

# Studi Toksisitas *Bacillus thuringiensis* Isolat Lokal Jawa Timur Berdasarkan Ketinggian Tempat Terhadap Larva *Aedes aegypti*

Lidwina Faraline Triprisila<sup>1)</sup> Suharjono<sup>1)</sup>, Zulfaidah Penata Gama<sup>1,2)</sup> Nobukazu Nakagoshi<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Laboratorium Mikrobiologi, Program Studi Biologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya, Malang

<sup>2)</sup>Graduate School for International Development and Cooperation (IDEC), Hiroshima University, Japan

Alamat Korespondensi : Lidwina ([lidwinafaraline1991@gmail.com](mailto:lidwinafaraline1991@gmail.com)), Suharjono ([calistus@ub.ac.id](mailto:calistus@ub.ac.id)), Zulfaidah PG ([zulfaidahpenatagama@gmail.com](mailto:zulfaidahpenatagama@gmail.com))

## ABSTRAK

Demam Berdarah Dengue (DBD) masih menjadi masalah bagi kesehatan masyarakat dan merupakan penyakit endemis yang menyebabkan angka kematiannya tinggi hampir di seluruh provinsi di Indonesia. Pada kurun empat tahun terakhir Jawa Timur memiliki kasus DBD paling tinggi. Ketinggian tempat merupakan faktor yang membatasi penyebaran *Aedes aegypti* sebagai vektor epidemik penyakit demam berdarah. Salah satu cara yang aman untuk memberantas nyamuk tersebut adalah dengan *Bacillus thuringiensis*. Tujuan penelitian ini untuk mendapatkan isolat dan menguji toksisitas *Bacillus thuringiensis* yang efektif dalam membunuh larva *Aedes aegypti* dari beberapa ketinggian tempat di Jawa Timur. Sampel sedimen dan air diambil dari dataran tinggi Blitar dan Bondowoso, dataran sedang di Bangkalan, Ponorogo, Madiun dan Tulungagung serta dataran rendah di Lamongan dan Surabaya. *Bacillus thuringiensis* diisolasi dengan media selektif. Isolat yang didapatkan diamati karakteristik fenotip (*Profil Matching Method*), kemudian dilakukan pengujian toksisitas pada larva nyamuk *Aedes aegypti* instar III. Persentase mortalitas larva dianalisis probit (LC50), ragam (ANOVA) dan uji t (*t-test*). Dua dari 28 isolat *Bacillus thuringiensis* yang didapatkan yaitu SK.T dan Mdn I TK2 mampu membunuh larva *Aedes aegypti* lebih dari 50 %. Isolat Mdn I TK2 pada umur biakan 48 jam dan isolat SK.T pada umur biakan 24 jam pada waktu pendedahan 72 jam secara berturut-turut mampu membunuh larva *Aedes aegypti* sebesar 100 % dan 68,3 %. Isolat Mdn I TK2 lebih efektif membunuh larva *Aedes aegypti* dibandingkan isolat SK.T dengan nilai  $LC_{50-72jam}$  sebesar  $2,17 \times 10^7$  sel/ml.

Kata Kunci : *Aedes aegypti*, *Bacillus thuringiensis*, isolat lokal Jawa Timur, uji toksisitas

## ABSTRACT

*Dengue Hemorrhagic Fever (DHF)* is still a public health problem and an endemic disease that causes high mortality in almost all provinces in Indonesia, including East Java. In the past four years, East Java has the highest dengue cases. Altitude is an important factor that limits in the spread of *Aedes aegypti* as a vector of dengue fever epidemic disease. The mosquito *Aedes aegypti* can be prevented using *Bacillus thuringiensis*. The purpose of this research was to determine the potential toxicity of *B. thuringiensis* local isolates from several areas in East Java based differences in place that is effective in killing the larvae of *Aedes aegypti*. Soil samples, sediment and water taken from the high altitude of Blitar and Bondowoso, middle altitudes in Bangkalan, Ponorogo, Madiun and Tulungagung and low altitude Lamongan and Surabaya. Samples was isolated bacteria with selective media *B. thuringiensis*. Phenotypic characteristic as result of selection was observed by (*Simple matching Method*) and toxicity assay in the third instar larvae (*A. aegypti*) were conducted in laboratory. Larvae mortality (%) was analyzed by using probit, ANOVA, and *t-test*. Two of 28 isolates of *B. thuringiensis* were bacteria with code of SK.T and Mdn I TK2 toxic to the larvae of *Aedes aegypti* more than 50 %. Isolate Mdn I TK2 at 48 hours of incubation and isolate SK.T at 24 hours of incubation respectively toxic to the larvae of *Aedes aegypti* were 100 % and 68,3%. Isolate Mdn I TK2 more effectivity to control *A. aegypti* larvae than isolate SK.T based on LC50 density of viable cell was  $2,17 \times 10^7$  cell/ml.

Keyword : *Aedes aegypti*, *B. thuringiensis*, indigenous East Java, toxicity

## PENDAHULUAN

Demam Berdarah Dengue (DBD) masih menjadi masalah bagi kesehatan masyarakat dan merupakan penyakit endemis yang menyebabkan angka kematiann tinggi hampir di seluruh provinsi di Indonesia. Dalam kurun waktu empat tahun terakhir jumlah kasus DBD terus meningkat dan

sering menimbulkan Kejadian Luar Biasa (KLB) [1].

Berdasarkan analisis kasus DBD Dinas Kesehatan Jawa Timur periode Triwulan I (Januari-Maret 2012) terdapat kabupaten/kota di Jawa Timur pada dataran tinggi, dataran sedang maupun dataran rendah yang mengalami KLB DBD yaitu Lamongan, dan Kota Madiun. Selain itu juga terdapat daerah yang mengalami

kasus DBD meningkat namun tidak memasuki KLB yakni Kabupaten Ponorogo, Bangkalan, Blitar, madiun dan kota Blitar, Tulungagung. Terdapat pula kabupaten/kota mengalami peningkatan jumlah penderita dan kabupaten/kota yang mengalami peningkatan angka kematian (CFR) yaitu Kota Surabaya, Lamongan, Bondowoso, Kota Madiun, Kabupaten dan Kota Blitar.

Penyakit DBD ditularkan oleh nyamuk *Aedes aegypti* (Linn.) Ketinggian tempat merupakan faktor penting yang membatasi penyebaran *Aedes aegypti* dari ketinggian 0 hingga 100 meter di atas permukaan laut. Pada dataran rendah (kurang dari 500 m) tingkat populasi nyamuk dari sedang hingga tinggi, sementara di daerah pegunungan (lebih dari 500 m) populasinya rendah [14].

Salah satu pengendalian vektor virus dengue (*A. aegypti*) adalah dengan penggunaan insektisida kimiawi, namun penggunaannya dapat menyebabkan resistensi vektor virus dengue, pencemaran lingkungan, serta terbunuhnya musuh alami dan organisme lain yang bukan sasaran. Salah satu cara yang aman untuk memberantas nyamuk menggunakan musuh alaminya [2].

Bakteri *Bacillus thuringiensis* diketahui efektif dan bersifat sangat spesifik yaitu toksik terhadap nyamuk *A. aegypti*. Bakteri ini juga aman bagi manusia dan organisme bukan sasaran (non-target) [3]. Hal ini sangat diperlukan untuk menanggulangi wabah penyakit DBD yang terdapat di Jawa Timur tanpa menimbulkan dampak negatif pada pencemaran lingkungan. Tujuan dalam penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh ketinggian tempat pada distribusi *B. thuringiensis* pengendali larva *Aedes aegypti* dan mengetahui *B. thuringiensis* isolat lokal Jawa Timur yang efektif dalam membunuh larva *Aedes aegypti* serta mengetahui toksisitas ( $LC_{50}$ ) *B. thuringiensis* isolat lokal Jawa Timur terhadap larva *A. aegypti*.

## METODE PENELITIAN

### Isolasi dan Pemurnian Bakteri *Bacillus thuringiensis*

Rancangan penentuan lokasi pengambilan sampel sedimen dan air menggunakan *search sampling* yaitu dilakukan dengan studi pendahuluan berdasarkan data lokasi kasus DBD yang dominan dari Dinas Kesehatan Jawa Timur berdasarkan ketinggian tempat yaitu daerah dataran tinggi (Blitar dan Bondowoso), dataran sedang (Bangkalan, Ponorogo, Madiun dan Tulung Agung) dan dataran rendah (Lamongan dan Surabaya).

Isolasi dan pemurnian Bakteri *Bacillus thuringiensis* diisolasi menurut Chatterje dkk [4];[5]. Sampel sedimen tanah ditimbang sebanyak 25 g dan sampel air sebanyak 25 ml masing-masing

dimasukkan ke dalam 225 ml larutan garam fisiologis steril (NaCl 0,85 %) dan dipanaskan pada suhu 80° C selama 15 menit. Suspensi sampel kemudian dibuat seri pengenceran 10<sup>-1</sup>-10<sup>-6</sup>. Suspensi dari tingkat pengenceran 10<sup>-2</sup>-10<sup>-6</sup> diambil sebanyak 0,1 ml kemudian diinokulasikan ke dalam cawan petri dan dituang dengan komposisi media selektif *B. thuringiensis* (glukosa 3 g, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2 g, yeast extract 2 g, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.3H<sub>2</sub>O 0,5 g, MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O 0,2 g, CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O 0,08 g, MnSO<sub>4</sub>.4H<sub>2</sub>O 0,05 g, Agar 15 g dalam 1000 ml akuades) secara *pour plate*. Biakan diinkubasikan selama ± 48-96 jam dalam inkubator pada suhu 30° C. Koloni bakteri yang diisolasi berbentuk bulat, tepian berkerut, memiliki diameter 5 – 10 mm, berwarna putih, elevasi timbul (*raised*) dan permukaan koloni kasar [6], serta sel gram Positif, berbentuk batang, dengan ukuran lebar 1,0 - 1,2 µm dan panjang 3 - 5 µm [7] endospora berbentuk oval, letaknya subterminal dan berukuran 1,0-1,3 µm.

Isolat yang tumbuh dimurnikan dengan metode *streak plate* secara kuadran. Koloni pada permukaan agar media selektif *B. thuringiensis* diinkubasikan selama ± 48-72 jam pada suhu ruang. Isolat disimpan dalam media *Nutrient Agar* (NA) dan media selektif *B. thuringiensis* pada suhu 4° C.

### Klasifikasi berdasarkan nilai similaritas sifat-sifat fenotip

Isolat bakteri diambil untuk mengkonfirmasi bakteri gram positif seperti *Bacillus thuringiensis* [8]. Uji biokimia yang dilakukan yaitu katalase, VP (*Voges-Proskauer*), hidrolisis pati, dan diuji dengan API 50CHB API sistem (bioMerieux, Marcy-lez-Etoile, France) sesuai dengan petunjuk produsen [9]. Karakteristik fenotip seperti ciri-ciri koloni dan sel serta biokimiawi dijadikan dalam satu data. Data diolah menggunakan program CLAD97 [10] untuk mengkonstruksikan dendogram dengan indeks similaritas antarstrain menggunakan algoritma pengklasteran *average linkage* (*UPGMA: Unweight Pair Group Methode with Arithmetic Average*). Nilai similaritas ditentukan dengan metode *Simple matching Method* (SSM) menurut rumus 1 [11].

### Uji toksisitas *B. thuringiensis* terhadap larva nyamuk *A. aegypti*

Isolat bakteri dinokulasikan dalam 50 ml medium *Nutrient Broth* (NB) yang diinkubasi pada suhu 30° C selama 72 jam. Dalam inkubasi tersebut setiap 24 jam, suspensi biakan bakteri sebanyak lima mililiter diinokulasikan pada masing-masing mangkuk plastik yang berisi air sumur steril 45 ml. Setiap mangkuk plastik ditambahkan larva nyamuk *A. aegypti* instar III sebanyak 20 ekor [12] dan diberi

pakan *dogfeed*, sedangkan kontrol berupa air sumur digunakan 20 larva nyamuk *A.aegypti* instar III tanpa diberi perlakuan suspensi *B. thuringiensis*. Pengamatan dilakukan dengan menghitung jumlah kematian larva dalam pendedahan 24, 48, dan 72 jam [13].

Isolat bakteri terpilih yang berpotensi membunuh larva *A. aegypti* instar III lebih dari 50 % dilakukan seri dilusi dengan perbandingan air sumur dan tingkat konsentrasi suspensi sel bakteri yang berbeda-beda yaitu 0:50, 5:45, 10:40, 15:35, 20:30, dan 25:25. Isolat *Bt.* pada umur biakan 24-48 jam diinokulasikan dalam 50 ml media NB (*Nutrient Broth*) dan diinkubasi pada suhu 30° C. Kemudian ditambahkan 20 larva nyamuk instar III, sedangkan kontrol digunakan 20 larva tanpa diberi perlakuan suspensi *B. thuringiensis*. Larva yang mati dihitung pada pendedahan 24, 48, dan 72 jam [13]. Nilai LC<sub>50</sub> dihitung berdasarkan analisis Probit SPSS for Windows *release 16.0* pada setiap waktu pengamatan dan konsentrasi *B. thuringiensis* dilakukan menggunakan uji *Independent Sample T Test* ( = 0,05).

### ANALISIS DATA

Toksitasitas *B. thuringiensis* terhadap larva nyamuk *A. aegypti* diuji menurut Rancangan Acak Kelompok (RAK). Perlakuan pada percobaan ini yaitu lama waktu pendedahan dan jenis isolat pada masing-masing uji. Percobaan tersebut dilakukan sebanyak tiga kali dengan parameter uji persentase kematian larva nyamuk *A. aegypti*

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### Jumlah dan Karakteristik Fenotip Isolat Bakteri yang Mirip dengan *B. thuringiensis* Pengendali Larva *A. aegypti* berdasarkan ketinggian tempat

Sebanyak 28 isolat bakteri dengan karakter fenotip mirip *B. thuringiensis* diperoleh dari beberapa daerah di Jawa Timur berdasarkan ketinggian tempat (Tabel 1). Jumlah isolat yang diperoleh bervariasi dari tiap-tiap lokasi, di dataran tinggi (Blitar dan Bondowoso) didapatkan enam isolat *B. thuringiensis* dan 14 isolat *Bacillus* spp., dataran sedang (Ponorogo, Tulungagung, dan Madiun) didapatkan 10 isolat *B. thuringiensis* dan 33 isolat *Bacillus* spp., sedangkan dataran rendah (Lamongan) didapatkan 10 isolat *B. thuringiensis* dan 39 isolat *Bacillus* spp. Isolat Bangkalan dan RSBY didapatkan dari koleksi laboratorium hasil studi pendahuluan yang memiliki tingkat toksisitas yang tinggi.

Lokasi-lokasi dengan ketinggian tempat yang berbeda di Jawa Timur diperoleh *Bt.* index yang berbeda. Nilai *Bt* index merupakan perbandingan

antara total isolat *Bt.* dengan total isolat *Bacillus* spp. [15]. Nilai *Bt.* index pada dataran tinggi sebesar 0,42, dataran sedang sebesar 0,30, dan dataran rendah sebesar 0,25. Berdasarkan nilai *Bt.* index tersebut dataran tinggi menunjukkan nilai yang lebih tinggi dibandingkan dataran sedang dan dataran rendah. Nilai *Bt.* index yang tinggi menyatakan kelimpahan *B. thuringiensis* yang tinggi pula, namun secara keseluruhan *Bt.* index yang diperoleh dari masing-masing ketinggian tempat masih rendah (<0,5), sehingga dapat dikatakan kelimpahan *B. thuringiensis* di Jawa Timur masih rendah.

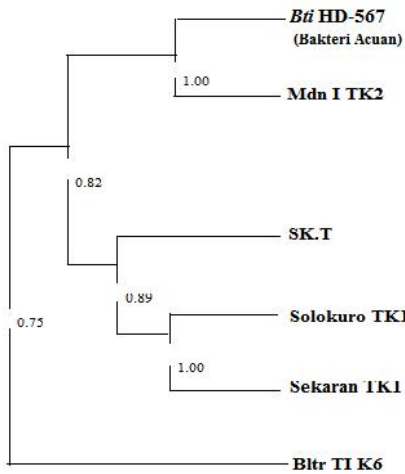
Tabel 1. Isolat bakteri yang mirip dengan *B. thuringiensis*

Dataran	Kota/Kab.	Kode Isolat	
Dataran tinggi	Blitar	Bltr TI k6	Bltr TII K1b
			Bltr TII K1a
	Bondowoso	Bdws T2 K14	Bdws T2 K6
Dataran Sedang	Ponorogo	Pono TI K1a	Pono TI K2
			Pono TII K1a
	Tulungagung	TA.TI K6b	TA.A. K6b
			Mdn JT K6b
	Madiun	Mdn I TK2	Mdn JT K6b
			Mdn JT K1a
Dataran Rendah	Bangkalan	Bgklan.T	
	Surabaya	RSBY. T	
			Solokuro TK5
	Lamongan	SK. T	Sekaran Ak1
		Kltgah TK1	Sekaran TK1
		Kltgah TK2	Sekaran TK1
		Solokuro TK2	Kedung TK1
		Solokuro TK1	Kedung A 13

Berdasarkan karakter fenotip pewarnaan gram positif, endospora subterminal, hasil uji katalase, hidrolisis pati, dan VP (*Voges-Proskauer*) isolat yang menunjukkan reaksi positif yaitu sebanyak lima isolat (Bltr TI k6, Mdn I TK2, SK. T, Solokuro TK1, dan Sekaran TK1) yang identik dengan *B. thuringiensis* var. *israelensis* HD-567. Bentuk pengelompokkan kelima isolat dan isolat *Bti.* HD-567 berdasarkan similaritas karakter fenotip disajikan pada Gambar 1.

Kelima isolat *B. thuringiensis* lokal Jawa Timur dibagi menjadi tiga kelompok. Kelompok pertama dengan nilai similaritas 100 % terdiri atas *Bti.* HD-567 dan Mdn I TK2, kelompok kedua similaritasnya 89 % terdiri atas isolat SK.T, Solokuro TK1, dan Sekaran TK1, sedangkan kelompok ketiga yaitu Bltr TI K6 memiliki nilai similaritas terendah (75 %) dengan kelima isolat lainnya. Karakter yang membedakan antara kelompok pertama (*Bti.* HD-567 dan Mdn I TK2) dengan kelompok kedua (SK.T, Solokuro TK1, dan Sekaran TK1) yaitu morfologi koloni dengan tepian *round with raised margin* sedangkan kelompok kedua dengan tepian *round* dan kelompok ketiga dengan tepian beralun.

Berdasarkan indeks similaritas isolat SK.T, Solokuro TK1, dan Sekaran TK1 dikatakan dalam satu genus karena menunjukkan nilai similaritas 89 % sedangkan isolat Solokuro TK1 dengan Sekaran TK1 menunjukkan nilai similaritas 100 % antara keduanya sehingga dapat dikatakan satu strain demikian juga isolat *Bti*. HD-567 dengan Mdn I TK2 dengan nilai similaritas 100%.



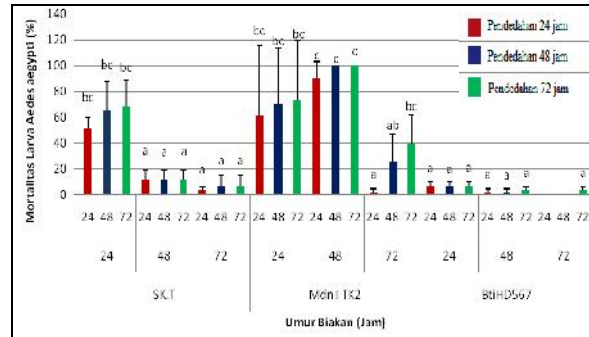
Gambar 1. Dendrogram hubungan similaritas antara kelima isolat bakteri lokal Jawa Timur pengendali *A. aegypti* dengan *Bti*. HD-567.

### Toksisitas Isolat Bakteri terhadap Larva *A. aegypti*

Berdasarkan hasil seleksi, dua isolat bakteri Mdn I TK2 berasal dari Madiun dan SK.T dari Lamongan menyebabkan mortalitas larva *Aedes aegypti* lebih dari 50 % pada pendedahan 72 jam. Kedua isolat tersebut masing-masing berasal dari dataran sedang dan dataran rendah. Berdasarkan persentase mortalitas larva *A. aegypti* instar III oleh perlakuan isolat SK.T, Mdn I TK2, dan *Bti*. HD-567 (Gambar 2) menunjukkan bahwa ketiganya memiliki potensi toksisitas yang berbeda-beda. Hal ini dapat terjadi disebabkan oleh perbedaan potensi toksisitas dari masing-masing isolat. Potensi toksisitas dari kristal toksin *B. thuringiensis* tertentu dipengaruhi oleh kelarutan, afinitas terhadap reseptor serta pemecahan proteolitik ke dalam toksin [16].

Potensi larvasidal *Bti* tertinggi pada perlakuan SK.T terjadi pada umur biakan 24 jam yang masing-masing pendedahan 24, 48, dan 72 jam secara berturut-turut 51,7 %, 65 %, dan 68,3 %. pada perlakuan Mdn I TK2 pada umur biakan 24 jam waktu pendedahan 24, 48, dan 72 jam secara berturut-turut 61,67 %, 70 %, dan 73 %, sedangkan pada umur biakan 48 jam 95 %, 100 %, dan 100 %. Potensi larvasidal Mdn I TK2 pada umur biakan 48 tertinggi dibandingkan isolat SK.T dan bakteri acuan *Bti*. HD-567. *B. thuringiensis* var. *israelensis*

memiliki daya bunuh yang sudah lebih berkurang dan kecil toksisitasnya jika dibandingkan dengan daya bunuh *Bacillus thuringiensis* isolat lokal [17]. Larva *A. aegypti* dapat mengalami peningkatan resistensi terhadap *B. thuringiensis* hingga mencapai tiga kali lipat dalam 20 generasi *B. thuringiensis* yang dimurnikan dalam skala laboratorium [18].



Gambar 2. Persentase mortalitas larva *A. aegypti* Instar III oleh isolat SK.T, Mdn I TK2, dan *Bti*. HD-567 pada umur biakan 24, 48, dan 72 jam.

Berdasarkan umur biakan, isolat SK.T menyebabkan mortalitas larva *A. aegypti* instar III yang tertinggi pada umur biakan 24 jam sedangkan Mdn I TK2 pada umur biakan 24 jam dan 48 jam, hal ini berhubungan dengan produksi toksin. Mortalitas larva *A. aegypti* oleh perlakuan SK.T pada umur biakan 24 jam kemungkinan besar disebabkan oleh senyawa -eksotoksin, sedangkan pada perlakuan Mdn I TK2 kemungkinan disebabkan oleh senyawa -eksotoksin dan -endotoksin.

Berdasarkan toksisitasnya, kedua isolat yaitu SK.T dan Mdn I TK2 mampu membunuh larva *A. aegypti* lebih dari 50 %. Uji toksisitas LC<sub>50</sub> dilakukan untuk mengetahui efektivitas toksin masing-masing isolat. Berdasarkan analisis uji t (*t-test*), perbedaan isolat bakteri dan waktu pendedahan berpengaruh signifikan ( $p < 0,05$ ) terhadap LC<sub>50</sub> larva *A. aegypti*.

Nilai LC<sub>50</sub> pada perlakuan isolat SK.T pada waktu pendedahan 24, 48, dan 72 jam menunjukkan persentase mortalitas larva *A. aegypti* tidak berbeda secara signifikan ( $p > 0,05$ ) yaitu antara 2,42 – 2,69 x 10<sup>7</sup> sel/ml. Nilai LC<sub>50</sub> perlakuan isolat Mdn I TK2 lebih rendah dibandingkan isolat SK.T, dan pada waktu pendedahan 24 lebih tinggi dibandingkan pada pendedahan 48 dan 72 jam ( $p < 0,05$ ) tetapi antara waktu pendedahan 24, 48 jam dan 72 jam tidak berbeda secara signifikan ( $p > 0,05$ ). Berdasarkan nilai LC<sub>50</sub> antarisolat, menunjukkan bahwa isolat Mdn I TK2 relatif paling toksik (2,17 x 10<sup>7</sup> sel/ml) kemudian isolat SK.T dan yang paling rendah toksisitasnya terhadap larva *A. Aegypti* instar III adalah *Bti*. HD567.



Tabel 2. Nilai LC<sub>50</sub> isolat bakteri *B. thuringiensis* terhadap larva *Aedes aegypti* instar III

Isolat	Densitas Sel ( $\times 10^7$ ) sel/ml		
	LC <sub>50</sub> 24jam	LC <sub>50</sub> 48jam	LC <sub>50</sub> 72jam
SK.T	2,49 (a)	2,69 (a)	2,42 (a)
Mdn I	2,37 (a)	2,21 (a)	2,17 (a)
TK2			
<i>Bti.</i> HD-567	47,08 (b)	46,66 (ab)	19,49 (ab)

Toksitas isolat Mdn I TK2 ini juga lebih baik jika dibandingkan isolat PWR4 32 yang berasal dari Malang hasil isolasi Gama dkk (2013) dengan LC<sub>50</sub>72jam sebesar  $22,79 \times 10^7$  sel/ml. Waktu pendedahan 72 jam lebih efektif daripada 24 jam dan 48 jam, hal ini disebabkan adanya penumpukan atau akumulasi toksin yang berdampak negatif dalam saluran pencernaan inang.

### KESIMPULAN

*Bacillus thuringiensis* berdasarkan ketinggian tempat tidak terdapat hubungan terhadap mortalitas larva *A. aegypti* meskipun ditemukan di dataran tinggi lebih banyak daripada di dataran rendah. Dua isolat yaitu Mdn I TK2 asal madiun dan isolat SK.T asal Lamongan yang efektif membunuh larva *A. Aegypti*. Isolat Mdn I TK2 paling tinggi toksitasnya terhadap larva *A. Aegypti* instar III dengan LC<sub>50</sub>72jam sebesar  $2,17 \times 10^7$  sel/ml.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih ditujukan kepada Bapak Dr. Suharjono selaku Dosen Pembimbing atas arahan, kesabaran, bimbingan, tambahan ilmu serta dukungannya dalam penelitian dan penulisan jurnal. Ibu Zulfaidah Penata Gama selaku ketua proyek *Bacillus thuringiensis* Jawa Timur yang membiayai penelitian.

### DAFTAR PUSTAKA

[1] Depkes RI. 2007. Modul Pelatihan Bagi Pengelola Program Pengendalian Penyakit Demam Berdarah di Indonesia. Dirjen P2PL Depkes RI. Jakarta.

[2] Van Frankenhuysen, Schoenmaker, Astrid; Cusson, Michel; Kees. 2001. Interactions between *Bacillus thuringiensis* and parasitoids of late-instar larvae of the spruce budworm (Lepidoptera: Tortricidae). *Can. J. Zool.* 79 (9): 1697–1703.

[3] Bellows, T. S., Jr. & R. G. Van Driesche. 1999. Life Table Construction and Analysis for Evaluating Biological Control Agents, Academic Press. New York. hal. 199-223.

[4] Chatterjee, S. N., T. Bhattacharya, T. K. Dangar & G. Chandra. 2007. Ecology and diversity of *Bacillus*

*thuringiensis* in soil Environment. *African. J. Biotechnol.* 6 (13): 1587-1591.

[5] Gama, Z. P. & U. Marwati. 2005. Seleksi Strain *Bacillus thuringiensis* Isolat Sumenep yang paling Potensial sebagai Agen Pengendali Larva Nyamuk *A. aegypti*. *Natural* 9 (1): 1-5. 35874

[6] Rampersad, J., A. K. & D. Ammons. 2002. Usefulness of Staining Parasporal Bodies when Screening for *Bacillus thuringiensis*. *J. Invertebr. Pathol.* 79:203-4.

[7] Bravo A., S. Sarabia, L. Lopez, H. Ontiveros, C. Abarca, A. Ortiz, M. Ortiz, L. Lina, F. Villalobos, G. Peña, M.E. Nuñez-Valdez, M. Soberón & R. Quintero. 1998. Characterization of *cry* genes in a mexican *Bacillus thuringiensis* strain collection. *Appl. Environ. Microbiol.* 64: 4965-4972.

[8] Garrity, G.M., Julia, A.B., & Timothy, G. L. 2004. *Bergey's Manual Of Systemic.* 2<sup>nd</sup> Ed. Bergey's Manual Trust. New York. USA.

[9] Martin, P.A, Gundersen, R.D.E, Blackburn M.B. 2010. Distribution of phenotypes among *Bacillus thuringiensis* strains. *Syst. Appl. Microbiol.* 33: 204-208.

[10] Rahardi, B. 2002. Pemrograman Aplikasi Konstruksi Kekerabatan Taksonomi Dengan Visual C++6.0. Jurusan Biologi FMIPA Universitas Brawijaya Malang. Skripsi.

[11] Sembiring, L. 2002. Petunjuk Praktikum Sistematika Mikroba S-2. Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Biologi. UGM. Yogyakarta.

[12] Walther, C. J., G. A. Couche, M. A. Pfannenstiel, S. E. Egan, L. A. Bivin & K. W. Nickerson. 1986. Analysis of mosquito larvicidal potential exhibited by vegetative cells of *Bacillus thuringiensis* subsp. israelensis. *Appl. Environ. Microbiol.* 52:650–653.

[13] Gama, Z. P., Suharjono, & G. Ekowati. 1998. Potensi Patogenitas *Bacillus thuringiensis* var. israelensis serotype H-14 dan *Bacillus thuringiensis* isolat Madura terhadap Larva Nyamuk. Laporan Penelitian Jurusan Biologi FMIPA, Universitas Brawijaya. Malang.

[14] Kristina, dkk. 2004. *Demam Berdarah Dengue*. [http://www.litbang.depkes.go.id/maskes/05\\_2004/demamberdarah1.htm](http://www.litbang.depkes.go.id/maskes/05_2004/demamberdarah1.htm). Diakses 12 April 2012.

[15] Ammounh, H., M. Harba, E. Idris, & H. Makee. 2011. Isolation and characterization of native *Bacillus thuringiensis* isolates from Syrian soil and testing of their insecticidal activities against some insect pests. Department of Molecular Biology and Biotechnology, Atomic Energy Commission of Syria. *Turk. J. Agric. For* 35: 421-431.

[16] Swadener, C. 1994. Insecticide fact sheet (<http://www.mindfully.org/GE/Bacillusthuringiensis/Bt.htm>): *Bacillus thuringiensis* (B.t.). *J. Pestic. Reform.* 14: 3

[17] Gama, Z.P. 2000. Usaha Pengendalian Secara Biologis Terhadap Bahan Pencemar Perairan. *J.Natural.* 4(2):136-141.

[18] Mittal, P.K., 2003. Biolarvicides in vector control : challenges and prospects. *Malaria Research Centre. J. Vect. Borne. Dis* 40: 20–32.