

## UJI PATOGENITAS *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* TERHADAP LARVA NYAMUK *Aedes* sp. SEBAGAI BIOKONTROL PENYEBAB PENYAKIT DEMAM BERDARAH DENGUE DI DENPASAR TAHUN 2014

Hari Laksmi Santi\*, Sang Gede Purnama

Program Studi Kesehatan Masyarakat Fakultas Kedokteran Universitas Udayana

\*email : ashantie\_z\_capunk@yahoo.com

### ABSTRACT

The Dengue Hemorrhagic Fever (DHF) in Indonesia increases every year. In 2008, cases of DHF in Indonesia accounted 137,469 cases (IR: 59.02 per 100,000 population, CFR 0.86%). This increased in 2009 to 154,855 DHF cases (IR: 66.48 per 100,000, CFR 0.89%). In 2010, Indonesia experienced the highest DHF case in ASEAN, namely 156,086 cases with 1,358 deaths (Kemenkes, 2011). Many preventive efforts had been carried out to eradicate *Aedes* sp. The bioinsecticide vector control using *Bacillus thuringiensis* is safe for the environment and humans compared to the synthetic insecticides. This study evaluated the pathogenicity of *B. thuringiensis* against larvae of *Aedes* sp. in Denpasar city. This study conducted Quasy Experimental Design of 6 treatments, concentrations of 50 µL, 40 µL, 30 µL, 20 µL, 10 µL and 1 control, with 4 repetitions. The number of cells and spores of *B. thuringiensis* used in this study was  $11.2 \times 10^9$  cfu/ml and  $7.43 \times 10^9$  cfu/ml, respectively. The highest mean score difference compared to the control was the 50 µL concentration with average larvae mortality at 6 hours of 96%, increasing to 100% in 12 and 24 hours. LC50 concentration within 6 hours was 4 µL/L, and LC90 concentration was 16 µL/L. Using statistical test, average mortality of larvae *Aedes* sp. at all concentrations were similar ( $p \leq 0.005$ ). The greater concentration of *B. thuringiensis* and the longer exposure time leads to a greater mortality of *Aedes* sp. larvae

**Keywords:** Dengue Hemorrhagic Fever (DHF), *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*, and *Aedes* sp.

### ABSTRAK

Penyakit Demam Berdarah *Dengue* (DBD) di Indonesia semakin meningkat setiap tahunnya. Tahun 2008 kasus DBD di Indonesia sebanyak 137.469 kasus (IR : 59,02 per 100.000 penduduk, CFR 0,86%) mengalami kenaikan pada tahun 2009 yaitu sebesar 154.855 kasus (IR : 66,48 per 100.000, CFR 0,89%) dan pada tahun 2010 Indonesia menempati urutan tertinggi kasus DBD di ASEAN yaitu sebanyak 156.086 kasus dengan kematian 1.358 orang (Kemenkes, 2011). Berbagai upaya preventif telah dilakukan untuk memberantas nyamuk *Aedes* sp. Pengendalian vektor menggunakan bioinsektisida bakteri *Bacillus thuringiensis* lebih aman bagi lingkungan dan manusia dibandingkan insektisida sintetik. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui patogenitas *B. thuringiensis* terhadap larva nyamuk *Aedes* sp. di Denpasar. Penelitian ini menggunakan metode *quasy experimental* dengan 6 perlakuan yaitu konsentrasi 50 µl, 40 µl, 30 µl, 20 µl, 10 µl dan 1 kontrol yang diaplikasikan dalam 4 kali pengulangan. Pada pengukuran jumlah sel dan spora bakteri ditemukan bahwa jumlah sel bakteri *B. thuringiensis* sebesar  $11,2 \times 10^9$  cfu/ml dan spora bakteri  $7,43 \times 10^9$  cfu/ml. Perlakuan yang memiliki nilai beda *mean* paling tinggi dibandingkan dengan kontrol adalah perlakuan konsentrasi 50 µl dengan rata-rata kematian larva nyamuk pada waktu 6 jam sebesar 24 ekor (96%), meningkat pada rentang waktu 12 dan 24 jam menjadi 25 ekor (100%). Untuk membunuh 50% larva nyamuk (LC<sub>50</sub>) dalam waktu 6 jam diperlukan konsentrasi sebesar 4 µl/L air, sedangkan untuk membunuh 90% larva nyamuk (LC<sub>90</sub>) dalam waktu 6 jam memerlukan konsentrasi sebesar 16 µl/L air. Berdasarkan uji statistik, rata-rata kematian larva nyamuk *Aedes* sp. pada pengamatan 6 dan 12 jam, konsentrasi 50 µl, 40 µl, dan 30 µl memiliki efektivitas yang sama ( $p \leq 0,05$ ). Semakin besar konsentrasi *B. thuringiensis* dan semakin lama waktu paparan maka semakin besar rata-rata kematian larva nyamuk *Aedes* sp.

**Kata kunci:** Demam Berdarah *Dengue* (DBD), *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*, dan *Aedes* sp.

## PENDAHULUAN

Demam Berdarah *Dengue* (DBD) merupakan satu masalah kesehatan masyarakat yang disebabkan oleh virus *Dengue* dengan vektor nyamuk *Aedes aegypti*. Penyakit DBD menjadi kejadian luar biasa (KLB) pada daerah padat penduduk dan kumuh (*slum area*) terutama saat perubahan musim kemarau ke musim hujan atau sebaliknya (Depkes, 2004).

DBD lebih banyak menyerang anak-anak dibandingkan orang dewasa (James, 2000). Kejadian penyakit DBD di Indonesia semakin meningkat yaitu 137.469 kasus (CFR 0,86%; IR 59,02 per 100.000 penduduk) pada tahun 2008, dan mengalami peningkatan pada tahun 2009 menjadi 154.855 kasus (CFR 0,89%; IR 66,48 per 100.000), dan pada tahun 2010 Indonesia menempati urutan tertinggi kasus DBD di ASEAN yaitu sebanyak 156.086 kasus (CFR 0,87%; IR 65,7 per 100.000) (Kemenkes, 2011).

Di Provinsi Bali, pada tahun 2012 terjadi kasus DBD sebesar 2.649 kasus (CFR 0,11%; IR 65,9 per 100.000 penduduk) (Dinkes, 2012b), diatas target nasional yaitu 55 per100.000 penduduk, sehingga penyakit DBD menjadi masalah utama kesehatan masyarakat di Bali (Depkes, 2004).

Kota Denpasar memiliki jumlah penduduk yang tertinggi di Provinsi Bali yaitu 847.500 jiwa dengan kepadatan penduduk 6632,49 per km<sup>2</sup> (Dinkes, 2012b). Tahun 2010 IR DBD di kota Denpasar sebesar 561,99 per 100.000 penduduk (CFR 0,54%) menurun pada tahun 2011 menjadi 125,82 per 100.000 penduduk (CFR 0,20%). Namun pada tahun 2012 mengalami peningkatan menjadi 1009 kasus dengan (CFR:0,3%; IR 132,83 per 100.000 penduduk

(Dinkes, 2012a). Melihat IR diatas target nasional, maka Kota Denpasar dikatakan kota endemis DBD.

Berbagai upaya promotif dan preventif telah dilakukan untuk memberantas nyamuk *Aedes* sp, namun tetap saja kejadian DBD di kota Denpasar masih tinggi. Pengendalian vektor merupakan bagian dari pemberantasan penyakit menular yang didasarkan atas pemutusan rantai penularan (Blondine, 2010). Pengendalian vektor yang populer di masyarakat adalah menggunakan insektisida kimia yang mengandung senyawa beracun berbahaya bagi manusia dan lingkungan. Selain itu akan terjadi resistensi serangga apabila diaplikasikan secara berulang pada satu ekosistem (Kemenkes, 2011). Hal ini diperkuat dengan studi resistensi larva *Aedes aegypti* terhadap temephos (LC<sub>99</sub>= 0,0243 ppm) yaitu di Kecamatan Banjarmasin Kalimantan Barat (Istiana *et al.*, 2012), Surabaya, Palembang, dan Bandung (Raharjo, 2006). Temephos/abate sangat beracun untuk beberapa burung, organisme air bahkan serangga lain seperti lebah jika disalahgunakan (EPA, 2000). Oleh karena itu dibutuhkan alternatif lain yang lebih aman bagi penanganan vektor DBD tersebut.

Metode bioinsektisida bakteri *Bacillus thuringiensis* merupakan salah satu cara yang aman bagi lingkungan (Utami, 2012), tidak berbahaya bagi manusia bila digunakan dalam air minum pada konsentrasi yang normal dan tidak mengganggu lingkungan sekitarnya karena tanpa menyerang predator entomophagus (Kemenkes, 2011).

Beberapa peneliti telah menemukan dan mengisolasi bakteri isolat lokal *B. thuringiensis* yang berpotensi dalam

pengendalian *A. aegypti* di Indonesia untuk mendukung pemberantasan vektor DBD sebagai alternatif pengendalian nyamuk tanpa mengurangi patogenesis terhadap nyamuk (Utami, 2012). Namun, penggunaan *B. thuringiensis* masih belum populer di masyarakat. Oleh karena itu, peneliti tertarik untuk mengetahui patogenitas *B. thuringiensis* terhadap larva nyamuk *Aedes* sp. di Denpasar.

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan pada bulan Maret-April 2014, bertempat di Laboratorium Kesehatan Masyarakat Fakultas Kedokteran Universitas Udayana, Denpasar.

Penelitian ini berjenis *quasy experimental design* yaitu menguji patogenitas *B. thuringiensis* var. *israeliensis* (BTi) terhadap larva nyamuk *Aedes* sp., dengan memberikan perlakuan/intervensi pada sampel kemudian menganalisis perubahan dari perlakuan pada kelompok eksperimen dan kelompok kontrol tanpa melakukan randomisasi pada sampel (Sastroasmoro & Ismael, 2011). Penelitian ini menggunakan pendekatan subjek prospektif dengan 6 perlakuan yaitu konsentrasi 50 µl, 40 µl, 30 µl, 20 µl, 10 µl dan 1 kontrol yang diaplikasikan dalam 4 kali pengulangan.

Penentuan jumlah ulangan menggunakan estimasi dengan rumus sebagai berikut:

$$(R-1)(T-1) \geq 15$$

Keterangan:

R : Jumlah ulangan

T : Jumlah perlakuan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain bakteri *B. thuringiensis*, larva nyamuk *Aedes* sp., air, aquades, alkohol, dan media *Nutrient Agar* (NA).

Sedangkan alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah ovitrap, autoclave, laminair air blow cabinet, cawan petri, labu erlenmeyer, lampu spritus, meja, masker, mikro pipet, gelas ukur, timbangan digital, sentrifuge, mikroskop, computer, kantong plastik, kamera, tisu, kapas, kertas aluminium foil, kertas label, alat tulis, dan buku catatan.

Adapun rincian metode kerja dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

### 1. Pembiakan Larva

Setiap kecamatan di wilayah Denpasar dipilih 5 (lima) rumah dengan metode *purposive sampling* untuk dijadikan tempat pengambilan sampel telur nyamuk menggunakan ovitrap. Telur hasil penangkapan tersebut dikeringkan tetapi tidak terkena sinar matahari langsung. Telur kering digabungkan pada suatu wadah yang berisi air bersih sehingga larva nyamuk menetas di dalam laboratorium dalam waktu 3 hari. Pada fase instar III larva dipisahkan untuk kelompok perlakuan dan kelompok kontrol.

### 2. Perhitungan Jumlah Sel Bakteri

Perhitungan jumlah sel bakteri dilakukan dengan melakukan pengenceran  $10^{-1}$ – $10^{-10}$  kultur bakteri *B. thuringiensis*. Sebanyak 0,1 ml diinokulasikan dalam cawan petri yang berisi 20 ml medium *Nutrient Agar* sebanyak 3 kali ulangan. Setelah diinkubasi selama 48 jam pada suhu

30°C dihitung rata-rata jumlah sel bakteri *B. thuringiensis* yang tumbuh pada cawan petri.

### 3. Perhitungan Jumlah Spora

Sebanyak 1 ml *B. thuringiensis* dilarutkan dalam 10 ml akuades, dikocok sampai homogen kemudian diencerkan dengan pengenceran  $10^{-1}$  –  $10^{-10}$ . Setelah dipanaskan pada suhu 60°C selama 30 menit, sebanyak 1 ml diinokulasikan dalam 20 ml medium *Nutrient Agar* dalam cawan petri, sebanyak 3 kali ulangan. Setelah inkubasi selama 48 jam pada suhu 30°C, dihitung rata-rata jumlah spora bakteri *B. thuringiensis* yang tumbuh.

### 4. Uji Patogenitas Bakteri (Perhitungan *Lethal Concentration*)

Uji patogenitas dilakukan dengan membuat 5 kelompok perlakuan dan 1 kontrol dilakukan 4 kali pengulangan untuk membandingkan daya bunuh sesuai konsentrasi yang ingin diteliti dengan menempatkan 25 larva nyamuk instar III ke dalam masing-masing cawan petri. Konsentrasi BTi yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 5 konsentrasi (50 µl, 40 µl, 30 µl, 20 µl, dan 10 µl) yang dilarutkan pada 2,5 liter aquades. Pada kelompok kontrol, larva nyamuk tidak diberikan perlakuan penambahan bakteri. Selanjutnya dihitung jumlah larva yang mati setelah 24 jam perlakuan dan dilakukan secara 4 kali pengulangan. Kemudian dilakukan perhitungan *Lethal Concentration* 50% dan 90% dalam jangka waktu 24 jam ( $LC_{50}$  dan  $LC_{90}$ ) dari hasil uji patogenitas *B. thuringiensis* terhadap larva nyamuk *Aedes* sp.

Data kemudian dianalisis menggunakan uji statistik (*Kruskal Wallis* dan *Mann Whitney*) untuk mengetahui perbedaan rata-rata kematian larva nyamuk *Aedes* sp. dari pengaruh *B. thuringiensis*. Hasil penelitian ini disimpulkan sesuai dengan hasil uji statistik antar perlakuan sehingga diketahui konsentrasi efektif yang dapat dipergunakan dalam mengendalikan larva nyamuk *Aedes* sp.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

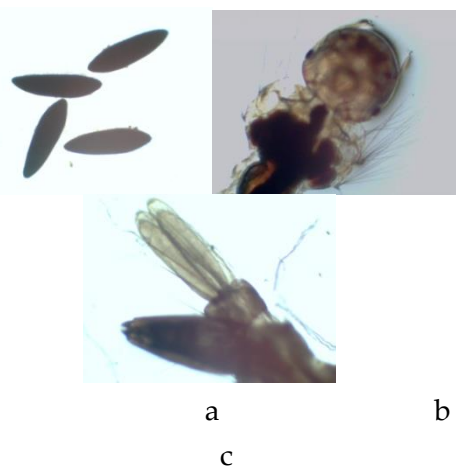
### Patogenitas *B. thuringiensis* Terhadap Larva Nyamuk *Aedes* sp. di Denpasar

Perhitungan jumlah sel bakteri dan spora *B. thuringiensis* selama 3x replikasi pada media *Nutrient Agar* disajikan dalam bentuk Tabel 1.

Tabel 1. Gambaran Jumlah Sel dan Spora Bakteri *B. thuringiensis* dalam Konsentrasi 1 ml.

Perlakuan	Pengulangan/ Replikasi			Rata-rata 10 <sup>9</sup> (cfu/ml)
	I	II	III	
Sel	113	122	101	11,2
Spora Bakteri	71	77	75	7,43

Rata – rata jumlah sel bakteri yang ditumbuhkan pada media NA sebesar  $11,2 \times 10^9$  cfu/ml, sedangkan rata – rata jumlah spora bakteri sebesar  $7,43 \times 10^9$  cfu/ml. Identifikasi jenis telur dan larva nyamuk *Aedes* sp. dengan melihat morfologi dari telur dan larva nyamuk dengan menggunakan mikroskop.



Gambar 1. a. Telur; b. dan c. Larva nyamuk *Aedes* sp.

Morfologi telur *Aedes* sp. berbentuk oval, tanpa alat apung, dan menempel pada dinding tempat penampungan air, di atas

permukaan air jernih. Hal tersebut sesuai dengan apa yang disebutkan oleh Soegijanto, 2006 dalam Ayu, 2009 bahwa telur *Aedes* sp. diletakkan di perbatasan permukaan air pada tempat penampungan air. Morfologi larva *Aedes* sp. terdiri dari bagian caput, thorax, dan abdomen. Terlihat pada bagian abdomen terdapat 1 baris *comb scale*, larva *Aedes* sp. mempunyai sifon pada segmen abdomen VIII, sifon atau corong udara terdapat *pecten* dengan satu kelompok rambut, dan larva *Aedes* sp. jika beristirahat membentuk sudut untuk mengambil udara. Ciri larva nyamuk *Aedes* sp. tersebut serupa dengan yang disebutkan oleh Cutwa & O'Meara, 2007.

Tabel 2. Rata-rata dan Persentase Kematian Larva *Aedes* sp. dalam waktu 24 Jam

Perlakuan Konsentrasi	Rata-rata Kematian (%)		
	6 jam	12 jam	24 jam
50 $\mu$ l	24 (96)	25 (100)	25 (100)
40 $\mu$ l	24 (96)	24,75 (99)	24,75 (99)
30 $\mu$ l	21,75 (87)	24 (96)	24,75 (99)
20 $\mu$ l	17,75 (71)	23,50 (94)	24,50 (98)
10 $\mu$ l	14,75 (59)	20,75 (81)	22 (88)
Kontrol	0	0	0

Berdasarkan tabel 2 diatas maka terlihat perbedaan rata-rata kematian larva *Aedes* sp. dengan perbedaan pemberian konsentrasi *B. thuringiensis*. Perlakuan yang memiliki nilai beda *mean* paling tinggi dibandingkan dengan kontrol adalah perlakuan konsentrasi 50  $\mu$ l dengan rata-rata kematian larva nyamuk pada waktu 6 jam sebesar 24 ekor (96%), meningkat pada rentang waktu 12 dan 24 jam menjadi 25 ekor (100%). Untuk membunuh 50% larva nyamuk ( $LC_{50}$ ) dalam waktu 6 jam maka memerlukan konsentrasi sebesar 10  $\mu$ l per

2,5 liter air setara dengan konsentrasi 4  $\mu$ l per liter air, sedangkan untuk membunuh 90% larva nyamuk ( $LC_{90}$ ) dalam waktu 6 jam memerlukan konsentrasi sebesar 40  $\mu$ l atau 1 tetes per 2,5 liter air setara dengan 16  $\mu$ l per liter air.

Semakin besar konsentrasi *B. thuringiensis* yang digunakan maka semakin besar rata-rata kematian larva nyamuk *Aedes* sp. dan semakin lama waktu yang diberikan maka semakin besar rata-rata kematian larva nyamuk *Aedes* sp. Hal tersebut juga didapatkan pada uji analisis statistik

perbandingan rata-rata kematian larva nyamuk *Aedes* sp. dimana rangking terkecil terlihat pada kelompok perlakuan dengan konsentrasi terkecil (10  $\mu$ l) dan rangking terbesar terlihat pada kelompok perlakuan dengan konsentrasi terbesar (50  $\mu$ l) dalam waktu 6 atau 12 atau 24 jam pengamatan.

Analisis *Kruskal Wallis* menunjukkan selama waktu 6 jam, 12 jam, dan 24 jam nilai  $p \leq 0,05$ , yang berarti ada perbedaan signifikan rata-rata persentase kematian larva nyamuk *Aedes* sp. per konsentrasi yang diuji. Dari hasil uji statistik *Mann Whitney* menunjukkan kelompok perlakuan memiliki perbedaan secara signifikan rata-rata persentase kematian larva nyamuk *Aedes* sp. jika dibandingkan dengan kelompok kontrol. Patogenitas BTi pada konsentrasi 50  $\mu$ l, 40  $\mu$ l, dan 30  $\mu$ l dalam waktu 6 sampai 12 jam rata-rata persentase kematian larva nyamuk *Aedes* sp. tidak berbeda secara signifikan sedangkan pada konsentrasi BTi pada 20  $\mu$ l dan 10  $\mu$ l ada perbedaan secara signifikan. Sedangkan pemaparan dalam waktu 24 jam tidak terjadi perbedaan yang signifikan pada pemberian konsentrasi BTi 50  $\mu$ l, 40  $\mu$ l, 30  $\mu$ l, dan 20  $\mu$ l terhadap rata-rata persentase kematian larva nyamuk *Aedes* sp.

Purnama et al, 2012 menyatakan bahwa jumlah sel pada media NB (Nutrient Broth) sebesar  $8,43 \times 10^9$  cfu/ml dan pada media limbah cair tahu sebesar  $8,96 \times 10^9$  cfu/ml, sedangkan jumlah spora untuk media NB sebesar  $4,43 \times 10^9$  spora/ml dan jumlah spora pada media limbah cair tahu sebanyak  $7,93 \times 10^9$  spora/ml. untuk membunuh 100% jentik pada media limbah cair tahu diperlukan dosis 0,075 ml/liter dan pada media NB dibutuhkan dosis 0,1 ml/liter

dalam waktu 24 jam. *B. thuringiensis* isolat Madura dapat membunuh larva nyamuk *Aedes aegypti* instar 1 sebesar 88,89% dalam waktu 24 jam dengan kepadatan bakteri sebesar  $1,51 \times 10^8$  sel/ml-1 (Gama et al., 2010).

Pada media air kelapa jumlah sel dan spora strain local *B. thuringiensis* sebesar  $10,5 \times 10^8$  sel/ml dan  $11,4 \times 10^8$  spora/ml dan pada pengenceran  $13 \times 10^{-5}$ ,  $31 \times 10^{-5}$ , dan  $7 \times 10^{-5}$  dapat membunuh 50% (LC50) jentik *Ae. aegypti*, *An. aconitus*, dan *Cx. Quinquefasciatus* dalam waktu 24 jam (Blondine et al., 2000). Untuk LD50 dibutuhkan 1,732 ppm dan LD90 membutuhkan 21,876 ppm dalam membunuh larva *Ae. aegypti* di laboratorium, sedangkan untuk membunuh larva pada daerah endemik LD50 membutuhkan 4,769 ppm dan LD90 membutuhkan 68,229 ppm (Dwi & Wulandari, 2007). *B. thuringiensis* isolat MDn 1 TK2 dan SK.T mempunyai efektifitas yang tinggi dalam membunuh larva *Aedes aegypti* pada instar III dengan persentase kematian berturut-turut 100% dan 70% (Lidwina et al., 2013).

Penelitian lain kerentanan *Ae. albopictus* terhadap berbagai insektisida digunakan sebagai dasar dalam pengendalian *Ae. aegypti* di lapangan. Konsentrasi letal atau konsentrasi yang diperlukan dalam insektisida yang umum digunakan untuk mengendalikan *Ae. aegypti* dan *Ae. albopictus* adalah sebagai berikut : temephos 3.058 dan 6.632 ppb, permetrin 3.143 dan 4.933 ppb, cis-permetrin 4.457 dan 10.068 ppb, trans-permetrin 1.510 dan 3.883 ppb, BTi 0,655 dan 0,880 ppb, serta pyriproxyfen 0,00774 dan 0,01642 ppb (Andrea et al., 2011). Hasil penelitian lain

menemukan bahwa BTi, pyriproxyfen dan temephos efektif dalam mengendalikan larva *Ae. aegypti* dengan nilai mortalitas sebesar 100z, mortalitas terhadap pupa *Ae. aegypti* sebesar 1,5-7,8z, sedangkan Aquatain AMF efektif mengendalikan tahap pupa sebesar 100z tetapi mortalitas terhadap larva kecil sebesar 38,0z, larva besar 78,0z, dan minyak larvasida efektif mengendalikan pada tahap dewasa dengan mortalitas sebesar 93,3-100z (Wang et al., 2013).

Jika dibandingkan dengan penelitian Darmadi Agus (2013) di Denpasar patogenitas BTi lebih tinggi daripada Larvasida Pyriproxin karena efektifitas Larvasida Pyriproxin 0,5% pada dosis standar memiliki daya bunuh 70% sehingga diperlukan dosis diatas standar minimal 0,75 g/L untuk membunuh diatas 70% larva *Aedes*. Sedangkan konsentrasi yang diperlukan oleh BTi untuk membunuh 100% larva *Aedes* sp. hanya 40-50 µl per 2,5 liter air.

Dalam penelitian dari Desember 2007-Juni 2008 di Shah Alam, Selangor ditemukan bahwa LC50 dari temephos sepanjang tahun dari dua lokasi berkisar 0,007040-0,3799 mg/L. Indikasi rasio resistensi terhadap temephos akan meningkat setiap waktu dari 1,2-6,7 lipat. Untuk LC50 dari BTi berkisar 0,08890-1,814 mg/L sepanjang tahun di dua lokasi yang menunjukkan adanya kerentanan yang seragam dari larva di lapangan terhadap BTi. Tidak ada resistensi silang dari temephos ke BTi terhadap *Ae. aegypti* (Loke et al., 2010). Hal serupa juga ditemukan Paulana et al., 2013 dimana tidak terjadi resistensi silang dari temephos ke BTi. Dari 14 populasi *Ae. aegypti* di Brazil semua ditemukan resistensi terhadap

temephos. Respon terhadap BTi dengan rasio resistensi maksimum sebesar 2,1 pada populasi yang tidak diobati, sedangkan pada dua populasi BTi yang diobati rasio resistensi maksimum sebesar 1,9. Penelitian tersebut dilakukan pada populasi yang telah terkena agen BTi selama lebih dari sepuluh tahun.

Perbedaan jumlah sel ataupun spora bakteri *B. thuringiensis* pada penelitian lain yang berpengaruh pada konsentrasi atau dosis yang diperlukan untuk membunuh larva nyamuk *Aedes* sp. Perbedaan daya bunuh BTi dibanding dengan penelitian lain tidak terjadi terlalu signifikan sehingga *B. thuringiensis* efektif sebagai pengendali vektor Demam Berdarah Dengue secara biologi.

Hasil tersebut dilakukan pada tempat penampungan air (TPA) dengan volume airnya konstan, tetapi jika TPA pada kamar mandi di lapangan maka kondisinya akan berbeda. Jika air terpakai, maka BTi yang terlarut akan terbuang dan jika ditambahkan air maka terjadi pengenceran BTi, sedangkan patogenitas BTi sangat dipengaruhi oleh konsentrasinya (Suwita & Sungkar, 2013).

Beberapa faktor yang menyebabkan *B. thuringiensis* memiliki patogenitas tinggi terhadap larva *Aedes* sp. adalah perilaku dan fisiologis dari larva *Aedes* sp. itu sendiri. Posisi larva *Aedes* sp. yang menggantung dengan membentuk sudut menjadi salah satu penyebab larva *Aedes* sp. lebih sensitif dari larva nyamuk lainnya (Achille et al., 2010). Selain itu, perilaku makan dari larva juga berpengaruh terhadap tingkat kematian larva terhadap BTi. Keberadaan BTi di dasar TPA akibat pengaruh formulasi yang tenggelam akan

berpengaruh pada patogenitas BTi terhadap larva *Aedes sp.* karena larva *Aedes sp.* memiliki sifat menuju ke bagian bawah permukaan air untuk mencari makan (bottom-feeder). Toksin kristal BTi juga ikut termakan bersama partikel makanan ketika larva nyamuk *Aedes sp.* makan di dasar TPA (Suwita & Sungkar, 2013). Toksin yang termakan akan bereaksi dengan keadaan usus larva yang memiliki keadaan basa dan menghasilkan enzim protease yang dapat menguraikan kristal protein menjadi toksin yang mengganggu keseimbangan osmotik dalam usus larva sehingga menyebabkan kematian pada larva (Trizelia, 2001 dalam Gama et al., 2010).

#### SIMPULAN DAN SARAN

Jumlah sel bakteri *B. thuringiensis* pada penelitian ini sebesar  $11,2 \times 10^9$  cfu/ml dan spora bakteri *B. thuringiensis* sebesar  $7,43 \times 10^9$  cfu/ml. Untuk membunuh 50% larva *Aedes sp.* (LC50) diperlukan konsentrasi dalam waktu 6 jam memerlukan konsentrasi 4 µl per liter air dan membunuh 100 % larva *Aedes sp.* memerlukan konsentrasi *B. thuringiensis* dari 40 µl–50 µl. Ini setara dengan 1 tetes produk per 2,5 liter air dalam waktu 6 jam BTi dapat digunakan sebagai salah satu alternatif pengganti insektisida kimia lain yang sudah tersebar dikalangan masyarakat karena konsentrasi BTi sebesar 40 µl – 50 µl sudah dapat membunuh 100% larva nyamuk *Aedes sp.* per 2,5 liter air.

Perlu pengujian lebih lanjut di laboratorium mengenai pengujian perbandingan *B. thuringiensis* terhadap produk lain yang biasa digunakan oleh masyarakat, uji daya residu *B. thuringiensis*

terhadap kematian larva nyamuk *Aedes sp.* di laboratorium, dan menguji patogenitas *B. thuringiensis* seperti dosis yang paling efektif dan efisien dalam mengendalikan nyamuk *Aedes sp.* di lapangan.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada dr. Putu Ayu Swandewi Astuti, MPH selaku Ketua Program Studi Kesehatan Masyarakat Fakultas Kedokteran Universitas Udayana sekaligus sebagai Pembimbing Akademik selama VIII semester, Sang Gede Purnama, S.KM., M.Sc sebagai dosen pembimbing dalam proses penelitian. Orang tua dan saudara saya yang telah memberikan dukungan dan motivasi, dan pihak-pihak lain yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu yang telah membantu, baik dalam proses penelitian, penyusunan, pemberian motivasi, serta ilmu tambahan yang berkaitan dalam penyusunan penelitian ini.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Achille, G.N., Christophe, H.S. & Yilian, L. (2010). Effect of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (H-14) on *Culex*, *Aedes* and *Anopheles* larvae (Cotonou; Benin). *Stem Cell*. 60–67.
- Agus, D. (2013). *Efektivitas Larvasida Pyriproxyfen 0,5% Terhadap Larva Nyamuk Aedes di Wilayah Kota Denpasar Sebagai Daerah Endemis DBD Tahun 2013*. Universitas Udayana.
- Andrea, G., Emilia, S., Eduaro, Z. & Susana, L. (2011). Comparison of The Insecticide Susceptibilities of Laboratory Strain of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*. 106 (8), 993–996.
- Ayu, W.L. (2009). *Daya Bunuh Ekstrak Biji Kecubung (Datura metel) Terhadap Larva*



- Aedes aegypti*. Universitas Sebelas Maret Surakarta.
- Blondine (2010). *Pengembangan Formulasi Biolarvasida Endotoksin Bacillus thuringiensis H-14 Galur Lokal Terhadap Larva Vektor Malaria Anopheles aconitus dan An. maculatus*. Departemen Kesehatan.
- Blondine, C., Rendro, W. & Sukarno (2000). Pengendalian Jentik Nyamuk Vektor Demam Berdarah, Malaria dan Filariasis Menggunakan Strain Lokal Bacillus thuringiensis. *Bul. Penelit. Kesehatan*. 27 (1).
- Cutwa, M.M. & O'Meara, G.F. (2007). *Photographic Guide To Common Mosquitoes of Florida*. Florida: Florida Medical Entomology Laboratory.
- Depkes (2004). *Buku Pedoman Penyelidikan dan Penanggulangan Kejadian Luar Biasa*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Dinkes (2012a). *Profil Dinas Kesehatan Kota Denpasar*. Denpasar: Dinas Kesehatan Kota Denpasar.
- Dinkes (2012b). *Profil Dinas Kesehatan Provinsi Bali*. Bali: Dinas Kesehatan Provinsi Bali.
- Dwi, S.T. & Wulandari, K.T. (2007). Perbandingan Efektivitas Bacillus thuringiensis israelensis (Bti) terhadap Larva Aedes aegypti Laboratorium dan Daerah Endemik Demam Berdarah di Yogyakarta. *Mutiara Medika*. 7 (1). p.pp. 45–51.
- EPA (2000). *For Your Information Larvicides for Mosquito Control*. [Online]. Available from: <http://www.cmmcp.org/larvfs.pdf>.
- Gama, Z.P., Yanuwadi, B. & Kurniati, T.H. (2010). Strategi Pemberantasan Nyamuk Aman Lingkungan: Potensi Bacillus thuringiensis Isolat Madura Sebagai Musuh Alami Nyamuk Aedes aegypti. *Pembangunan dan Alam Lestari*. 1 (1).
- Istiana, Heriyani, F. & Isnaini (2012). Resistance status of Aedes aegypti larvae to temephos in West Banjarmasin. *Epidemiology and Zoonosis*. 4 (2). p.pp. 53–58.
- James, C.M.M. (2000). *Manual Pemberantasan Penyakit Menular*. 17th Ed. I. N. Kandun (ed.).
- Kemenkes (2011). *Pencegahan dan Pemberantasan Demam Berdarah Dengue di Indonesia*. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI.
- Lidwina, F.T., Suharjo, Zulfaidah, P., Member & IEEE (2013). Toxicity Studies Bacillus thuringiensis East Java Local Isolate Against Aedes aegypti Larva of The Altitude. *The Third Basic Science International Conference*. 37 (1).
- Loke, S.R., Andy-Tan, W.A., Benjamin, S., Lee, H.L. & Sofian-Azirun, M. (2010). Susceptibility of field-collected Aedes aegypti (L.) (Diptera: Culicidae) to Bacillus thuringiensis israelensis and temephos. *Tropical Biomedicine*. 27 (3). p.pp. 493–503.
- Paulana, A.A., Araujo, D.D.F., Elisama, H., Arruda, de B.R., Fontes, de O.C.M., Junqueira, A.C.F., Varjal, de M.-S.M.A., Narcisa, R.L. & Lobo, S.-F.M.H.N. (2013). The Susceptibility of Aedes aegypti populations Displaying Temephos Resistance to Bacillus thuringiensis israelensis: a Basis for Management. *Parasites & Vektors*. 6 (297).
- Raharjo, B. (2006). *Uji Kerentanan (Susceptibility Test) Nyamuk Aedes aegypti (Linnaeus) dari Surabaya, Palembang, dan Beberapa Wilayah di Bandung Terhadap Larvasida Temephos (Abate 1SG)*. Institut Teknologi Bandung.
- Suwita, C.S. & Sungkar, S. (2013). Efektifitas Bacillus thuringiensis israelensis dalam Pemberantasan Larva Aedes

- aegypti di Kecamatan Cempaka Putih, Jakarta Pusat. *eJKI*. 1 (1).
- Utami, U. (2012). *Potential of Biodiversity in Microbial Indigenous Aedes Aegypti Mosquito Control in Indonesia: Surface Water Protection Efforts*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, Indonesia.
- Wang, C.-Y., Teng, H.-J., Lee, S.-J., Lin, C., Wu, J.-W. & Wu, H.-S. (2013). Efficacy of Various Larvicides against *Aedes aegypti* Immatures in the Laboratory. *Jpn. J. Infect. Dis.* 66, 341–344.