

PENGARUH KETINGGIAN HABITAT KELAPA (*Cocos nucifera*) TERHADAP PENGEMBANGBIAKAN *Bacillus thuringiensis* H-14 DAN TOKSISITASNYA TERHADAP JENTIK (*Anopheles aconitus*)

THE INFLUENCE OF LEVEL HABITAT FROM COCONUT (Cocos nucifera) ON THE BREEDING OF Bacillus thuringiensis H-14 and TOXICITY TO LARVAE (Anopheles aconitus)

Lulus Susanti*, Blondine Ch.P

Balai Besar Litbang Vektor dan Reservoir Penyakit, Balitbangkes, Kemenkes RI, Jl. Hasanudin No. 123 Salatiga, Jakarta, Indonesia

*Korespondensi Penulis: lulus@litbang.depkes.go.id

Submitted : 25-11-2012; Revised : 20-01-2013; Accepted : 05-02-2013

Abstrak

Penggunaan *Bacillus thuringiensis* H-14 sebagai biolarvasida sudah banyak diketahui di masyarakat. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Vektor dan Reservoir Penyakit (B2P2VRP) telah menguji penggunaan media buah kelapa sebagai media pengembangbiakan *B.thuringiensis* H-14. Pada penelitian ini dilakukan pengembangbiakan *B.thuringiensis* H-14 galur lokal dengan menggunakan media air kelapa yang diambil dari berbagai wilayah dengan memperhatikan ketinggian wilayahnya. Lokasi pengambilan sampel air kelapa adalah daerah dengan ketinggian < 20 m dpl (pantai Parangtritis), 21 – 250 m dpl (Kabupaten Purworejo), 251 – 500 m dpl (Kabupaten Semarang) dan 501 – 750 m dpl (Kota Salatiga). Penelitian ini dilakukan dengan mengambil air buah kelapa hijau umur 4 – 6 bulan atau berat mencapai > 600 gram dari masing-masing wilayah penelitian. Kemudian air kelapa dari masing-masing wilayah penelitian diambil secara random untuk dilakukan pengujian kandungan nutrisinya, sedangkan sisanya di sterilisasi untuk dijadikan media pengembangbiakan *B.thuringiensis* H-14. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan hasil pengembangbiakan di media air kelapa yang didapatkan dari lokasi dengan ketinggian habitat yang berbeda-beda, serta efek toksisitasnya terhadap jentik *Anopheles aconitus*. Hasil uji analisa air kelapa dari pantai Parangtritis adalah kadar karbohidrat 1,82%, dengan lemak 0,02%, protein 0,04% dan gula reduksi sebesar 1,67%. Air kelapa dari kabupaten Purworejo kandungan karbohidrat 1,92%, lemak 0,01%, protein 0,06% dan gula reduksi 1,87%. Air kelapa dari Kabupaten Semarang kandungan karbohidrat 1,68%, lemak 0,01%, protein 0,12% dan gula reduksi 1,52%. Sedangkan kandungan karbohidrat dari air kelapa kota Salatiga adalah 3,12% merupakan kandungan yang tertinggi dibandingkan dari daerah lain, kandungan lemak 0,01%, protein 0,11% dan gula reduksi 2,97%, merupakan kandungan tertinggi dibandingkan dengan hasil dari daerah lain. Hasil pertumbuhan sel dan spora *B.thuringiensis* H-14 dari media air kelapa pantai Parangtritis pada pH 7,5 adalah $85,7 \times 10^{10}$ dan $11,1 \times 10^{10}$ sedangkan dari kabupaten Purworejo jumlah sel dan spora yang dihasilkan adalah sebesar $2,3 \times 10^{10}$ dan $2,5 \times 10^{10}$. Media air kelapa dari kabupaten Semarang jumlah sel dan spora sebesar $24,9 \times 10^{10}$ dan $23,9 \times 10^{10}$, dan air kelapa yang berasal dari kota Salatiga $62,7 \times 10^{10}$ dan $1,1 \times 10^{10}$. Kesimpulan dari penelitian ini adalah *B.thuringiensis* yang dikembangbiakkan dalam media dari kabupaten Semarang memiliki Lc_{50} 0,003 % dan Lc_{95} 0,021%, yang merupakan Lc terkecil dibandingkan dengan *B.thuringiensis* yang dikembangbiakkan dalam media air kelapa dari daerah lain.

Kata kunci : *B.thuringiensis* H-14, Air kelapa, toksisitas

Abstract

Using of *Bacillus thuringiensis* H-14 as a Biolarvacide are more commonly on this decade. Institute of Vector Control and Reservoir Disease (IVCRD) has used coconut as a medium for *B.thuringiensis* H-14. This research used only coconut water that was took from many kind of places with difference on altitudes. Locations of this research were from Parangtritis (with altitude < 20 m dpl), Purworejo district (150 m dpl), Semarang district (400 m dpl) and Salatiga municipality (650 m dpl). The objective of this study is to know what difference result of *B.thuringiensis* H-14 spores that was growth from many kind of habitat (locations) which is diferent on altitudes, and the efficacy of *B.thuringiensis* H-14 to

An.aconitus larvae. The nutrition that contain on coconut water was analise by Health Laboratory on Semarang District. Result of this research shows that coconut water from Parangtritis beach was contain of carbohidrat 1.82 %, fats 0.02%, protein 0.04% dan glucose 1.67%. Coconut water from Purworejo district was contain carbohidrat 1.92%, fats 0.01%, protein 0.06% and glucose 1.87%. There for coconut water from Semarang district was contain carbohidrats 1.68%, fats 0.01%, protein 0.12% and glucose 1.52%. And the coconut water from Salatiga Munycipality was contain carbohidrat 3.12%, that is the highest than others, fats 0.01%, protein 0.11% and glucose 2.97%. Number of sels and spores that growth on that medium were different. Number of sels and spores from parangtritis beach medium were 85.7×10^{10} and 11.1×10^{10} . Coconut water medium from Purworejo district may potencial to growth *B. thuringiensis* H.14. number sels and spores from Purworejo district medium were 2.3×10^{10} and 2.5×10^{10} . Coconut water medium from Semarang district could resulting number of sels and spores were 24.9×10^{10} and 23.9×10^{10} , and the medium from Salatiga munycpality were 62.7×10^{10} and 1.1×10^{10} . The efficacy from *B.thuringiensis* to the *An.aconitus* larvae shows that lethal concentration from Semarang district were Lc_{50} 0.003% dan Lc_{95} 0.021%, which is the lowest concentration than *B.thuringiensis* that was growth on the medium from other places.

Keywords : *B.thuringiensis* H-14, coconut water, *An.aconitus*

Pendahuluan

Dewasa ini penanggulangan terhadap Malaria dan DBD serta penyakit tular vektor lain terus menerus dilakukan, baik secara kimiawi maupun biologis. Pengendalian vektor penyakit secara kontrol biologik merupakan pengaturan populasi vektor oleh musuh-musuhnya di alam.¹ Pengendalian secara biologik saat ini telah menjadi alternatif dalam pengendalian vektor karena efek terhadap lingkungan cukup aman, efek toksisitas tinggi terhadap serangga vektor, dan bersifat spesifik target. Pengenalan terhadap bioinsectisida *b.thuringiensis* H-14 sejak tahun 1970-an.² *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*, telah dijadikan sebagai bahan bioinsektisida untuk pengendali larva nyamuk dan lalat hitam.³

Bacillus thuringiensis adalah salah satu bakteri patogen pada serangga. Bakteri ini tergolong ke dalam kelas Schizomycetes, ordo Eubacteriae, family Bacillaceae. *Bacillus thuringiensis* H-14 adalah bakteri yang mempunyai sel vegetatif berbentuk batang dengan ukuran panjang 3–5 μm dan lebar 1,0–1,2 μm , memiliki flagella dan membentuk spora. Bakteri ini bersifat gram positif, aerob tetapi umumnya aerob fakultatif, dan dapat tumbuh pada berbagai media dengan kisaran suhu pertumbuhan 15⁰C–40⁰C.⁴ Ciri khas *B. thuringiensis* H-14 adalah kemampuannya membentuk kristal paraspora bodi (tubuh paraspora), bersamaan dengan pembentukan spora. Kristal toksin ini merupakan delta endotoksin yang menyebabkan lisis pada sel-sel epitelium jentik sehingga mudah merusak membran dasar dan menyebabkan kematian jentik.⁴ Saat ini di B2P2VRP telah dikembangkan *B. thuringiensis* H-14 galur lokal hasil isolasi tanah di wilayah Salatiga, dan memiliki toksisitas tinggi

terhadap jentik *Ae. aegypti*, *An. aconitus*, dan *Cx. quenequefasciatus*.⁵

Pengembangbiakan *B.thuringiensis* H-14 telah dilakukan dalam beberapa media diantaranya media air kelapa dan endospermnya.⁶ *Cocos nucifera* yang biasa disebut kelapa merupakan salah satu media yang dapat digunakan untuk pengembangbiakan *B.thuringiensis* H-14, karena memiliki kandungan nutrisi yang baik untuk pertumbuhan *B.thuringiensis* H-14 var. *israelensis* maupun galur lokal.⁶ *Cocos nucifera* memiliki kandungan makro yaitu karbohidrat sederhana (glukosa, fruktosa, dll) dan juga asam-asam amino seperti alanin, arginin, asam glutamat, dll.⁷ Penelitian pengembangbiakan *B.thuringiensis* H-14 dengan menggunakan media kelapa dalam bentuk powder/bubuk telah lama dilakukan oleh C.N.Chillchot dan J.S Pillai (1985), dan memiliki tingkat toksisitas yang lebih baik daripada dengan media IPS (Media standar dari Pasteur, Perancis).⁶ *Bacillus thuringiensis* H-14 galur lokal yang dikembangkan dalam media air kelapa, ternyata memberikan hasil bahwa *B. thuringiensis* H-14 galur lokal memiliki aktivitas larvasida yang baik.⁵ Beberapa faktor yang mempengaruhi pertumbuhan *B. thuringiensis* H-14 antara lain kandungan nutrisi media, pH media dan suhu lingkungan. Penelitian dari Chillcott menunjukkan bahwa pH panen *B. thuringiensis* H-14 pada media kelapa adalah 7,9–8,3, sedangkan penelitian tentang Pengaruh pH dan suhu penyimpanan pada larutan buffer terhadap *B. thuringiensis* H-14 var. *israelensis* yang dilakukan Umi W, menunjukkan bahwa pH yang baik untuk pengembangbiakan *B. Thuringiensis* H-14 adalah 6, 7, dan 8.⁸

Pengembangbiakan *B.thuringiensis* H-14 galur lokal yang selama ini sudah pernah dilakukan

di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Vektor dan Reservoir Penyakit adalah dengan menggunakan media air kelapa, tanpa mengukur kadar nutrisi yang terdapat dalam air kelapa.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan nutrisi pada media air kelapa dari berbagai wilayah dengan tingkat ketinggian yang berbeda, serta pengaruhnya terhadap pertumbuhan sel dan spora *B.thuringiensis* H-14 dan toksisitasnya terhadap jentik *An.aconitus*. pH perlakuan yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah 7,5. Kelapa yang digunakan dalam penelitian ini adalah jenis kelapa hijau yang diambil dari daerah dengan ketinggian 20 mdpl (diatas permukaan air laut), 150 mdpl, 400 mdpl dan 650 mdpl yang berasal dari pantai Parangtritis, Kabupaten Purworejo, Kabupaten Semarang dan Kota Salatiga.

Tujuan khusus dari penelitian ini adalah untuk mengetahui perbedaan kandungan nutrisi dari air kelapa yang diambil dari berbagai daerah dengan variasi ketinggian habitat, serta mengetahui hasil pengembangbiakan *B. thuringiensis* H-14 pada berbagai media air kelapa tersebut, dan tingkat toksisitasnya terhadap jentik (*Anopheles aconitus*).

Metode

Bahan Media Kelapa

Media pengembangbiakan *B.thuringiensis* H-14 galur lokal yang murah, mudah didapat dan efektif adalah media air kelapa. Pada penelitian ini dilakukan pengambilan kelapa dari empat ketinggian habitat yang berbeda yaitu pantai Parangtritis (Kabupaten Bantul), Kabupaten Purworejo, Kabupaten Semarang dan Kota Salatiga. Media air kelapa yang diambil digunakan untuk pengembangbiakan *B.thuringiensis* H-14 galur lokal, dan dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi B2P2VRP, Salatiga pada tahun 2010.

Hasil penelitian menentukan media air kelapa yang mempunyai kandungan nutrisi bagus dan mampu menghasilkan *B.thuringiensis* H-14 galur lokal dengan toksisitas tinggi terhadap jentik *An.aconitus*.

Bahan untuk penghitungan sel hidup dan spora adalah: larutan stok kultur murni *B. thuringiensis* H-14 galur lokal, aquades serta agar nutrien. Analisis kandungan air kelapa dilakukan di Laboratorium Kesehatan di Kota Semarang.

Jenis Penelitian

Penelitian ini termasuk penelitian terapan,

yang desainnya merupakan penelitian eksperimental murni yang dilaksanakan di Laboratorium B2P2VRP Salatiga.

Populasi dan Sampel

Populasi kelapa dalam penelitian ini adalah kelapa dari jenis *Cocos nucifera* (merupakan jenis yang biasa dikonsumsi masyarakat) dari wilayah Pantai Parangtritis, Kabupaten Purworejo, Kota Salatiga dan Kabupaten Semarang, dengan memperhatikan ketinggian habitatnya.

Populasi jentik nyamuk vektor dalam penelitian ini adalah jentik nyamuk *An. aconitus* yang didapatkan dari koloni di laboratorium B2P2VRP.

Sampel kelapa yang digunakan adalah kelapa hijau dengan umur panen 5–6 bulan, dengan berat 500–2500 gram.

Sampel dalam uji efikasi adalah jentik *An. aconitus* instar III yang digunakan untuk uji toksisitas *B.thuringiensis* H-14 galur lokal.

Ulangan dalam penelitian ini dilakukan sebanyak 3 kali dengan RAL (Rancangan Acak Lengkap).⁹ Ulangan pengujian efikasi adalah:⁹

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

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

$$8r \geq 23$$

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

Keterangan :

t : jumlah perlakuan

r : jumlah ulangan.

Cara Kerja

Pengembangbiakan *B.thuringiensis* H-14 galur lokal pada media air kelapa⁷

Menyiapkan media air kelapa dari berbagai daerah pengambilan dengan pH 7.5, masing-masing 50 ml. (Pengaturan pH dilakukan dengan cara menambahkan sedikit demi sedikit larutan KOH absolut atau HCl ke dalam media air kelapa, kemudian diukur dengan menggunakan pH meter digital, sampai didapatkan pH yang diinginkan) Ambil biakan murni *B. thuringiensis* H-14 galur lokal sebanyak 2 ose (menggunakan jarum ose bulat) dan dimasukkan pada masing-masing media. Kemudian di gojog (*shaker*) selama 2 x 24 jam, lalu dilakukan uji toksisitasnya terhadap jentik *An.aconitus*,⁷ dihitung jumlah sel dan spora hidup.¹ Sebagai kontrol positif menggunakan *Tryptose Phosphate Broth* (TPB) dengan cara kerja yang sama.

Uji Efikasi terhadap jentik *An. aconitus* menurut WHO³

Satu ml larutan stok kultur murni *B. thuringiensis* H-14 galur lokal dimasukkan ke dalam *beaker glass* yang berisi 99 ml air, dikocok sampai homogen, kemudian diambil 30 µL, 50 µL, 70 µL, 90µL, 100 µL, 300 µL, 500 µL, 700 µL, 900 µL menggunakan Gilson micropipet E.20680 A dan dimasukkan kedalam mangkok plastik berisis 20 ekor jentik nyamuk, dengan volume total 100ml, sehingga didapat konsentrasi 3 ppm, 5 ppm, 7 ppm, 9 ppm, 10 ppm, 30 ppm, 50 ppm, 70 ppm dan 90 ppm. Kematian jentik diamati selama 48 jam pengujian. Untuk mendapatkan LC₅₀ dan LC₉₅ *B.thuringiensis* H-14 galur lokal yang dibiakkan dengan media air kelapa digunakan analisis Probit.¹⁰

*Penghitungan Jumlah Sel dan Spora Hidup:*¹

1. Penghitungan Sel Hidup:

Formulasi cair *B. thuringiensis* H-14 galur lokal yang diperoleh diambil sebanyak 1 ml dan ditambahkan 9 ml akuades dalam tabung gelas, kemudian dikocok sampai homogen. Sesudah itu dibuat pengenceran seri 10⁻¹–10⁻¹⁰ dalam akuades. Dari masing–masing pengenceran diambil 0,1 ml dan ditaburkan ke dalam plat Petri yang kemudian ditambahkan agar nutrien sebanyak 20 ml. Selanjutnya diinkubasikan selama 48 jam pada suhu 30⁰C. Setelah itu dihitung jumlah sel *B. thuringiensis* H-14 galur lokal yang tumbuh pada plat berisi agar nutrien.

2. Penghitungan Spora Hidup

Jumlah spora hidup diperoleh dengan cara kultur bakteri *B.thuringiensis* H-14 galur lokal yang berada dalam media pengembangbiakan yang berada pada masing-masing pengenceran 10⁻¹–10⁻¹⁰ dipanaskan selama 30 menit pada suhu 60⁰C. Maksud pemanasan itu adalah untuk mematikan kuman bentuk vegetatif. Dari masing- masing

pengenceran formulasi cair *B.thuringiensis* H-14 galur lokal diambil sebanyak 0,1 ml dan ditaburkan ke dalam plat Petri, kemudian ditambahkan agar nutrien, diinkubasikan kemudian selama 48 jam pada suhu 30⁰C. Sesudah itu dihitung jumlah spora *B.thuringiensis* H-14 galur lokal yang tumbuh pada plat Petri berisi agar nutrien.

Analisis Data

Analisis Probit untuk menghitung kematian jentik nyamuk sebesar 50% dan 90% (LC₅₀ dan LC₉₀) oleh *B.thuringiensis* H-14 galur lokal.¹⁰ Analisis kandungan nutrisi air kelapa meliputi analisis karbohidrat, lemak, protein dan gula reduksi.

Hasil

Buah Kelapa (*Cocos nucifera*) adalah salah satu buah yang memiliki kandungan nutrisi yang sangat kompleks, sehingga dapat menjadi salah satu media pengembangbiakan *Bacillus thuringiensis* H-14 galur lokal. Secara umum kelapa yang digunakan dalam penelitian ini adalah kelapa yang biasa dikonsumsi masyarakat untuk memasak atau kebutuhan sehari-hari.

Habitat pohon kelapa ini pada dasarnya adalah di pantai, namun di Indonesia pohon kelapa ini mampu tumbuh dari ketinggian 20 – 1000 m dpl. Pada penelitian ini dilakukan pengambilan sampel kelapa dari ketinggian 20 m dpl sampai dengan 950 m dpl yang terbagi dalam beberapa kelompok ketinggian yaitu :

1. 0 – 20 m : Pantai Parang Tritis
2. 21 – 250 m : Kabupaten Purworejo
3. 256 – 500 m : Kabupaten Semarang
4. 501 – 750 m : Kota Salatiga

Umur kelapa yang diambil yaitu berkisar antara 4 bulan – 8 bulan (yang siap dikonsumsi masyarakat). Adapun data karakteristik kelapa sebagai sampel adalah sebagai berikut :

Tabel 1. Karakteristik Kelapa Sampel Menurut Tempat Asal Tahun 2010

No.	Tempat asal	Ketinggian	Umur Buah Kelapa	Umur pohon kelapa	Berat kelapa (Rata-rata)	pH Tanah	Keterangan
1.	Pantai Parangtritis (Ds.Rejosari)	20 m dpl	6-7 bulan	10 tahun	2,75 kg	8,8	Daerah tempat tumbuh kelapa sampel cukup panas, dengan suhu berkisar 30 ⁰ C dengan kelembaban 84%. (pada saat pengambilan sampel)

Lanjutan Tabel 1.

No.	Tempat asal	Ketinggian	Umur Buah Kelapa	Umur pohon kelapa	Berat kelapa (Rata-rata)	pH Tanah	Keterangan
2.	Kab.Purworejo (Ds.Kunirrejo)	150 m dpl	6 bulan	25 tahun	2 kg	8,5	Daerah tempat tumbuh kelapa sampel merupakan daerah sejuk, dengan banyak tumbuhan besar di wilayah tersebut. Suhu 28C dengan kelembapan 89% (pada saat pengambilan sampel)
3.	Kab. Semarang (Ds. Getas)	400 m dpl	5-8 bulan	16 tahun	1,5	6,5	Daerah tempat tumbuh kelapa sampel diambil tidak jauh dari perumahan penduduk dan dekat persawahan
4.	Kota Salatiga (Ds. Nanggalan)	650 m dpl	6-7 bulan	20 tahun	2,5	7,2	Daerah tempat tumbuh kelapa sampel di kebun rumah. Daerah sejuk. Tidak jauh dari pe-mukiman penduduk.

Perbedaan ketinggian habitat pohon kelapa ternyata juga berdampak terhadap perbedaan kandungan nutrisi pada air kelapanya. Hal ini dapat dilihat dengan menganalisa kandungan nutrisi dari masing-masing sampel. Kandungan nutrisi air kelapa dari berbagai ketinggian habitatnya dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Kandungan Nutrisi Air Kelapa Menurut Asal Tempat Tahun 2010

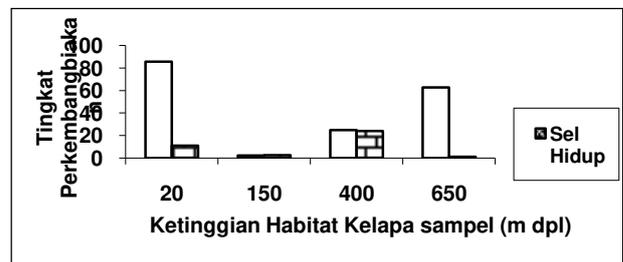
Asal	Karbohidrat	Lemak	Protein	Gula Reduksi
Pantai Parangtritis	1,84%	0,02%	0,04%	1,67%
Kab. Purworejo	1,92%	0,01%	0,06%	1,87%
Kab. Semarang	1,68%	0,01%	0,12%	1,52%
Kota Salatiga	3,12%	0,01%	0,11%	2,97%

Kelapa (*Cocos nucifera*) yang dijadikan sampel berasal dari ketinggian habitat yang berbeda. Kelapa yang berasal dari daerah pantai pada ketinggian 0–20 m dpl, dengan pH tanah cukup basa yaitu 8,8, dengan suhu pada saat pengambilan sampel adalah 30°C dengan kelembaban sesaat 84%. Berdasarkan hasil analisis kandungan nutrisi air kelapa, maka tampak bahwa kelapa dari wilayah pantai memiliki kandungan lemak 0,02%, dan ini adalah kandungan lemak tertinggi diantara ke-4 wilayah penelitian yang ada, namun memiliki kandungan protein yang paling sedikit (0,04%) dibandingkan dengan tempat lainnya. Sedangkan kelapa dari Desa Nanggalan Kota Salatiga memiliki kandungan karbohidrat dan gula reduksi yang paling tinggi yaitu kandungan glukosa 2,97% dan kandungan karbohidratnya 3,12%, sedangkan kandungan proteinnya 0,11%. Kandungan protein

dari kelapa yang diambil dari Desa Getas Kabupaten Semarang memiliki kandungan protein paling tinggi yaitu 0,12%. namun memiliki kandungan karbohidrat dan glukosa yang terendah yaitu hanya 1,52% dan 1,68%.

Kandungan nutrisi yang terdapat dalam air kelapa dapat digunakan untuk media pengembangbiakan *B. thuringiensis* H-14. Perbedaan kandungan nutrisi dari media air kelapa juga menunjukkan hasil perkembangbiakan yang berbeda terhadap *B.thurinensis* H-14. Hal ini dilihat dengan menghitung jumlah sel dan spora hidupnya.

Jumlah sel dan spora pada pengembangbiakan dengan menggunakan media air kelapa dengan berbagai ketinggian habitat cukup bervariasi. Hal ini seperti ditunjukkan pada gambar 1.



Gambar 1. Tingkat perkembangbiakan Sel dan Spora *Bacillus thuringiensis* H-14 galur lokal

Pada berbagai media air kelapa dari ketinggian habitat yang berbeda

Pada gambar 1 tampak bahwa jumlah perkembangbiakan pada media air kelapa dari ketinggian 400 m dpl adalah yang lebih bagus dibandingkan dari daerah lain yaitu menghasilkan jumlah spora yang paling banyak diantara hasil penanaman dengan media dari wilayah lain

23,9x10¹⁰, dengan jumlah sel hidup 24,9x10¹⁰. Pengembangbiakan pada media yang diperoleh dari ketinggian 650 m dpl menghasilkan sel hidup yang besar yaitu 62,7x10¹⁰, namun spora yang dihasilkan sangat sedikit dibandingkan yang lainnya yaitu 1,1x10¹⁰.

Uji Statistik dengan tingkat kepercayaan 95%, menggunakan uji beda t-test menunjukkan bahwa tidak ada beda secara nyata antara pengembangbiakan sel pada berbagai media air kelapa dari berbagai daerah ketinggian, dengan nilai $p = 0,100$ ($p > 0,05$). Begitu pula dengan perkembangbiakan spora secara statistik juga menunjukkan tidak ada beda secara nyata dengan nilai $p = 0,163$ ($p > 0,05$). Hasil uji efikasi terhadap jentik *Anopheles aconitus* menunjukkan bahwa *B.thuringiensis* H-14 hasil pengembangbiakan di media air kelapa memiliki toksisitas yang tinggi. Hasil kematian 50% dan 95% (LC₅₀ dan LC₉₅) terhadap jentik *An.aconitus* disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Kematian jentik *Anopheles aconitus* oleh *B. thuringiensis* H-14 galur lokal pada berbagai media air kelapa selama uji 24 jam

Ketinggian habitat kelapa (m dpl)	Konsentrasi kematian (%)	
	LC ₅₀ (%)	LC ₉₅ (%)
15	0,10	0,25
150	0,06	0,18
400	0,003	0,021
650	0,53	0,16

Berdasarkan tabel 3 tampak bahwa kelapa yang diambil dari wilayah dengan ketinggian 400 mdpl memiliki toksisitas yang tinggi, hal ini ditunjukkan dengan tingkat kematian jentik uji yang 100%, namun dari hasil uji probit diketahui bahwa LC₅₀ sebesar 0,003% dan LC₉₅ sebesar 0,021%, dan merupakan konsentrasi yang paling kecil dibandingkan dengan uji efikasi dari *B.thuringiensis* H-14 yang dibiakkan pada media dari lokasi lain.

Pembahasan

Kelapa (*Cocos nucifera*) yang dijadikan sampel berasal dari ketinggian habitat yang berbeda. Kelapa yang berasal dari daerah pantai pada ketinggian 0–20 m dpl, dengan pH tanah cukup basa yaitu 8,8, dengan suhu pada saat pengambilan sampel adalah 30°C dengan kelembaban sesaat 84%. Walaupun asal utamanya masih menjadi persengketaan tetapi telah ditemukan fosil-fosil kelapa di daerah India dan Selandia baru.¹¹ Namun apabila kita bandingkan dari hasil analisa kandungan nutrisi air kelapanya, maka tampak bahwa kelapa

dari wilayah pantai memiliki kandungan lemak 0,02%, dan ini adalah kandungan lemak tertinggi diantara ke-4 wilayah penelitian yang ada, namun memiliki kandungan protein yang paling sedikit (0,04%) dibandingkan dengan tempat lainnya. Sedangkan kelapa dari Desa Nanggulan Kota Salatiga memiliki kandungan karbohidrat dan gula reduksi yang paling tinggi yaitu kandungan glukosa 2,97% dan kandungan karbohidratnya 3,12%, sedangkan kandungan proteinnya 0,11%. Kandungan protein dari kelapa yang diambil dari Ds. Getas kab. Semarang memiliki kandungan protein paling tinggi yaitu 0,12%. namun memiliki kandungan karbohidrat dan glukosa yang terendah yaitu hanya 1,52% dan 1,68%.

Pengembangbiakan *B.thuringiensis* H-14 dengan menggunakan media air kelapa dari berbagai daerah menunjukkan perbedaan pada jumlah sel hidup dan spora yang dihasilkan. Hal ini menunjukkan bahwa pertumbuhan sel dan spora *B.thuringiensis* H-14 sangat tergantung pada kecukupan nutrisi yang terdapat dalam air kelapanya sebagai media pertumbuhannya. Uji Statistik dengan tingkat kepercayaan 95%, menggunakan uji beda t-test menunjukkan bahwa tidak ada beda secara nyata antara pengembangbiakan sel pada berbagai media air kelapa dari berbagai daerah ketinggian, dengan nilai $p = 0,100$ ($p > 0,05$). Begitu pula dengan perkembangbiakan spora secara statistik juga menunjukkan tidak ada beda secara nyata dengan nilai $p = 0,163$ ($p > 0,05$).

Berdasarkan penghitungan jumlah sel hidup dan spora yang dihasilkan pada pengembangbiakan *B.thuringiensis* H-14 pada berbagai media air kelapa, menunjukkan jumlah sel hidup yang besar tidak selalu menghasilkan jumlah spora yang besar. Hal ini menunjukkan bahwa spora yang dihasilkan tidak selalu sejalan dengan sel hidup yang dihasilkan. Dalam uji toksisitas menurut WHO dinyatakan bahwa dalam pembentukan spora oleh *B. thuringiensis* H-14 akan terbentuk juga racun delta-endotoksin, dan racun inilah yang apabila termakan oleh jentik akan menyebabkan lisis pada saluran pencernaannya sehingga jentik akan mati.³ Walaupun bahan dasar sama, namun pengaruh terhadap serangga dapat berbeda karena perbedaan pembuatan dan pembiakannya, banyaknya toksin yang dihasilkan tidak berbanding langsung dengan banyaknya kristal paraspora, artinya tidak sama spora yang diproduksi dengan toksisitasnya, begitu pula jumlah sel yang dihasilkan dengan jumlah sporanya. Menurut Jauhar (2006) bahwa suhu dan pH memiliki pengaruh terhadap proses pem-

bentukan delta-endotoksin, sehingga mempengaruhi terhadap efektifitasnya dalam membunuh jentik nyamuk.¹³

Hubungan Ketinggian Habitat Kelapa dengan Pertumbuhan Sel dan Spora B.t. H-14

Dari hasil uji statistik menunjukkan bahwa ada hubungan yang nyata antara ketinggian habitat kelapa dengan kandungan karbohidrat, protein dan gula reduksi dengan nilai $p < 0,05$. Hal ini menunjukkan bahwa perbedaan ketinggian suatu tempat berpengaruh terhadap kandungan nutrisinya. Kandungan nutrisi dari media berhubungan dengan tingkat pertumbuhan sel dan spora *B. thuringiensis* H-14. Dari hasil uji statistik menunjukkan bahwa ada hubungan yang nyata antara kandungan karbohidrat dengan pertumbuhan sel hidup *B. thuringiensis* H-14, dengan nilai $P < 0,05$. Hal ini dimungkinkan karena keberadaan karbohidrat merupakan sumber yang penting dalam pertumbuhan sel hidup dari *B. thuringiensis* H-14, sehingga setelah melalui uji statistik pun ternyata menunjukkan adanya hubungan. Dalam penelitian Sarrafzadeh dan M.Hossain (2012) menyatakan bahwa keberadaan karbohidrat (glukosa) paling banyak dibutuhkan untuk pertumbuhan spora *B. thuringiensis* H-14.¹⁴ Dalam uji statistik tampak bahwa kandungan karbohidrat juga memiliki hubungan dengan tingkat kematian jentik uji, hal ini ditunjukkan dengan nilai signifikansi 0,01 atau $p < 0,05$. Hubungan antara pertumbuhan sel dengan kadar gula reduksi adalah seperti hubungan antara karbohidrat dengan pertumbuhan sel dimana nilai signifikansinya $< 0,05$, dan uji statistik terhadap kandungan protein terhadap pertumbuhan sel dan spora menunjukkan ada hubungan yang nyata antara kandungan Protein dengan pertumbuhan sel hidup dengan $P < 0,05$, hal ini menunjukkan bahwa kandungan protein dalam media mempunyai hubungan dengan tingkat pertumbuhan sel hidup dari *B. thuringiensis* H-14.

Dari hasil penelitian yang dilakukan oleh Sarrafzadeh dan M.Hossain (2012) menyatakan bahwa keberadaan karbohidrat (glukosa) paling banyak dibutuhkan untuk pertumbuhan spora *B. thuringiensis* H-14, dan dari penelitian Chilcott (1985) menyatakan bahwa keberadaan asam amino sangat berperan dalam pertumbuhan dan perkembangan spora dari *B. thuringiensis* H-14.^{6,14}

Kesimpulan

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa perbedaan ketinggian habitat kelapa menunjukkan perbedaan proporsi kandungan nutrisi air

kelapa dan dari hasil uji statistik tampak bahwa ada hubungan yang nyata antara kandungan protein, karbohidrat dan glukosa dari air kelapa terhadap pertumbuhan dan toksisitas *B. thuringiensis* H-14 yang dikembangbiakkan dengan nilai signifikansi $P < 0,05$, sedangkan kandungan lemak tidak menunjukkan adanya hubungan yang signifikan terhadap pertumbuhan dan toksisitasnya dengan nilai signifikansi $P > 0,05$.

Pertumbuhan sel hidup dalam proses pengembangbiakan *B. thuringiensis* H-14 tidak selalu berbanding lurus dengan jumlah spora yang dihasilkannya. *Bacillus thuringiensis* H-14 yang dikembangbiakkan dalam media air kelapa dari Kabupaten Semarang menghasilkan spora terbanyak serta memiliki efektifitas tertinggi dalam membunuh jentik nyamuk *An. aconitus* karena memiliki LC_{50} yang terkecil dibandingkan dengan *B. thuringiensis* yang dikembangkan dalam media air kelapa dari Kabupaten/Kota lain.

Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini, maka disarankan untuk dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mendapatkan formulasi yang lebih aplikatif pada semua badan air.

Ucapan Terima Kasih

Atas terselenggaranya penelitian ini kami tak lupa mengucapkan syukur Alhamdulillah karena hanya dengan ridhoNya maka kami dapat menyelesaikan penelitian ini. Tak lupa kami sampaikan banyak terima kasih yang pertama-tama kepada Kepala Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Vektor Penyakit (B2P2VRP) Salatiga yang telah memberikan banyak masukan, bimbingan dan arahan kepada kami selama melaksanakan penelitian ini. Terima kasih juga kami sampaikan kepada pihak Dinas Kesehatan Kabupaten di wilayah pengambilan sampel kami atas segala bantuannya. Semoga hasil penelitian ini dapat memberikan informasi yang berguna dikelak kemudian hari.

Daftar Pustaka

1. Hercos F.Valicente, Edmer D.T, Maria Isabella S, Fernando L.F, Cerina M.Viera, Production Of Bacillus thuringiensis Biopesticide Using Commercial Laboratorium Medium And Agricultural By Product As Nutrient Sources, Revista Brasileira de Milho e Sorgo, v.9,n.1,p.1-11, 2010.
2. Nevon Amos K.R.S.Acher. 2000. Bioassay of Entomopathogenic Microbes and Nematodes.

3. WHO, Informal Consultation of Bacterial Formulations for Cost Effective Vector Control in Endemic Area, WHO, 1986, VBC/89/979.
4. Poopathi S, and Archana B, 2012, Optimization Of Medium Composition For The Production Of Mosquitocidal Toxins From *Bacillus thuringiensis* Subsp. *Israelensis*, *Indian Journal of Experimental Biology*. Jan;50(1):65-71.
5. Prabakaran G, S.L.Hoti, A.M.Manonmani, and K. Balaraman, 2008, Coconut Water As A Cheap Source For The Production Of Δ Endotoxin Of *Bacillus thuringiensis* Var. *Israelensis*, A Mosquito Control Agent. *Acta Tropica Journal*, vol. 105, January 2008. Pg : 35 -38
6. Chillcott C.N, J.S Pillai, The Use of Coconut Wastes for Production of *Bacillus thuringiensis* H-14 var.*israelensis*, *Mircen Journal*, New Zeland, 1985.
7. WHO, Guidlines for Production of *Bacillus thuringiensis* H-14 and *Bacilus spaerucus*, UNDP/WHO/TDR, 1990.
8. Widyastuti, U, Blondine Ch.P, Pengaruh PH dan Suhu Penyimpanan terhadap aktivitas larvasida *Bacillus thuringiensis* var.*israelensis* di Laboratorium, *Jurnal Kedokteran YARSI*, 2004.
9. Hanafiah, K.A., Rancangan Percobaan: Teori dan Aplikasi, Raja Grafindo Persada, Jakarta, 1991 , 9-10.
10. Finney, D.J., Probit Analysis, 3 rd, ed., Cambridge Univ.Press.London, 1971.
11. www.wikipedia.com, Asal Kelapa, didownload tanggal 10 Oktober 2011.
12. Nasir, M., Metode Penelitian, Ghalia Indonesia, Jakarta, 2005.
13. Faiz D.A, 2006, Kajian Pengaruh pH dan Suhu Terhadap Produksi Bioinsektisida Oleh *Bacillus thuringiensis* subs.*israeliensis* Menggunakan Substrat Onggok Tapioka, IPB, Bogor.
14. Sarrafzadeh and M.Hosseini, 2012, Nutritional Requirements of *Bacillus thuringiensis* During Phases of Growth, Sporulation and Germination Evaluated by Plackett-Burman Method, *Iran.J. Chem*, vol: 31;No.4.