

## **Perbandingan Efektivitas *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) terhadap Larva *Aedes aegypti* Laboratorium dan Daerah Endemik Demam Berdarah di Yogyakarta**

*The Comparison of Bacillus thuringiensis israelensis (Bti) Effectivity against Larvae of Aedes Aegypti in the Laboratory and Endemic Area of Dengue*

**Trisna Dwi Susanti<sup>1</sup>, Tri Wulandari Kesetyaningsih<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Yogyakarta, <sup>2</sup>Bagian Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Yogyakarta

### **Abstract**

Until now control the vector mosquito of dengue high fever (DHF) are still using the insecticide chemistry because it is considered the most effective and inexpensive. Because of the possibility of resistance to insecticides and pollution of the environment, it is important to consider control measures alternative to more environmentally friendly. *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) has high pathogenicity against mosquito larvae, so the potential to create a handler with experience. Larvae of mosquitoes in endemic areas is estimated to have been affected by the Bti in nature. The research objective was to compare the effectiveness of Bti against larvae of *Aedes aegypti* in the laboratory and from areas endemic dengue

This study is the experimental laboratory, using larval *Ae. aegypti* laboratory and endemic areas of dengue fever as the subject. Treatment was given by exposing the subject by the Bti in a variety concentration. The study consists of 13 groups, 12 groups contain a series of concentrations of Bti and the control group without insecticides. Each group consisted of 25 larvae 3<sup>rd</sup> stage included in the glass of 200 ml of media with a series of concentrations of 0.4; 0.6, 0.8, 1, 2, 4, 6, 8, 10 and 20 ppm. Observations were made after 24 hours of exposure by counting the number of dead larvae in each cup. Data were analyzed using Probit to determine LD<sub>50</sub> and LD<sub>90</sub> and paired T-test to determine the significance of differences between study groups.

The results showed that Bti can kill the larvae of *Aedes aegypti* with LD<sub>50</sub> 1.732 ppm and 21.876 ppm LD<sub>90</sub> for laboratory larvae, and 4.769 ppm LD<sub>50</sub> and LD<sub>90</sub> 68.229 ppm for larvae from endemic area. Analysis of paired T-test showed  $p = 0.038$ , which means there is a significant difference in mortality between the laboratory with endemic areas of larvae after exposure for 24 hours of Bti.

**Key words:** *Aedes aegypti*, *Bacillus thuringiensis israelensis*, biolarvacide

### **Abstrak**

Sampai saat ini pengendalian nyamuk vektor demam berdarah dengue (DBD) masih menggunakan insektisida kimiawi karena dianggap paling efektif dan murah. Adanya kemungkinan resistensi terhadap insektisida kimia dan polusi lingkungan, perlu dipertimbangkan cara pengendalian alternatif yang lebih ramah lingkungan. *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) mempunyai patogenitas

tinggi terhadap jentik nyamuk sehingga berpotensi sebagai bahan pengendali alami. Larva nyamuk di daerah endemik diperkirakan sudah terpapar dengan *Bti* di alam. Tujuan penelitian adalah untuk membandingkan efektifitas *Bti* terhadap larva *Aedes aegypti* laboratorium dan dari daerah endemik DBD.

Penelitian ini bersifat eksperimental laboratorium, menggunakan larva *Ae. aegypti* laboratorium dan daerah endemik DBD sebagai subyek. Perlakuan berupa pemaparan subyek dengan bioinsektisida berbagai konsentrasi *Bti*. Penelitian terdiri atas 13 kelompok, 12 kelompok berisi rangkaian konsentrasi *Bti* dan satu kelompok kontrol tanpa insektisida. Tiap kelompok terdiri atas 25 ekor  $L_3$  yang dimasukkan dalam gelas berisi 200 ml media dengan rangkaian konsentrasi berturut-turut 0,4; 0,6; 0,8; 1, 2, 4, 6, 8, 10 dan 20 ppm. Pengamatan dilakukan setelah 24 jam pemaparan dengan menghitung jumlah kematian larva pada tiap-tiap gelas. Data dianalisis menggunakan uji statistik *Probit* untuk menentukan  $LD_{50}$  dan  $LD_{90}$  dan *paired T-test* untuk mengetahui signifikansi perbedaan antar kelompok.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa *Bti* mampu membunuh larva *Aedes aegypti* dengan  $LD_{50}$  1,732 ppm dan  $LD_{90}$  21,876 ppm untuk larva laboratorium, dan  $LD_{50}$  4,769 ppm dan  $LD_{90}$  68,229 ppm untuk larva daerah endemik. Analisis *paired T-test* menunjukkan  $p=0,038$ , berarti ada perbedaan signifikan angka kematian antara larva laboratorium dengan larva daerah endemik setelah pemaparan dengan *Bti* selama 24 jam.

Kata kunci: *Aedes aegypti*, *Bacillus thuringiensis israelensis* (*Bti*), biolarvasida

## Pendahuluan

Demam berdarah dengue atau *dengue hemorrhagic fever* (DHF) adalah penyakit demam akut dengan ciri-ciri demam manifestasi perdarahan, dan bertendensi mengakibatkan renjatan yang dapat menyebabkan kematian.<sup>1</sup> Virus dengue ditularkan oleh nyamuk *Aedes aegypti*. DBD yang ditularkan oleh *Aedes* masih merupakan masalah kesehatan bagi penduduk Indonesia dan penularannya tanpa memandang usia serta jenis kelamin. Pengendalian vektor nyamuk *Ae. aegypti* dengan cara pengasapan maupun penyemprotan belum menurunkan kasus demam berdarah. Penggunaan insektisida kimia secara berulang-ulang dapat menimbulkan resistensi vektor, matinya hewan lain yang bukan sasaran dan pencemaran lingkungan. Karena itu dicari cara alternatif untuk menanggulangi vektor penyakit. Salah satu cara yang mulai banyak diteliti dan potensial serta dipandang mempunyai prospek yang baik adalah menggunakan bakteri patogen bagi jentik nyamuk *Bacillus thuringiensis* (*B. thuringiensis*).

*Bacillus thuringiensis* adalah bakteri Gram positif, bakteri yang bertempat tinggal di tanah dari genus *Bacillus*. Tambahan pula *B. thuringiensis* juga terjadi secara natural pada ulat bulu dari beberapa ngengat dan kupu-kupu, pada bagian permukaan dari tumbuh-tumbuhan. *Bacillus thuringiensis* bersifat kosmopolitan, antara lain ditemukan pada tanah.<sup>2</sup>

*Bacillus thuringiensis* merupakan salah satu bakteri patogen serangga yang sekarang sudah dikembangkan menjadi salah satu bioinsektisida yang potensial. Salah satu karakteristik dari *B. thuringiensis* adalah dapat memproduksi kristal protein di dalam sel bersama-sama dengan spora, pada waktu sel mengalami sporulasi.<sup>3</sup> Bioinsektisida berbasis *Bti* mempunyai sifat selektif-tidak beracun terhadap hama bukan sasaran atau manusia dan ramah lingkungan karena mudah terurai dan tidak meninggalkan residu yang mencemari lingkungan.<sup>4</sup>

Penelitian tentang *Bti* sudah banyak dilakukan, antara lain Formulasi *Bacillus thuringiensis* H-14 galur lokal dalam media infus kedelai dan uji patogenesitasnya terhadap jentik nyamuk vektor dimana *B.*

*thuringensis* H-14 dalam Media infus kedelai memerlukan konsentrasi yang lebih kecil dari pada hasil yang dilakukan oleh peneliti. Berarti hal ini bisa menjadi pertimbangan agar bisa dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mencari faktor-faktor yang berpengaruh terhadap perbedaan konsentrasi yang terjadi.<sup>5</sup>

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan efektivitas larvasida *Bacillus thuringiensis* terhadap larva *Ae. aegypti* koloni laboratorium dengan larva dari daerah endemik DBD.

### Bahan dan Cara

Dalam penelitian ini di gunakan larva *Aedes aegypti* yang telurnya diambil di daerah endemik DB yaitu di daerah Sonosewu Kecamatan Kasihan dan larva kontrol (laboratorium) yang diambil di BPVRP salatiga, kemudian telur ditetaskan di laboratorium menjadi larva *Aedes aegypti* stadium III. Ciri-ciri larva instar III adalah spinae sudah jelas, sifon lebih gelap, gigi sisir terlihat pada segmen abdomen ke-8 (Mardihusodo dkk, 1979).<sup>6</sup> Alasan pemilihan sampel adalah larva instar III sudah besar, mudah diidentifikasi, dan aktif makan, sehingga hal ini sesuai dengan *Bti* sebagai racun yang dimakan

Alat dan bahan yang digunakan adalah telur *Aedes aegypti* di daerah endemik dan di laboratorium, baki perindukan larva, pelet sebagai makanan larva, mangkuk perujian larva, ember hitam kecil, kertas saring untuk menangkap telur, pipet ukur dan gelas ukur, pipet untuk mengambil larva, lensa pembesar, saringan, *Bacillus thuringiensis israelensis* (*Bti*), air ledeng.

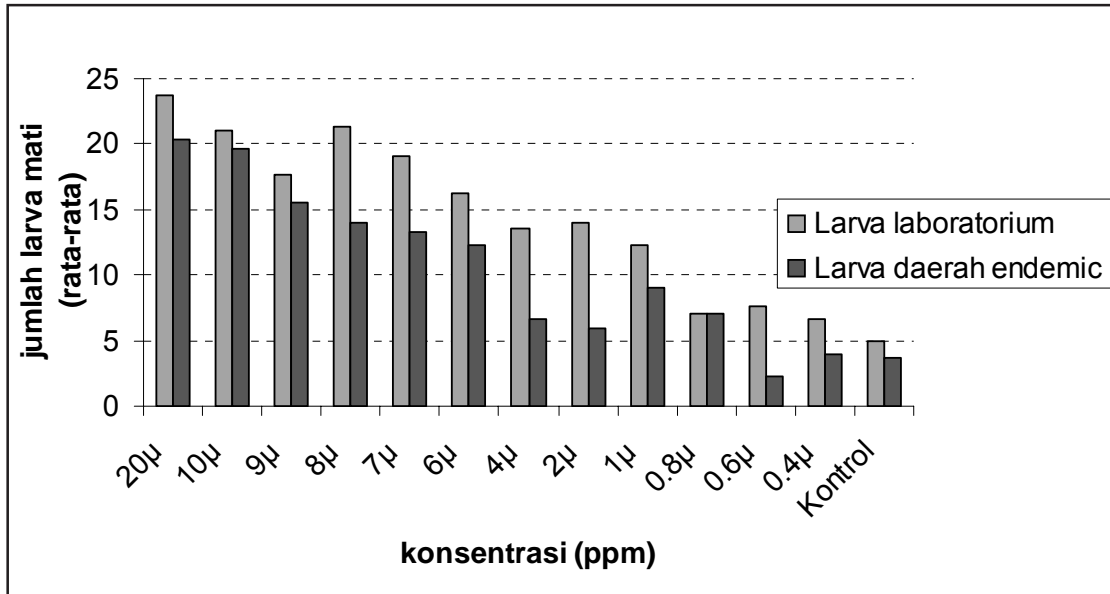
Jalannya penelitian adalah sebagai berikut 1) Pemasangan ovitrap/perangkap telur. Perangkap telur nyamuk *Ae. aegypti* berupa gelas di cat hitam, diisi air, dilengkapi dengan kertas saring pada sisi dalamnya, diletakkan di luar dan di dalam rumah. Seminggu sekali kertas saring diambil dan diganti yang baru. Telur kemudian ditetaskan di Laboratorium

Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Yogyakarta dalam baki plastik berisi air, dipelihara sampai instar III diidentifikasi untuk mengetahui spesiesnya, 2) Disiapkan 18 gelas plastik berisi air ledeng. Dibagi menjadi dua kelompok yaitu 13 gelas untuk larva daerah endemis dan 13 gelas lagi untuk larva laboratorium. Dimana 12 gelas perlakuan berisi *Bacillus thuringiensis israelensis* (*Bti*) dengan konsentrasi masing-masing 0.02 ml, 0.01 ml, 0.009 ml, 0.008 ml, 0.007 ml, 0.006 ml, 0.004 ml, 0.002 ml, 0.001 ml, 0.0008 ml, 0.0006 ml, dan 0.0004 ml dan 1 gelas sebagai kontrol. Masing-masing mangkok diisi dengan 25 ekor larva stadium III yang dipindahkan dari baki perindukan dengan menggunakan pipet, 3) Larutan stok formulasi cair *B. Thuringiensis* H-14 dibuat dengan cara menimbang 0.2 ml formulasi cair *B. thuringiensis* H-14 dan dimasukkan ke dalam beaker glass berukuran 500 ml yang ditambahkan 199,8 ml akuades dan dikocok sampai homogen. Dari larutan stok tersebut selanjutnya diambil berturut-turut sebanyak 0.02 ml, 0.01 ml, 0.009 ml, 0.008 ml, 0.007 ml, 0.006 ml, 0.004 ml, 0.002 ml, 0.001 ml, 0.0008 ml, 0.0006 ml, dan 0.0004 ml menggunakan pipet dan dimasukkan ke dalam gelas plastic yang berisi 25 ekor jentik nyamuk instar III dan berturut-turut dengan jumlah akuades sebanyak 199.98 ml, 199.99 ml, 199.991 ml, 199.992 ml, 199.993 ml, 199.994 ml, 199.996 ml, 199.998 ml, 199.999 ml, 199.9992 ml, 199.9994 ml, 199.9996 ml untuk memperoleh konsentrasi akhir yang dibutuhkan yaitu sebanyak 20 ppm, 10 ppm, 9 ppm, 8 ppm, 7 ppm, 6 ppm, 4 ppm, 2 ppm, 1 ppm, 0.8 ppm, 0.6 ppm, dan 0.4 ppm, 4) Pengujian dilakukan pada suhu dan kelembaban kamar. Selama pengujian larva tidak diberi pelet. Pengamatan dilakukan setelah 24 jam dengan menghitung jumlah kematian larva pada tiap-tiap gelas. Larva yang tenggelam atau tidak bergerak setelah diganggu dinyatakan mati, 5) Percobaan diulang sebanyak 3 kali. Teknik analisis data dengan menggunakan uji statistik *Probit* dan *paired T-test*.

**Hasil**

Jumlah larva yang mati pada kelompok perlakuan dihitung dengan persentase rata-rata larva yang mati pada

ketiga replikasi. Perbandingan kematian larva *Ae. Aegypti* laboratorium dengan larva daerah endemik setelah 24 jam perlakuan dengan *Bti* pada berbagai konsentrasi dapat dilihat pada tabel I.



Gambar 1. Grafik Perbandingan Kematian Larva Setelah 24 Jam Perlakuan dengan *Bti* pada Berbagai Konsentrasi

Pada Gambar 1. di atas terlihat bahwa semakin rendah konsentrasi *Bti* yang diberikan pada masing-masing gelas menyebabkan makin kecil juga jumlah (rata-rata) larva yang mati untuk semua kelompok. Pada grafik juga terlihat kelompok larva *Aedes aegypti* koloni laboratorium ternyata lebih rentan terhadap *Bti* dari pada larva dari daerah endemik,

dilihat dari jumlah rata-rata larva mati lebih tinggi pada perlakuan pemberian *Bti* dengan konsentrasi yang sama.

Hasil yang ditunjukkan pada tabel I dan grafik I tersebut kemudian di analisis dengan analisis probit untuk menentukan LD<sub>50</sub> dan LD<sub>90</sub> dari masing-masing kelompok perlakuan dan analisis *paired T test*.

Tabel 1. Perbandingan kematian larva setelah 24 jam perlakuan dengan *Bti* pada berbagai konsentrasi.

Perlakuan (ppm)	Jumlah larva yang mati			
	Larva laboratorium		Larva daerah endemik	
	Rata-rata	%	Rata-rata	%
20 $\mu$	23,67	0,2367	20,3	0,203
10 $\mu$	21	0,21	19,6	0,196
9 $\mu$	17,66	0,1766	15,6	0,156
8 $\mu$	21,33	0,2133	14	0,14
7 $\mu$	19	0,19	13,3	0,133
6 $\mu$	16,3	0,163	12,3	0,123
4 $\mu$	13,6	0,136	6,6	0,036
2 $\mu$	14	0,14	6	0,06
1 $\mu$	12,3	0,123	9	0,09
0.8 $\mu$	7	0,07	7	0,07
0.6 $\mu$	7,6	0,076	2,3	0,023
0.4 $\mu$	6,6	0,066	4	0,004
Kontrol	5	0,05	3,67	0,0367

Tabel 2. Hasil analisa probit mengenai efektifitas larvasida *Bti*(*Bacillus Thuringiensis Israel*) berbagai konsentrasi terhadap larva *Ae.aegypti* laboratorium.

M (%)	LDx (ppm)	Kisaran Batas	
		Bawah	Atas
10	0,137	0,094	0,316
20	0,327	0,174	0,617
30	0,614	0,373	1,010
40	1,050	0,705	1,564
50	1,732	1,243	2,413
60	2,858	2,101	3,886
70	4,886	3,481	6,858
80	9,156	5,938	14,116
90	21,876	11,862	40,344
95	44,902	20,628	97,739

Ket :

M (%) : Konsentrasi *Bacillus Thuringiensis Israelensis* dalam persen

LD : *Lethal Dosage* (Konsentrasi larvasida dalam ppm)

Tabel 3. Hasil analisa probit mengenai efektifitas larvasida *Bti*(*Bacillus Thuringiensis Israe*l) berbagai konsetrasi terhadap larva *Ae.aegypti* daeah endemik DBD.

M (%)	LD <sub>x</sub> (ppm)	Kisaran Batas	
		Bawah	Atas
10	0,333	0,160	0,692
20	0,831	0,496	1,392
30	1,607	1,089	2,371
40	2,821	2,039	3,902
50	4,769	3,446	6,601
60	8,063	5,490	11,840
70	14,153	8,681	23,076
80	27,356	14,456	51,767
90	68,229	28,726	162,056
95	145.097	50,223	419,188

Ket :

M (%) : Konsentrasi *Bacillus Thuringiensis Israeensis* dalam persen

LD : *Lethal Dosage* (Konsentrasi larvasida dalam ppm)

Hasil analisis probit pada tabel 2 dan 3 d<sub>atas</sub> memperlihatkan data LD50 dan LD90 (konsentrasi yang di butuhkan untuk dapat membuat 50% dan 90% larva mati) pada larva *Ae. aegypti* koloni laboratorium dan larva *Ae. aegypti* dari daerah endemik DBD. Hasil ini menunjukkan bahwa pada penelitian ini, *Bti* bekerja sebagai larvasida lebih efektif pada larva laboratorium dengan LD50 dan LD90 yang lebih kecil dibandingkan pada larva daerah endemik. *Bti* pada penelitian ini membutuhkan konsentrasi 1,732ppm untuk mendapatkan kematian larva nyamuk lab sebesar 50% dan konsentrasi yang dibutuhkan untuk membunuh larva sebesar 90% adalah 21,876ppm sedangkan konsentrasi yang di butuhkan pada larva endemik sebesar 50% dan 90% adalah 4,769ppm dan 68,229ppm.

Selain itu dilakukan juga uji analisis *T test*, yang didapatkan bahwa ada perbedaan yang signifikan pada efektifitas jumlah konsentrasi yang di gunakan pada larva *Ae. aegypti* laboratorium dengan larva daerah endemik DB yang diperikasa, dimana nilai kemaknana sebesar 0,038 (p<0,05).

Perbedaan konsentrasi tersebut mungkin disebabkan oleh aktifitas patogenesis yang berbeda di dalam usus

tengah jentik. Selain itu hubungan antara kistal protein yang dihasilkan dengan jentik seranga sangat spesifik. Hal ini didukung pula oleh Devidas pada tahun 1992 yang menyatakan bahwa lingkungan usus tengah usus serangga sangat berperan dalam menentukan spesifisitas serangga.<sup>7</sup>

Selain itu ada juga yang melaporkan bahwa tiga faktor yang menentukan potensi delta endotoksin *B. thuringiensis* adalah asal toksin, kemampuan cairan usus melarutkan kristal protein serta kerentangan serangga sasaran terhadap toksin.<sup>8</sup>

Perilaku kebiasaan makan spesies jentik dan tersedianya toksin di daerah makan larva (*larva feeding zone*) juga berpengaruh pada efektifitas larvasida yag diuji. Hal ini sesuai dengan *Ae.aegypti* karena larva ini mempunyai kebiasaan mengambil makanan di dasar dan di dinding penampungan air (*bottom feeders*).<sup>9</sup>

Efikasi *B. thuringiensis* terhadap jentik nyamuk dipengaruhi antara lain oleh faktor-faktor ekologis, biologis dan fisik dapat mempengaruhi daya mematikan *B. thuringiensis*.<sup>10</sup> Faktor-faktor seperti instar jentik, makanan, periode pemaparan (*expose periode*), kualitas air, galur bakteri, perbedaan kepekaan masing-masing jentik nyamuk yang diuji, suhu air dan formulasi,

khususnya tingkat sedimentasi/pengendapan dilaporkan sangat mempengaruhi daya mematikan *B. thuringiensis* terhadap jentik nyamuk.<sup>11</sup>

*B. thuringiensis* H-14 dalam Media infus kedelai memerlukan konsentrasi yang lebih kecil dari pada hasil yang dilakukan oleh peneliti. Berarti hal ini bisa menjadi pertimbangan agar bisa dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mencari faktor-faktor yang berpengaruh terhadap perbedaan konsentrasi yang terjadi.<sup>5</sup>

*B. thuringiensis* mempunyai daya insektisida yang spesifik terhadap beberapa famili serangga dalam ordo diptera. Hal ini mempunyai arti penting di masa depan sebagai pengendali serangga karena aplikasinya akan sangat memperkecil kerusakan lingkungan dengan memperkecil risiko matinya serangga lain ataupun mikroorganismenya yang bukan sasaran.

## Kesimpulan

Ada perbedaan yang bermakna pada efektifitas *Bti* terhadap larva *Ae. aegypti* laboratorium dan larva endemik DBD. Konsentrasi yang di butuhkan untuk membunuh larva *Ae. aegypti* laboratorium pada LD<sub>50</sub> adalah 1,732ppm dan pada LD<sub>90</sub> adalah 21,876. Konsentrasi yang di butuhkan untuk membunuh larva *Ae. aegypti* daerah endemik DB pada LD<sub>50</sub> adalah 4,769ppm dan pada LD<sub>90</sub> adalah 68,229ppm.

## Daftar Pustaka

1. Gandahusada, S., Herry, I., Pribadi, W. 2003. *Parasitologi Kedokteran*, edisi 3. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Bull. 5(3-4): 39-47.
2. Lee, H.L. 1998. Isolation and evaluation of two isolates of *Bacillus thuringiensis* for the control of mosquitoes of public health importance in Malaysia. *Mosq. Borne. Disease*
3. Ali, A.S., 1994. Analisis strain *Bacillus thuringiensis* secara serologi: Kumpulan Makalah Seminar *Bacillus thuringiensis*. Jakarta hal 12.
4. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian. (2007). *Bacillus Thuringiensis*, Bioinsektisida Alternatif (lefler). Diakses 1 agustus 2007, dari [www.google.com](http://www.google.com).
5. Blondine, Ch.P. 2004. Formulasi *Bacillus thuringiensis* H-14 galur lokal dalam media infus kedelai dan uji patogenesisnya terhadap jentik nyamuk vektor. *Jurnal Kedokteran Yarsi* 12(1): 22-28.
6. Mardihusodo, S.Y., Mardhiyah, Baidlowi, C.A., 1979. Kemampuan menetas telur *Aedes (Stegnomya) aegypti*. Laporan Penelitian Proyek PPT UGM. Yogyakarta.
7. Devidas, P. 1992. Bt mode action: Approaches. Dalam *Sem. Proc. Global management of insecticide Resistance in the 90's*. Setember, 15-17.
8. Jaquet, F., Hunter. R., Luthy. P. 1987. specificity of *Bacillus thuringiensis* deltaendotoksin, *Appl. Environ. Micro.*, 53 (3), 500-504.
9. Becker. N., Djakaria. S., Kaiser. A., Zulhasril. O., Ludwig. H.W. 1991. efficacy of a New Tablet Formulation of an Asporogeneous strain of *Bacillus Thuringiensis Israelensis* Against Larvae of *Ae. aegypti*, *Bull. Soc. Vector. Ecol.* 16(1): 1-7
10. Mulla, M.S., Darwazeh, H.A., Davidson, E.W., and Dulmage, H.T., 1984. Efficacy and persistence of the Microbial agent *B. Sphaericus* against mosquito larvae in organically enriched habitats., *Mosq news.*, 44, 166-173
11. Aly, C. 1983. feeding Behavior of *Aedes vexans* Larvae (Diptera, Culicidae) and its influence on the effectiveness of *Bacillus Thuringiensis var Israelensis*, *Bull.Soc.Vector Ecol.*, 8(2), 94-100.