardihusodo, 1989).

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, maka dapat diambil kesimpulan bahwa *Bti* dapat tumbuh pada media air cucian beras Mekongga dan efektif membunuh larva *Ae.aegypti* strain Kendari pada pengujian selama 24 jam dengan konsentrasi LC_{50} dan LC_{90} masing-masing adalah 3,321 ppm dan 4,945 ppm, sedangkan pada pengujian selama 48 jam nilai LC_{50} dan LC_{90} masing-masing adalah 3,119 ppm dan 4,721 ppm. Nilai LT_{50} *Bti* media air cucian beras Mekongga adalah 192,50 jam. Efek residu *Bti* media air cucian beras Mekongga yang menyebabkan kematian larva *Ae.aegypti* strain Kendari hingga mencapai 50 % kematian adalah 4 hari.

Saran

Penelitian ini perlu dikembangkan dengan mengaplikasikan dosis patogen dari *Bti* media air cucian beras Mekongga di lapangan. *Bti* media air cucian beras Mekongga juga perlu dicobakan pada larva nyamuk yang berperan sebagai vektor malaria dan filariasis seperti *Anopheles aconitus* dan *Culex sp.*

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Ketua Minat Bagian Parasitologi FK UGM dalam memberikan ijin pelaksanaan penelitian. Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada teknisi laboratorium Parasitologi bagian entomologi FK UGM yang telah membantu penulis selama penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- A.Ritchie, S., P.Rapley, L. & Benjamin, S., 2010. *Bacillus thuringiensis var.israelensis* (Bti) Provides Residual Control of *Aedes aegypti* in Small Containers. *The American Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 82(6), pp.1053–1059.
- Barjac, D., 1978. *Sheet on the Biological control agent Bacillus thuringiensis serotype H-14.*, World Health Organization.
- Dinkes Provinsi Sulawesi Tenggara, 2015. *Profil Dinkes Kota Kendari Tahun 2015.*, Kendari.
- Direktorat Gizi Depkes, 1991. *Daftar Komposisi Bahan makanan*, Jakarta: Bhatara Karya.
- Dulmage et al., 1990. *Guidelines for production of Bacillus Thuringiensis H-1 and Bacillus sphericus* Dulmage, ed., New York,USA: UNDP/WHO special Programme for research and training in Tropical Disease (TDR).
- Fardiaz, S., 1989. *Analisis Mikrobiologi Pangan*, Bogor: PAU Pangan dan Gizi IPB.
- Finney, D., 1971. *Probit analysis* 3 ed., London: Cambridge University press.
- Glare, T.R. & O'Callaghan, M., 1998. *Environmental and health impacts of Bacillus thuringiensis israelensis*, Lincoln.
- Kosiyachinda, 2003. Enhancement of the efficacy of a combination of *Mesosyclops aspericornis* and *Bacillus thuringiensis var. israelensis* by community-based product in controlling aedes aegypti Larvae in Thailand. *Journall Tropical medicine*, 2(69), pp.206–211.
- Kustriastuti, R., 2010. *Data Kasus DBD per bulan di indonesia tahun 2010, 2009, dan tahun 2008.*, Jakarta: PPBB.

- Lee, H. et al., 2008. Impact of larvaciding with a *Bacillus thuringiensis israelensis* formulation, Vectobac WG, on Dengue mosquito vectors in a dengue endemic site in Selangor state, Malaysia. *The southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 39(4), pp.602–608.
- Mardihusodo, 1989. *Sensitivitas larva nyamuk Anopheles aconitus terhadap Bacillus thuringiensis H-14 dan bacillus sphaericus 1593 di laboratorium*, Yogyakarta.
- Mardihusodo, S., 1995. Entomotoxicity of *Bacillus sphaericus 1593* after fermentation in media of local material. *Jurnal kedokteran yarsi*, 3(2), pp.46–51.
- Mulla, M., Darwaseh, A., & C.Aly, 1986. Laboratory and Field Studies on New Formulations of two Microbial Agent Mosquitoes. *Bull Soc.Vector Ecol*, 11(2), pp.255–305.
- Nugraha, S., 2008. Beras dan indeks Glikemiknya. *Balai Besar Penelitian dan pengembangan Pascapanen*. Available at: <http://www.pustaka-deptan.go.id> [Accessed January 2, 2014].
- Pantuwatana, S., Maneeroj, R. & Upatham, E., 1989. Long residual activity of *Bacillus sphaericus 1593* against *Culex quinquefasciatus larvae* in artificial pools. *Southeast Asian Journal Tropical medicine Pubic health*, 20(3-4), pp.421–427.
- Prabakaran, G. et al., 2008. Coconut water as a cheap source for the pruction of delta endotoksin of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*, a masquito control agent. *Jornal Acta tropica*, 105, pp.35–38.
- Sembel, 2009. *Entomologi Kedokteran* CV.Yogyakarta, ed., Yogyakarta: C.V.Yogyakarta.
- Sungkar S, 2002. *Demam Berdarah dengue*, Jakarta: Ikatan Dokter Indonesia.
- Visser B, Bosch, D. & Honee G, 1993. *Bacillus thuringiensis an environmental Biopesticide: Theory and Paractice*, England: John Wilay & Sons LTD: West Sussex.
- WHO, 1991. *Biological control of vectors.*, Geneva: WHO.
- WHO, 1979. Data Sheet on The Biological Control Agent *Bacillus thuringiensis* serotype H-14. *WHO/VBC/79, 750*, pp.1–13.
- WHO, 1999a. *Demam Berdarah dengue. Diagnosis, pengobatan, pencegahan, dan pengendalian, Edisi ke 2. Edisi Ke 2.*, Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- WHO, 2005. *Guidelines For Laboratory and Field Testing of masquito larvacides WHO Communicable disease control, Prevention, and eradication*, Geneva.
- WHO, 1999b. *Microbial Pest Control Agent “ Bacillus Thuringiensis,”* Geneva: WHO Press.
- Yuniarti, R.A. & Ch.p Blondines, 2007. Pengembangbiakan *Bacillus thuringiensis* H-14 Galur Lokal Menggunakan Media Air Cucian Beras. *Media Litbang Kesehatan*, XVII(April), pp.14–20.