

**PENENTUAN LC₅₀ TEPUNG HASIL FERMENTASI BAKTERI
Bacillus thuringiensis TERHADAP LARVA NYAMUK *Aedes sp***

**OLEH
IRAWATI PONDA
H 511 98 023**

PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS HASANUDDIN	
Tgl. Terima	21 - 9 - 2004
Asal Dari	Kalc. MIPA
Barang	1 eks.
Merek	Hadiah
No. Induk	010921126
No. Stok	23419



**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2003**

SKRIPSI

OLEH
IRAWATI PONDA
H 511 98 023



JURUSAN FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2003

**PENENTUAN LC₅₀ TEPUNG HASIL FERMENTASI BAKTERI
Bacillus thuringiensis TERHADAP LARVA NYAMUK *Aedes sp***

**Skripsi untuk melengkapi tugas-tugas dan
memenuhi syarat-syarat untuk mencapai
gelar sarjana**

**OLEH
IRAWATI PONDA
H 511 98 023**

**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2003**

**PENENTUAN LC₅₀ TEPUNG HASIL FERMENTASI BAKTERI
Bacillus thuringiensis TERHADAP LARVA NYAMUK *Aedes sp***

Disetujui oleh :

Pembimbing Utama



(Drs. M. Natsir Djide, M.S)
NIP. 130 785 083

Pembimbing Pertama



(Dra. Nursiah Hasyim, C.E.S)
NIP. 130 937 014

Pembimbing Kedua



(Dra. Sartini, M.Si)
NIP. 131 696 792

Pada tanggal 18 September 2003

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat TUHAN YME atas berkat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini yang merupakan syarat wajib bagi setiap mahasiswa Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam untuk memperoleh gelar kesarjanaan.

Pada kesempatan ini perkenankanlah penulis menyampaikan rasa terima kasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya kepada pembimbing :

1. Bapak Drs.M.Natsir Djide, MS selaku pembimbing utama
2. Ibu Dra. Nursiah Hasyim, C.E.S. selaku pembimbing pertama
3. Ibu Dra.Sartini, MSi selaku pembimbing kedua

yang telah meluangkan waktu dan tenaganya untuk memberikan bimbingan, petunjuk dan saran-saran sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

Demikian pula penulis ucapkan banyak terima kasih dan penghargaan kepada:

1. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
2. Ketua Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
3. Kepala Laboratorium Farmasetika-Mikrobiologi Farmasi Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
4. Ibu Dra. Jeanny Wunas, M.S selaku Penasehat Akademik yang telah banyak memberikan bimbingan dan saran sehingga penulis dapat menyelesaikan studi di Jurusan Farmasi dengan baik.

5. Bapak dan Ibu dosen serta seluruh staf karyawan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam khususnya Jurusan Farmasi Universitas Hasanuddin.

6. Rekan-rekan angkatan '98 terutama Destin, Monita, Reni dan Eti

Dan dengan segala kerendahan hati penulis haturkan ucapan terima kasih yang tak terhingga kepada Ayahanda Luther Ponda dan Ibunda Habsia Biaga, Kak Ratna sekeluarga, Kak Ramli dan adik Junaedi, yang telah memberikan doa, perhatian, dorongan dan bantuan material yang sangat berharga hingga skripsi ini dapat penulis rampungkan. Penulis juga mengucapkan syukur atas bantuan dan dukungan dari saudara-saudara di " Glory 3 Zona D " terutama dari Kak Reinhard, Kak Aling, Kak Ansi, Kak Dana, Kak Gustin, Orpha, Gege, Okha, Ellen, Etha, Rika dan semua yang tidak dapat disebut satu-persatu.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih banyak dijumpai kekurangan, olehnya itu dengan senang hati penulis menerima kritikan berupa saran dan petunjuk untuk kesempurnaannya.

Akhirnya skripsi ini penulis persembahkan kepada Almamater tercinta Universitas Hasanuddin tempat penulis menimba ilmu dan wawasan kemahasiswaan. Semoga skripsi ini bermanfaat bagi masyarakat umum dan bagi mahasiswa Farmasi.

Makassar, September 2003

Penulis

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang “ Penentuan LC_{50} Tepung Hasil Fermentasi Bakteri *Bacillus thuringiensis* Terhadap Larva Nyamuk *Aedes sp* “ dengan tujuan memperoleh suatu larvasida dari *Bacillus thuringiensis* dan menentukan LC_{50} larvasida tersebut sehingga dapat dijadikan suatu alternatif penanggulangan larva nyamuk *Aedes sp* penyebab penyakit demam berdarah.

Metode penelitian meliputi fermentasi bakteri *Bacillus thuringiensis* dalam medium produksi yang dilakukan dengan pengocokan selama 3 x 24 jam pada suhu 25°C dengan kecepatan pengocokan 170 rpm. Hasil fermentasi diliofilisasi dan diperoleh bentuk tepung yang digunakan sebagai larvasida. Pengujian dilakukan terhadap 5 kelompok larva uji, masing-masing terdiri dari 10 ekor larva *Aedes sp*, dengan konsentrasi tepung 1 % b/v, 0,1 % b/v, 0,01 % b/v, 0,001 % b/v dan 0 % sebagai kontrol. Pengamatan dilakukan selama 6 hari dengan menghitung jumlah larva yang mati.

Hasil penelitian menunjukkan tepung hasil fermentasi bakteri *Bacillus thuringiensis* bersifat larvasida dengan nilai LC_{50} sebesar 186 bpj menurut cara probit.

ABSTRACT

An investigation have been made to determine LC_{50} powder resulted from the fermentation process of bacteria *Bacillus thuringiensis* against larvae *Aedes sp* mosquitoes .The aim of the investigation was to produce larvacide from *Bacillus thuringiensis* and determine LC_{50} of larvacide against larvae *Aedes sp*, dengue fever vector.

Investigation method involved *Bacillus thuringiensis* fermentation which was done by agitation 3 x 24 hours at room temperature, 170 rpm. The result of fermentation was liofilisated to obtain powder form that used as larvacide. Larvae of *Aedes sp* mosquitoes devided into 5 group which consist of 10 larvaes of *Aedes sp* each group, that namely 4 treatment group with concentration 1 % w/v, 0,1 % w/v, 0,01 % w/v, 0,001 w/v % and with one controling group (0 %). The observation was taken for 6 days long by counting larvaes that got died.

The result of investigation shows that powder as larvicides against *Aedes sp* mosquitoes result LC_{50} value 186 ppm by probit method.

DAFTAR ISI

	Halaman
UCAPAN TERIMA KASIH.....	i
ABSTRAK	iii
ABSTRACT	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
DAFTAR GAMBAR	x
BAB I PENDAHULUAN	1
BAB II POLA PENELITIAN	4
BAB III TINJAUAN PUSTAKA	6
III.1 Uraian Umum Insektisida	6
III.2 Uraian Umum Larvasida	8
III.3 Teknik Pengendalian Populasi Nyamuk	8
III.3.1 Pengendalian Secara Umum	8
III.3.2 Pengendalian Secara Hayati	9
III.4 Insektisida Mikrobial	9
III.4.1 Klasifikasi Bakteri <i>Bacillus thuringiensis</i>	10
III.4.2 Karakteristik <i>Bacillus thuringiensis</i>	10
III.5 Uraian Umum Nyamuk <i>Aedes sp</i>	11
III.5.1 Klasifikasi Nyamuk <i>Aedes sp</i>	11

III.5.2 Morfologi Nyamuk <i>Aedes sp</i>	11
III.5.3 Siklus Hidup Nyamuk <i>Aedes sp</i>	12
III.5.4 Perbedaan Nyamuk <i>Aedes sp</i> dengan Nyamuk Lain	13
III.6 LC ₅₀ (Median Lethal Concentration)	14
BAB IV METODE PENELITIAN	16
IV.1 Alat dan Bahan	16
IV.1.1 Alat-alat yang digunakan	16
IV.1.2 Bahan-bahan yang digunakan	17
IV.2 Prosedur Kerja	17
IV.2.1 Sterilisasi Alat	17
IV.2.2 Pembuatan Medium	17
IV.2.3 Peremajaan Bakteri	19
IV.2.4 Penyiapan Suspensi Bakteri	19
IV.2.5 Penyiapan Starter Bakteri	19
IV.2.6 Fermentasi Larvasida.....	19
IV.2.7 Liofilisasi	20
IV.2.8 Pengambilan dan Pengembangbiakan Larva <i>Aedes sp</i> ...	20
IV.2.9 Pengujian Aktivitas Larvasida Terhadap larva <i>Aedes sp</i> ..	20
IV.2.10 Penentuan Median Lethal Concentration (LC ₅₀)	21
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	22
V.1 Hasil	22
V.2 Pembahasan	22

BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	27
VI.1 Kesimpulan	27
VI.2 Saran	27
DAFTAR PUSTAKA	28

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Data Pengamatan Jumlah Kematian Jentik Uji Setelah Pemberian Tepung Hasil Fermentasi Bakteri <i>Bacillus thuringiensis</i> dengan Replikasi 3 Kali....	31
2. Data Pengamatan Jumlah Kematian Rata-rata Jentik Uji Setelah Pemberian Tepung Hasil Fermentasi Bakteri <i>Bacillus thuringiensis</i> dengan Replikasi 3 kali.....	32
3. Data Persentase Kematian Tiap Kelompok Jentik Uji Setelah Pemberian Tepung Hasil Fermentasi Bakteri <i>Bacillus thuringiensis</i> dengan Replikasi 3 kali	33
4. Tabel Harga Probit Sesuai Persentase	34

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Perhitungan LC_{50} Tepung Hasil Fermentasi Bakteri <i>Bacillus thuringiensis</i> Menurut Metode Probit	35
2. Skema Kerja Pembuatan Medium NA dan Peremajaan Biakan Mikroba	37
3. Skema Kerja Pembuatan Medium Inokulum dan Produksi Larvasida	38
4. Skema Kerja Pengujian Aktivitas Larvasida	39
5. Skema Kerja Penentuan LC_{50} Tepung Hasil Fermentasi Bakteri <i>Bacillus thuringiensis</i> Terhadap Larva Nyamuk <i>Aedes sp</i>	40

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Grafik Hubungan Log Konsentrasi dengan Harga Probit	41
2. Perbedaan Nyamuk <i>Aedes sp</i> dengan Nyamuk <i>Anopheles</i> dan <i>Culex</i>	42
3. Morfologi Larva Nyamuk <i>Aedes sp</i> dan Bagian-Bagiannya	43
4. Pengamatan Bentuk Bakteri <i>Bacillus thuringiensis</i> Secara Mikroskopik	44
5. Hasil Pengamatan Secara Mikroskopik Morfologi Badan Larva Nyamuk <i>Aedes sp</i> yang Terhidrolisis	45

BAB I

PENDAHULUAN

Penyakit menular yang ditularkan serangga vektor saat ini masih merupakan masalah kesehatan di Indonesia, terutama penyakit malaria, filaria dan demam berdarah⁽¹⁾.

Penyakit demam berdarah dengue (DBD) mulai berjangkit di Indonesia sejak tahun 1968 di Surabaya dan Jakarta. Sejak itu penyakit ini merupakan salah satu penyakit endemis di Indonesia⁽²⁾. Dengue adalah penyakit tropik yang ditimbulkan oleh virus, manusia terinfeksi dari gigitan *Aedes aegypti* dan *Aedes albopictus*. Gejalanya muncul 5 sampai 8 hari setelah digigit nyamuk yang tercemar virus itu. Penderita mengalami demam, nyeri hebat pada otot dan persendian, dan sakit kepala, tidak nafsu makan, menggigil dan lemas, kadang disertai kemerahan di kulit. Serangan dapat mereda setelah 3 hari dan muncul lagi beberapa hari kemudian. Umumnya virus dengue dan nyamuk vektornya terdistribusi di seluruh daerah tropis dan subtropics di dunia. Manusia yang terinfeksi pada daerah endemic mencapai 75 %^(3, 4, 5).

Penyakit DBD masih merupakan masalah kesehatan yang penting karena: dapat menyebabkan terjadinya wabah pada saat-saat tertentu yang sulit diramalkan, patofisiologi renjatan masih belum jelas, belum ditemukannya vaksin yang ampuh dan masih kurangnya partisipasi masyarakat dalam pemberantasan sarang nyamuk⁽²⁾

Penyakit yang ditularkan oleh nyamuk *Aedes aegypti* ini sampai sekarang belum ditemukan obat / vaksinnya sehingga salah satu cara pencegahannya adalah

memberantas vektornya. Pemberantasan vektor DBD stadium pradewasa relatif lebih mudah daripada stadium dewasanya. Pemberantasan pradewasa dapat dilakukan secara hayati atau secara kimiawi ⁽⁶⁾.

Pengendalian larva dengan larvasida kimiawi yang sampai saat ini masih dilakukan dapat menimbulkan dampak negatif berupa timbulnya varietas baru yang resisten, timbulnya pencemaran lingkungan dan terbunuhnya organisme bukan sasaran. Untuk mengatasi masalah-masalah tersebut, telah dilakukan penelitian-penelitian yang hasilnya berupa diketemukannya jenis-jenis mikroba yang dapat dimanfaatkan untuk mengendalikan nyamuk secara hayati ⁽⁷⁾. Salah satu pengendali hayati yang sedang digalakkan penggunaannya adalah *Bacillus thuringiensis*. *Bacillus thuringiensis* merupakan bakteri pembentuk spora yang memproduksi kristal protein toksin dalam sel selama fase sporulasi. Kristal toksin memegang peranan penting karena aktifitasnya sebagai insektisida. Bakteri ini juga mempunyai patogenitas tinggi terhadap jentik nyamuk dan jentik lalat hitam ⁽⁸⁾.

Dari penelitian sebelumnya ⁽⁹⁾ diketahui bahwa *Bacillus thuringiensis* formula tepung mempunyai kemampuan daya bunuh yang berbeda terhadap larva *Aedes aegypti* setelah kontak selama 48 jam, dimana dosis tertinggi yaitu 832 mg/m² merupakan dosis yang efektif terhadap seluruh instar larva nyamuk.

Bakteri *Bacillus thuringiensis* yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari koleksi Mikrobiologi Farmasi, Laboratorium Farmasetik Jurusan Farmasi Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin Makassar. Efektifitas bakteri *Bacillus*

thuringiensis dipengaruhi oleh beberapa faktor, salah satunya adalah formulasi yang diberikan pada serangga sasaran dapat berbentuk granul, cair maupun tepung.

Sehubungan dengan hal tersebut maka telah dilakukan penelitian tentang penentuan LC_{50} tepung hasil fermentasi bakteri *Bacillus thuringiensis* terhadap larva nyamuk *Aedes sp* untuk mengetahui sejauh mana pengaruhnya terhadap larva nyamuk *Aedes sp*. Tujuannya adalah untuk memperoleh suatu larvasida dari *Bacillus thuringiensis* dan menentukan LC_{50} larvasida tersebut sehingga dapat dijadikan suatu alternatif penanggulangan larva nyamuk *Aedes sp* penyebab penyakit demam berdarah.

BAB II

POLA PENELITIAN

II.1 Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang akan digunakan disiapkan sesuai dengan kebutuhan penelitian.

II.2 Prosedur Penelitian

II.2.1 Peremajaan Bakteri

Mikroba stock digoreskan satu ose secara aseptik pada medium NAMR. Diinkubasi 24 jam pada suhu 30°C, diperoleh biakan mikroba yang baru.

II.2.2 Penyiapan Suspensi Bakteri

Bacillus thuringiensis yang telah diremajakan, dipanen dengan menambahkan NaCl 0,9 %

II.2.3 Penyiapan Starter Bakteri

Suspensi bakteri yang dipanen dimasukkan ke dalam medium MY-Broth steril 5 %

II.2.4 Fermentasi Larvasida

Inokulum *Bacillus thuringiensis* yang diperoleh dimasukkan ke dalam medium produksi sebanyak 10 % dan difermentasikan pada suhu ruangan, dilakukan pengocokan selama 3 x 24 jam.

II.2.5 Liofilisasi Hasil Fermentasi

Hasil fermentasi bakteri *Bacillus thuringiensis* dibekukeringkan dengan alat liofilisasi selama 24 jam dan diperoleh bentuk tepung.

II.2.6 Pengambilan dan Pengembangbiakan Larva Nyamuk *Aedes sp*

Nyamuk diperoleh dari alam, diidentifikasi, dibiarkan dalam ruang tertutup kasa hingga bertelur dan menetas menjadi jentik yang siap dipakai.

II.2.7 Pengujian Aktifitas Larvasida Terhadap Larva Nyamuk *Aedes sp*

Dilakukan pengujian beberapa konsentrasi larvasida terhadap larva nyamuk *Aedes sp*.

II.3 Pengumpulan dan Pengolahan Data

Data diperoleh dari pengujian aktivitas formulasi tepung *Bacillus thuringiensis* terhadap larva nyamuk *Aedes sp*.

II.4 Hasil dan Pembahasan

Pembahasan dilakukan berdasarkan data yang diperoleh dari hasil penelitian.

II.5 Pengambilan Kesimpulan

Kesimpulan diperoleh berdasarkan data dan pembahasan disesuaikan dengan maksud dan tujuan penelitian.

BAB III

TINJAUAN PUSTAKA

III.1. Uraian Umum Insektisida (10, 11, 12)

Insektisida merupakan bagian dari pestisida, berasal dari kata "Insect" berarti serangga dan "Cide" berarti membunuh. Insektisida mencakup bahan-bahan kimia dan nonkimia yang digunakan untuk mengendalikan populasi jasad hidup yang merugikan manusia, ternak dan tumbuhan yang diusahakan manusia untuk kesejahteraan agar kerugian dapat ditekan seminimum mungkin.

Berdasar atas stadium serangga yang dibunuhnya, maka insektisida dibagi menjadi imagosida yang ditujukan kepada serangga dewasa, larvasida yang ditujukan kepada larva serangga dan ovisida yang ditujukan untuk membunuh telurnya. Berdasarkan tempat masuk insektisida ke dalam tubuh serangga, maka insektisida dapat digolongkan atas racun kotak (contact poison) yang masuk ke dalam tubuh serangga melalui kulit serangga, racun perut (stomach poison) yang masuk melalui mulut atau alat pencernaan serangga dan fumigans yang masuk melalui saluran pernapasan serangga. Selain itu terdapat repellent, suatu bahan kimia yang ditujukan untuk menjauhkan manusia dari serangga-serangga pengganggu atau serangga yang menjadi vektor penyakit.

Bahan-bahan kimia yang dapat menjadi insektisida terdapat dalam berbagai susunan kimiawi. Bahan-bahan inorganik misalnya arsen dan fluorine, bahan-bahan kimia berasal dari tumbuhan misalnya pyrethrum dan rotenone, bahan-bahan kimia yang tersusun dari organophosphor dan bahan-bahan kimia

chlorinated hydrocarbon merupakan insektisida yang saat ini banyak digunakan diseluruh dunia.

Resistensi Terhadap Insektisida

Upaya yang dilakukan oleh serangga di alam untuk menumbuhkan daya resistensinya terhadap insektisida telah diketahui sejak tahun 1908. Jumlah serangga yang resisten terhadap insektisida terus meningkat. Hingga tahun 1971 sebanyak 225 jenis serangga yang mempunyai daya resistensi telah dicatat. Dari jumlah ini sebanyak 98 jenis didapati resisten terhadap DDT (Brown, 1971). Lalat dan nyamuk pada tahun 1946 juga didapati mampu menumbuhkan daya resistensi terhadap DDT dan sejak itu masalah resistensi pada serangga mendapat perhatian yang serius dari para peneliti.

Suatu artropoda dikatakan telah kebal (resisten) terhadap sejenis insektisida bila dengan menggunakan dosis yang biasa digunakan, artropoda tidak dapat dibunuh. Resistensi dapat terjadi oleh karena serangga memiliki sistem enzim yang mampu menetralisasi racun (insektisida), selain itu terdapat timbunan lemak dalam tubuh serangga yang dapat menyerap insektisida yang masuk. Faktor lain yang mempengaruhi terjadinya resistensi yaitu stadium serangga, generation time dan kompleksitas gen dari artropoda.

Bila terjadi resistensi terhadap insektisida, maka selain dosis harus ditingkatkan, juga harus diciptakan insektisida baru untuk memberantas serangga tersebut. Jika dosis terus menerus ditingkatkan, pada suatu saat akan membahayakan kesehatan manusia dan kesehatan lingkungan.

III.2 Uraian Umum Larvasida (6, 7, 11)

Larvasida merupakan bagian dari pestisida, berasal dari kata "Larva" berarti jentik dan "Cide" yang berarti membunuh, dan dari kata Yunani " Lar ", yang berarti ulat atau larva. Larvasida adalah bahan kimia dan nonkimia yang digunakan untuk membunuh ulat atau larva..

Mengingat tempat perkembangbiakan larva vektor DBD pada penampungan air yang airnya digunakan bagi kebutuhan sehari-hari terutama untuk minum dan masak maka larvasida yang digunakan harus mempunyai sifat-sifat sebagai berikut : efektif pada dosis rendah, tidak bersifat racun bagi manusia dan mamalia, tidak menyebabkan perubahan rasa, warna dan bau pada air yang diperlakukan, dan efektifitasnya bertahan lama.

Pengendalian terhadap populasi nyamuk yang ditujukan kepada larvanya lebih menguntungkan karena dapat dicegah bertambahnya nyamuk baru, lokasi perkembangbiakan terbatas (air jernih) dan ruang geraknya relatif terbatas. Pengendalian larva dengan larvasida kimiawi yang sampai saat ini masih dilakukan dapat menimbulkan dampak negatif berupa timbulnya varietas baru yang resisten, timbulnya pencemaran lingkungan dan terbunuhnya organisme bukan sasaran.

III.3 Teknik Pengendalian Populasi Nyamuk (7)

III.3.1 Pengendalian Secara Umum

Populasi larva nyamuk dapat dikendalikan secara kimiawi dengan menggunakan larvasida kimia yang dapat membunuh larva secara massal,

dengan manipulasi lingkungan yaitu menciptakan lingkungan menjadi “unvaporable” bagi larva, dan pengendalian secara hayati dengan memanfaatkan pathogen, parasit atau pemangsa larva.

III.3.2 Pengendalian Secara Hayati

Untuk mengatasi kelemahan-kelemahan penggunaan larvasida kimiawi maka dikembangkan cara baru untuk mengendalikan populasi larva dengan memperhatikan prinsip-prinsip pengelolaan lingkungan hidup, yang disebut pengendalian secara hayati. Pengendalian hayati atau “biological control “ merupakan pemanfaatan kegiatan pathogen, parasit atau predator suatu organisme dalam mengatur jumlah suatu populasi sampai tingkat minimal tanpa membinasakan seluruhnya.

III.4 Insektisida Mikrobial (12, 13, 17, 21)

Berasal dari mikroba yang digunakan sebagai insektisida. Serangga juga terserang penyakit yang disebabkan oleh jamur, bakteri dan virus. Beberapa jenis penyebab penyakit ini telah berhasil diisolasi dan dibiakkan untuk kemudian dikembangkan secara massal dan digunakan sebagai insektisida.

Jenis mikroba yang akan digunakan sebagai insektisida harus mempunyai sifat yang spesifik artinya hanya menyerang serangga yang menjadi sasaran dan tidak pada jenis-jenis lainnya. Pada saat ini hanya beberapa insektisida mikrobial yang sudah digunakan dan diperdagangkan secara luas. Salah satunya adalah *Bacillus thuringiensis* yang sporanya sangat diperlukan terutama karena mampu menghasilkan senyawa yang dapat melukai saluran pencernaan

serangga. *Bacillus thuringiensis* pertama kali digunakan sebagai insektisida mikroba pada tahun 1938..Jenis yang lain berasal dari protozoa, *Nosema locustae*, yang telah dikembangkan untuk membasmi belalang dan jengkerik.

III.4.1 Klasifikasi Bakteri *Bacillus thuringiensis*

Divisi	: Protophyta
Kelas	: Schizomycetes
Bangsa	: Eubacteriales
Suku	: Bacillaceae
Marga	: Bacillus
Jenis	: <i>Bacillus thuringiensis</i>

III.4.2 Karakteristik *Bacillus thuringiensis*

Bakteri *Bacillus thuringiensis* merupakan bakteri gram positif dan bersifat aerob. Bakteri ini mempunyai sifat khas yaitu mampu menghasilkan kristal delta endotoksin proteinous atau kristalin bodi yang merupakan protein yang berada dalam sel yang berbentuk kristal dalam kotak spora. Toksin ini tidak menyebabkan timbulnya penyakit pada manusia maupun hewan tingkat tinggi dan tahan panas. Habitatnya di dalam tanah, pH yang disenangi adalah 8,5-10,5 dan mempunyai keefektifan yang tinggi sebagai insektisida terhadap golongan Lepidoptera.

Spora bakteri ini menghasilkan senyawa yang dapat melukai saluran pencernaan pada larva serangga. Yang pertama ialah kristal

protein yang jika tertelan dapat menyebabkan pencernaan menjadi paralisis. Yang kedua, toksin, yang merupakan turunan nukleotida yang larut dalam air dan tidak mengalami perubahan ketika melewati saluran pencernaan tetapi akan membunuh larva-larva serangga yang hidup pada kotoran. Dua senyawa lainnya merupakan enzim yang hilang dalam proses pembuatannya secara komersil. Rumus bangun dari senyawa aktifnya hingga kini belum diketahui.

III.5 Uraian Umum Nyamuk *Aedes sp* (5, 10, 14, 15, 16)

III.5.1 Klasifikasi Nyamuk *Aedes sp*

Divisi	: Artropoda
Kelas	: Hexapoda
Bangsa	: Diptera
Suku	: Culicidae
Marga	: Aedes
Jenis	: <i>Aedes sp</i>

III.5.2 Morfologi Nyamuk *Aedes sp*

Ciri yang khas adalah bentuk abdomen nyamuk betina yang lancip ujungnya dan memiliki cerci yang lebih panjang dari cerci nyamuk lainnya. Nyamuk dewasa mempunyai bercak-bercak putih keperakan atau putih kekuningan pada tubuhnya yang berwarna hitam. Di bagian dorsal dari toraks terdapat bentuk bercak yang khas berupa 2 garis sejajar di bagian tengah dan 2 garis lengkung di tepinya. *Aedes*

albopictus mudah dibedakan bentuknya dari *Aedes aegypti* karena garis toraksnya tidak mempunyai garis yang melengkung. Nyamuk betina mempunyai antena dengan bulu yang tidak lebat sedangkan nyamuk jantan mempunyai antena dengan bulu yang lebat.

III.5.3 Siklus Hidup Nyamuk

Semua nyamuk mengalami metamorfosa yang sempurna (holometabola) yaitu telur, larva, pupa dan dewasa. Larva dan pupa memerlukan air untuk kehidupannya sedangkan telur pada beberapa spesies dapat tahan hidup dalam waktu lama tanpa air, meskipun harus tetap dalam keadaan lingkungan yang lembab. Masa inkubasi telur berlangsung selama beberapa hari dan sesudah masa tersebut lengkap, telur segera menetas bila diletakkan di air.

Setelah menetas, larva bertumbuh dan berkembang melalui 4 tahap dengan melepaskan kulitnya di antara tahap perkembangannya tersebut. Bentuk larva pada masing-masing tahap disebut instar. Instar pertama amat kecil kemudian tumbuh dan berkembang serta mencapai maksimum pada instar tahap 4. Setelah mengalami 4 kali pergantian kulit, larva segera menjadi pupa. Bentuk pupa yaitu fase tanpa makan yang aktif dan sangat sensitive terhadap pergerakan air ini, hanya berlangsung dalam waktu 2 sampai 3 hari. Pada tingkatan pupa akan dibentuk alat-alat tubuh nyamuk dewasa serta alat kelamin. Untuk penentuan jenis kelamin dan tingkatan larva menjadi pupa memakan

waktu antara 1-9 hari sedangkan tingkatan pupa menjadi nyamuk dewasa antara 1- 2 hari. Nyamuk dewasa jantan umumnya hanya tahan hidup selama 6-7 hari sedangkan yang betina dapat mencapai 2 minggu

III.5.4 Perbedaan Nyamuk *Aedes sp* Dengan Nyamuk Lain

Perbedaan *Aedes sp* dengan nyamuk *Anopheles* dan *Culex* yaitu pada tingkatan :

1. Telur

Aedes : tidak ada pelampung

Anopheles : nampak ada pelampung

Culex : tidak ada pelampung

2. Larva

Aedes : Posisi saat istirahat membentuk sudut dengan permukaan air dan memiliki sifon dengan satu kumpulan rambut

Anopheles : Posisi istirahat sejajar dengan permukaan air dan memiliki sifon

Culex : Posisi istirahat sama seperti *Aedes* dan memiliki sifon dengan beberapa kumpulan rambut.

3. Kepompong/pupa

Aedes dan *Culex* : Berbentuk terompet yang panjang dan ramping

Anopheles : Berbentuk terompet yang pendek dan tumpul

4. Nyamuk Dewasa

Aedes : Pada kepala memiliki palpi yang pendek dan posisi istirahat sejajar dengan permukaan air, terdapat bercak-bercak putih keperakan pada bagian tubuhnya

Anopheles : Pada kepala memiliki palpi yang panjang dan posisi istirahat membentuk sudut 45° dengan permukaan air

Culex : Kepala memiliki palpi yang pendek, posisi istirahat sejajar dengan permukaan air

III.6 LC_{50} (Median Lethal Concentration) (22)

Median Lethal Concentration atau LC_{50} adalah besarnya konsentrasi atau inokulan yang diberikan terhadap sejumlah tertentu air sebagai media kehidupan organisme aquatik yang mampu membunuh 50 % atau setengah jumlah organisme tersebut dalam satuan waktu tertentu.

Perhitungan LC_{50} menurut Farmakope Indonesia Edisi III harus memenuhi syarat sebagai berikut :

1. Menggunakan seri dosis dengan pengenceran berkelipatan tetap
2. Jumlah hewan percobaan tiap kelompok harus sama

3. Dosis diatur sedemikian rupa sehingga memberikan efek dari 0 %- 100 % dan perhitungan dibatasi pada kelompok percobaan yang memberikan efek 0 % - 100 %

Penentuan LC_{50} juga dapat dihitung dengan menggunakan grafik probit. Probit persentase serangga uji yang mengalami kematian ditempatkan pada ordinat dan logaritma konsentrasi yang diberikan pada serangga uji ditempatkan pada absis. Nilai LC_{50} diperoleh dengan menarik garis lurus yang memotong kurva ordinat 50, antilog titik ini menunjukkan nilai LC_{50} .

BAB IV
METODE PENELITIAN

IV.1 Alat dan Bahan

IV.1.1 Alat-alat yang digunakan :

1. Aluminium foil
2. Alat liofilisasi
3. Batang pengaduk
4. Erlenmeyer
5. Gelas kimia
6. Gelas ukur
7. Inkubator
8. Jarum ose
9. Lampu spiritus
10. Oven
11. Otoklaf
12. Pinset
13. Rak tabung
14. Spoit
15. Shaker
16. Sendok tanduk
17. Timbangan

IV.1.2 Bahan-bahan yang digunakan :

1. Air suling
2. Biakan bakteri *Bacillus thuringiensis*
3. Larutan NaCl fisiologis 0,9 %
4. Larva nyamuk *Aedes sp*
5. Medium Maltosa Yeast Ekstrak Broth (MY-Broth) (Merck)
6. Medium Nutrient Agar (NA) (Difco)
7. Medium Produksi

IV.2 Prosedur Kerja

IV.2.1 Sterilisasi Alat

Alat-alat yang akan digunakan dicuci dengan deterjen lalu dibilas dengan air suling. Kemudian alat-alat tersebut disterilkan dengan menggunakan oven pada suhu 180° C selama 2 jam untuk alat-alat gelas. Ose dan pinset yang terbuat dari logam disterilkan dengan cara dipijarkan ujungnya dengan api langsung sampai pijar selama 30 detik. Alat ukur dan spoit disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C tekanan 2 atm selama 15 menit.

IV.2.2 Pembuatan Medium

1. Medium Nutrient Agar (NA)

Ekstrak Beef	3 g
Pepton	3 g
Agar	15 g

Air suling hingga 1000 ml

Bahan-bahan tersebut dilarutkan dalam air suling, kemudian dipanaskan sampai mendidih dan selanjutnya sediaan tersebut disterilkan dalam otoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit kemudian dicek dengan pH 7.

2. Medium Maltosa Yeast Broth (MY-Broth)

Maltosa 10 g

Ekstrak Yeast 4 g

Air suling hingga 1000 ml

Bahan-bahan tersebut dilarutkan dalam air suling dan selanjutnya disterilkan dalam otoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit kemudian dicek dengan pH 7

3. Medium Produksi

Glukosa 10 g

Pati Terlarut 20 g

Ekstrak Beef 1 g

NaCl 2 g

Air suling hingga 1000 ml

Bahan-bahan tersebut dilarutkan dalam air suling, kemudian dipanaskan sampai mendidih kecuali glukosa, (ini dilakukan sterilisasi tersendiri). Kemudian sediaan tersebut disterilkan di dalam otoklaf

pada suhu 121°C selama 15 menit, kemudian campurkan dengan glukosa steril

secara aseptik, dicek dengan pH 7.

IV.2.3 Peremajaan Bakteri

Bahan-bahan medium NA ditimbang, dilarutkan kemudian dicukupkan volumenya. Disterilkan dalam otoklaf suhu 121°C selama 15 menit. Medium NA steril dituang ke dalam tabung reaksi steril dan didinginkan dengan posisi miring. Mikroba stock digoreskan satu ose secara aseptik pada medium NA miring. Diinkubasi 24 jam pada suhu 37°C. Diperoleh biakan mikroba yang baru.

IV.2.4 Penyiapan Suspensi Bakteri

Bacillus thuringiensis yang telah diremajakan selama 24 jam dipanen dengan menambahkan larutan NaCl fisiologis 0,9 % steril sebanyak 3 ml.

IV.2.5 Penyiapan Starter Bakteri

Suspensi bakteri yang diperoleh dimasukkan sebanyak 2,5 ml ke dalam medium MY-Broth sebanyak 50 ml dan diinkubasikan selama 24 jam pada suhu 25 ° C sambil dikocok dengan kecepatan 170 rpm.

IV.2.6 Fermentasi Larvasida

Starter *Bacillus thuringiensis* yang diperoleh dimasukkan sebanyak 5 ml ke dalam medium produksi 50 ml dan difermentasikan pada suhu

25°C. Dilakukan pengocokan dengan kecepatan 170 rpm selama 3 x 24 jam.

IV.2.7 Liofilisasi

Hasil fermentasi bakteri *Bacillus thuringiensis* dibekukeringkan dengan alat liofilisasi selama 24 jam dan diperoleh bentuk tepung.

IV.2.8 Pengambilan dan Pengembangbiakan Larva Nyamuk *Aedes sp*

1. Pengambilan Larva Nyamuk *Aedes sp*

Larva nyamuk *Aedes sp* diperoleh dari penampungan air seperti bak mandi dan tempayan. Larva yang diperoleh diidentifikasi untuk mendapatkan larva *Aedes sp*.

2. Pengembangbiakan Larva Nyamuk *Aedes sp*

Larva nyamuk hasil identifikasi dibiarkan dalam ruangan tertutup kasa untuk memberikan kesempatan berkembang menjadi nyamuk dewasa yang selanjutnya akan bertelur dan menetas menjadi larva yang siap diujikan.

IV.2.9 Pengujian Aktifitas Larvasida terhadap Larva Nyamuk *Aedes sp*

Sejumlah wadah yang berkapasitas 250 ml masing-masing diisi 100 ml air dan 10 ekor larva. Ditambahkan larvasida dengan konsentrasi yang berbeda yaitu konsentrasi 1 % b/v, 0,1 %, 0,01 %, 0,001 %, dan 0 % sebagai control, direplikasi 3 kali. Dihitung jumlah larva yang mati .

IV.2.10 Penentuan Median Letal Konsentrasi (LC₅₀)

Larva yang mati dihitung dan data yang diperoleh dihitung dengan menggunakan metode Farmakope Indonesia edisi III yaitu :

$$m = a - b (\sum p_i - 0,5)$$

dimana :

$$m = \log LC_{50}$$

a = log dosis terendah yang menyebabkan jumlah kematian 100

% tiap kelompok

b = beda log dosis berurutan

$\sum p_i$ = jumlah hewan yang mati menerima dosis I dibagi dengan jumlah hewan seluruhnya yang menerima dosis i.

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

V.1 Hasil

Hasil penelitian Penentuan LC_{50} tepung hasil fermentasi bakteri *Bacillus thuringiensis* terhadap larva nyamuk *Aedes sp* yaitu sebagai berikut :

1. - Konsentrasi 1 % b/v menyebabkan kematian 100 %
 - Konsentrasi 0,1 % b/v menyebabkan kematian 70 %
 - Konsentrasi 0,01 % b/v menyebabkan kematian 40 %
 - Konsentrasi 0,001 % b/v menyebabkan kematian 20 %
 - Konsentrasi 0 % , kematian 0 %
2. Nilai LC_{50} yang diperoleh yaitu sebesar 0,0186 % b/v atau 186 ppm menurut cara probit.

V.2 Pembahasan

Pada penelitian ini telah dilakukan penentuan LC_{50} tepung hasil fermentasi bakteri *Bacillus thuringiensis* terhadap larva nyamuk *Aedes sp*. Pada waktu fermentasi inilah akan terjadi proses metabolisme dimana akan terbentuk metabolit sekunder yang bersifat toksis. Fermentasi bakteri *Bacillus thuringiensis* dilakukan pada suhu 25°C selama 72 jam (3 x 24 jam) dan dikocok dengan kecepatan 170 rpm. Waktu fermentasi ini ditentukan berdasarkan kurva pertumbuhan *Bacillus thuringiensis* yang menunjukkan bahwa pada waktu tersebut pertumbuhan bakteri mengalami fase stasioner dan pada fase tersebut jumlah sel bakteri maksimum dan diasumsikan bahwa jumlah metabolit sekunder

(toksin) yang dihasilkan juga maksimum. Toksin inilah yang bersifat sebagai larvasida terhadap larva nyamuk *Aedes sp.*

Hasil fermentasi *Bacillus thuringiensis* diliofilisasi dan diperoleh bentuk tepung. Penyimpanan spora bakteri dalam bentuk tepung atau dalam bentuk kering atau pada suhu rendah, efektifitas larvasidanya akan dapat dipelihara dalam waktu lama, dapat bertahan selama 10 tahun atau lebih (18). *Bacillus thuringiensis* memiliki potensi besar digunakan sebagai larvasida hayati karena efektif dalam membunuh, sangat selektif sehingga tidak merugikan organisme bukan sasaran, tidak menimbulkan pencemaran, tidak toksik terhadap hewan bertulang belakang. Karakteristik *Bacillus thuringiensis* adalah kemampuannya untuk menghasilkan endotoksin yang disebut para spora crystal (kristal para spora) yang bersifat toksik terhadap serangga terutama dari ordo Diptera dan Lepidoptera.

Bacillus thuringiensis menginfeksi inang masuk melalui mulut, setelah sampai di usus sporanya akan pecah dan menembus dinding sel. Masuk ke haemokol dan berkembang dalam haemolym. Daya racun *Bacillus thuringiensis* disebabkan oleh larutnya elemen toksis yang terdapat dalam spora. Proses pelarutan berlangsung dalam menesteron dengan melibatkan enzim proteolitik. Akibat pengaruh enzim proteolitik dan pH usus yang alkalis dalam tubuh induk semangnya maka kristal-kristal akan lepas sehingga toksinnya atau racunnya akan keluar. Racun ini akan menyebabkan pembengkakan sel-sel epitel usus tengah. Kerusakan struktur dan fungsi usus tengah ini menyebabkan keseimbangan pH

dan ion di dalam hemolimfe terganggu, akibatnya terjadi kelumpuhan yang mengakibatkan kematian.

Gejala toksis mulai diamati pada larva 24 jam setelah pemberian tepung hasil fermentasi. Gejala toksis yang terlihat adalah berupa respon fisik dan tingkah laku. Larva uji mengalami gerakan menggulung dan melakukan gerakan teleskopik yaitu gerakan turun naik dari permukaan air. Setelah itu mengalami kekejangan (konvulsi) dan kelumpuhan (paralysis) yang mengakibatkan kematian. Efek yang sangat jelas setelah mengalami fase kematian yaitu terjadinya hidrolisis pada permukaan tubuh jentik nyamuk. Tubuh larva yang mati berwarna hitam yang disebabkan rusak/hancurnya epithelium larva tersebut.

Dari penelitian Haniarti (1995), yang menggunakan filtrat dengan konsentrasi pengenceran 10^{-1} sampai 10^{-5} diketahui bahwa efek gerakan teleskopik dan konvulsi ini pada konsentrasi 10^{-3} sampai 10^{-5} lebih lambat dan kurang, terjadi akibat konsentrasi yang lebih rendah sehingga kematian yang terjadi juga berkurang. Demikian pula dalam penelitian ini terlihat efek toksik lebih lambat terjadi pada konsentrasi yang lebih rendah yaitu pada konsentrasi 0,01 – 0,001 % b/v, hal ini mungkin disebabkan oleh kurangnya jumlah bakteri yang menghasilkan spora yang bersifat toksik pada konsentrasi tersebut dibandingkan jumlah bakteri pada konsentrasi yang lebih tinggi.

Hal ini sesuai dengan pendapat Prihatiningtyas (1989) bahwa efektifitas *Bacillus thuringiensis* yang digunakan sebagai pengendali hayati terhadap serangga dipengaruhi oleh sifat khas spesies bakteri, metode pembiakan dan cara

memformulasinya. Walaupun bahan dasar pembuatan biosida sama yaitu *Bacillus thuringiensis* namun pengaruhnya terhadap serangga dapat berbeda. Hal ini disebabkan adanya perbedaan dalam pembuatannya sedangkan banyaknya toksin yang dihasilkan tidak berbanding langsung dengan banyaknya kristal paraspora. Begitu juga dengan suatu pembuatan yang berhasil menumbuhkan banyaknya spora belum menjamin akan memproduksi banyaknya kristal paraspora yang menghasilkan toksin.

Konsentrasi larvasida bentuk tepung yang pernah digunakan yaitu sebanyak 250 g dalam 10 liter air atau 250 mg dalam 100 ml (konsentrasi 2,5 % b/v) yang diaplikasikan pada lahan satu hektar. Dari hasil orientasi diketahui bahwa konsentrasi tepung hasil fermentasi bakteri *Bacillus thuringiensis* sebanyak 1 % b/v mampu membunuh larva nyamuk *Aedes sp* 100 % sehingga digunakan sebagai pertimbangan dalam pemilihan konsentrasi untuk penelitian ini.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi 1 % b/v dapat menyebabkan kematian 100 % pada larva uji yang digunakan, konsentrasi 0,1 % menyebabkan kematian larva 70 %, konsentrasi 0,01 % menyebabkan kematian larva 40 % dan konsentrasi 0,001 % menyebabkan kematian larva 20 %. Pada kelompok kontrol tidak ada larva yang mati. Dari hasil perhitungan diperoleh nilai LC_{50} sebesar 0,0186 % b/v menurut cara probit. Jika dikonversikan ke satuan ppm maka 1 ppm setara dengan 10^{-6} sehingga harga $LC_{50} = 186$ ppm menurut metode probit.

Dari literatur yang ada, tes laboratorium menunjukkan *Bacillus thuringiensis* bentuk tepung efektif melawan larva *Aedes albopictus* dengan nilai LC_{50} 0,025-0,058 ppm. Dari penelitian Muh. Natsir Latief (1994) diperoleh nilai LC_{50} 177,8 ppm (metode Farmakope Indonesia) dan 135,5 ppm (metode probit). Perbedaan hasil penelitian ini dengan hasil tes laboratorium tersebut, sesuai dengan pendapat Prihatiningtyas (1989) yang telah dijelaskan di atas bahwa efektifitas *Bacillus thuringiensis* sebagai pengendali hayati dipengaruhi oleh berbagai faktor, walaupun bahan dasar pembuatan larvasida sama yaitu *Bacillus thuringiensis* namun pengaruhnya terhadap serangga dapat berbeda.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

VI.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil analisa data dan pembahasan yang dilakukan setelah penelitian, maka dapat disimpulkan :

1. Tepung hasil fermentasi bakteri *Bacillus thuringiensis* dapat memberikan efek larvasida terhadap larva nyamuk *Aedes sp*
2. Efek toksisitas larvasida ditunjukkan dengan nilai LC_{50} sebesar 0,0186 % b/v atau 186 ppm menurut cara probit.

VI.2 Saran

Sebaiknya dilakukan uji toksisitas tepung hasil fermentasi bakteri *Bacillus thuringiensis* terhadap serangga lain.

DAFTAR PUSTAKA

1. Munif, A., (1995), "**Pengaruh Destruxin dan Konidiospora *M. anisopliae* yang dikultur pada Berbagai Media terhadap Larva *Aedes aegypti***", Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan DepKes RI, Jakarta
2. Muchlastriningsih, E., dkk., (1992), "**Analisis Hasil Test Hemaglutinasi Penderita Demam Berdarah Dengue di Jakarta**", Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan DepKes RI, Jakarta
3. Hermaya, T., (1992), "**Ensiklopedi Kesehatan**", PT Cipta Adi Pustaka, Jakarta
4. Metcalf, R.L., (1993), "**Destructive and Useful Insects**", 5th edition, Mc Graw-Hill, Inc., USA
5. Sumbung, P.P., (1974), "**Demam Berdarah**", Majalah Kesehatan, Nomor 465, Departemen Kesehatan RI, Jakarta, hal. 5
6. Suwasono, H., (1997), "**Berbagai Cara Pemberantasan Larva *Aedes aegypti***", Stasiun Penelitian Vektor Penyakit, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan DepKes RI, Salatiga
7. Sardjono, (1992), "**Pemanfaatan Berbagai Jenis Mikroba Dalam Pemberantasan Larva Nyamuk**", Program Pascasarjana Unhas, Ujung Pandang
8. Blondine, dkk., (), "**Efikasi Larvasida Isolat *Bacillus thuringiensis* yang disimpan di Media NYSMA**", Stasiun penelitian vector Penyakit DepKes RI, Salatiga

9. Munif, A., (), " **Pengaruh *Bacillus thuringiensis* H-14 Formula Tepung Pada Berbagai Instar Larva *Aedes aegypti* di Laboratorium** ", Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan DepKes RI, Jakarta
10. Soedarto, Dr., (1992), " **Entomologi Kedokteran** ", Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, hal. 101-102
11. Tarumingkeng. R.C., (1992), " **Insektisida Sifat, Mekanisme Kerja dan Dampak Penggunaan** ", Penerbit PT Ukrida, Jakarta
12. Sastroutomo, S., (1992), " **Pestisida Dasar-Dasar dan Dampak Penggunaannya** ", Penerbit PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta, hal. 49-50, 148, 150
13. Salle, A.J., (1961), " **Fundamental Principle of Bacteriology** ", 5th Edition, Mc Graw Hill, New York, hal. 44
14. Martono dan Scebari, (1987), " **Entomologi Medik** ", Jilid III, DepKes RI, Dinas Kesehatan Prop. Dati I Jawa Timur, Surabaya, hal. 105, 108
15. Sila, M., (1984), " **Ilmu Penyakit Serangga** ", Fakultas Pertanian Universitas Hasanuddin, Ujung Pandang, hal. 45-47
16. Dharmawan, S., (1993), " **Metode Identifikasi spesies Kembar Nyamuk *Anopheles*** ", Sebelas Maret University Press
17. Sudarmo, s., (1991), " **Pestisida** ", Penerbit Kanisius, Yogyakarta, 12, 19, 34
18. Weiser, Jaroslav, (1991), " **Biological Control of Vectors** ", John Wiley & Sons, England

19. Huffaker, C.B., (1989), " **Teori dan Praktek Pengendalian Biologis** ", Penerjemah : Soprapto Mangoendihardjo, UI-Press, Jakarta, hal. 216-218
20. Mursyidi, A., (1985), " **Statistika Farmasi dan Biologi** ", Galia Indonesia, Jakarta, hal. 101-102
21. Entwistle, P.F., et all, (1993), " ***Bacillus thuringiensis*, an Enviromental Biopesticide : Theory and Practice** ", John Wiley & Sons Ltd, England, Hal.
22. Petrocelli, Rand, (1985), " **Fundamental of Aquatic Toxicology** ", Hemisphere Publishing Corporation, USA

Tabel 1. Data Pengamatan Jumlah Kematian Jentik Uji Setelah Pemberian Tepung Hasil Fermentasi Bakteri *Bacillus thuringiensis* dengan Replikasi 3 Kali

Konsentrasi pemberian	Jumlah kematian			Rata-rata
	1	2	3	
1 % b/v	10	10	10	10
0,1 % b/v	7	8	7	7
0,01 % b/v	4	5	4	4
0,001 % b/v	2	2	3	2
kontrol 0 %	0	0	0	0

Tabel 2. Data Pengamatan Jumlah Kematian Rata-rata Jentik Uji Setelah Pemberian Tepung Hasil Fermentasi Bakteri *Bacillus thuringiensis* dengan Replikasi 3 Kali

Konsentrasi	Jumlah jentik uji	Jumlah jentik yang mati	Jumlah jentik yang hidup
1 % b/v	10	10	0
0,1 % b/v	10	7	3
0,01 % b/v	10	4	6
0,001 % b/v	10	2	8
kontrol 0 %	10	0	10

Tabel 3. Data Persentase Kematian Tiap Kelompok Jentik Uji Setelah Pemberian Tepung Hasil Fermentasi Bakteri *Bacillus thuringiensis* dengan Replikasi 3 kali

kelompok jentik uji	Konsentrasi pemberian	Mati	Hidup	% mati
I	1 % b/v	10	0	100
II	0,1 % b/v	7	3	70
III	0,01 % b/v	4	6	40
IV	0,001 % b/v	2	8	20
V	0 %	0	10	0

Tabel 4. Tabel Harga Probit Sesuai Persentase

Persentase	Probit									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	-	2,67	2,95	3,12	3,25	3,36	3,45	3,52	3,59	3,66
10	3,72	3,77	3,82	3,87	3,92	3,96	4,01	4,05	4,08	4,12
20	4,16	4,19	4,23	4,26	4,29	4,33	4,36	4,39	4,42	4,45
30	4,48	4,5	4,53	4,56	4,59	4,61	4,64	4,67	4,69	4,72
40	4,75	4,77	4,8	4,82	4,85	4,87	4,9	4,92	4,95	4,97
50	5	5,03	5,05	5,08	5,1	5,13	5,15	5,18	5,2	5,23
60	5,25	5,28	5,31	5,33	5,36	5,39	5,41	5,44	5,47	5,5
70	5,52	5,55	5,58	5,61	5,64	5,67	5,71	5,74	5,77	5,81
80	5,84	5,88	5,92	5,95	5,99	6,04	6,08	6,13	6,18	6,23
90	6,28	6,34	6,41	6,48	6,55	6,64	6,75	6,88	7,05	7,33
99	0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9
	7,33	7,37	7,41	7,46	7,51	7,58	7,65	7,75	7,88	8,09

Lampiran 1. Perhitungan LC_{50} Tepung Hasil Fermentasi Bakteri *Bacillus thuringiensis* Menurut Metode Probit

X Log konsentrasi	X^2	Y Probit	XY
-1	1	5,52	-5,52
-2	4	4,75	-9,5
-3	9	4,16	-12,48
EX = -6	EX ² = 14	EY = 14,43	EXY = -27,5

Persamaan garis regresi : $y = a + bx$

$$\begin{aligned}
 a &= \frac{EX^2 \times EY - EX \times EXY}{n EX^2 - (EX)^2} \\
 &= \frac{14 \times 14,43 - (-6) \times (-27,5)}{3 \times 14 - (-6)^2} \\
 &= 6,17
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 b &= \frac{n EXY - EX \times EY}{n EX^2 - (EX)^2} \\
 &= \frac{3(-27,5) - (-6) \times 14,43}{3 \times 14 - (-6)^2} \\
 &= 0,676
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Nilai } a &= 6,17 \\ b &= 0,676 \end{aligned}$$

Untuk mendapatkan garis regresinya, maka nilai a dan b disubstitusikan pada persamaan garis regresinya,

$$y = a + bx$$

Keterangan :

x = logaritma konsentrasi larvasida tepung

y = respon efek satuan probit

a = panjang sumbu tegak antara asal dan titik potong regresi sumbu tegak

b = slope

r = regresi

maka :

$$y = a + bx$$

$$y = 6,17 + 0,676 x$$

Jika y = 5 (probit), maka :

$$5 = 6,17 + 0,676 x$$

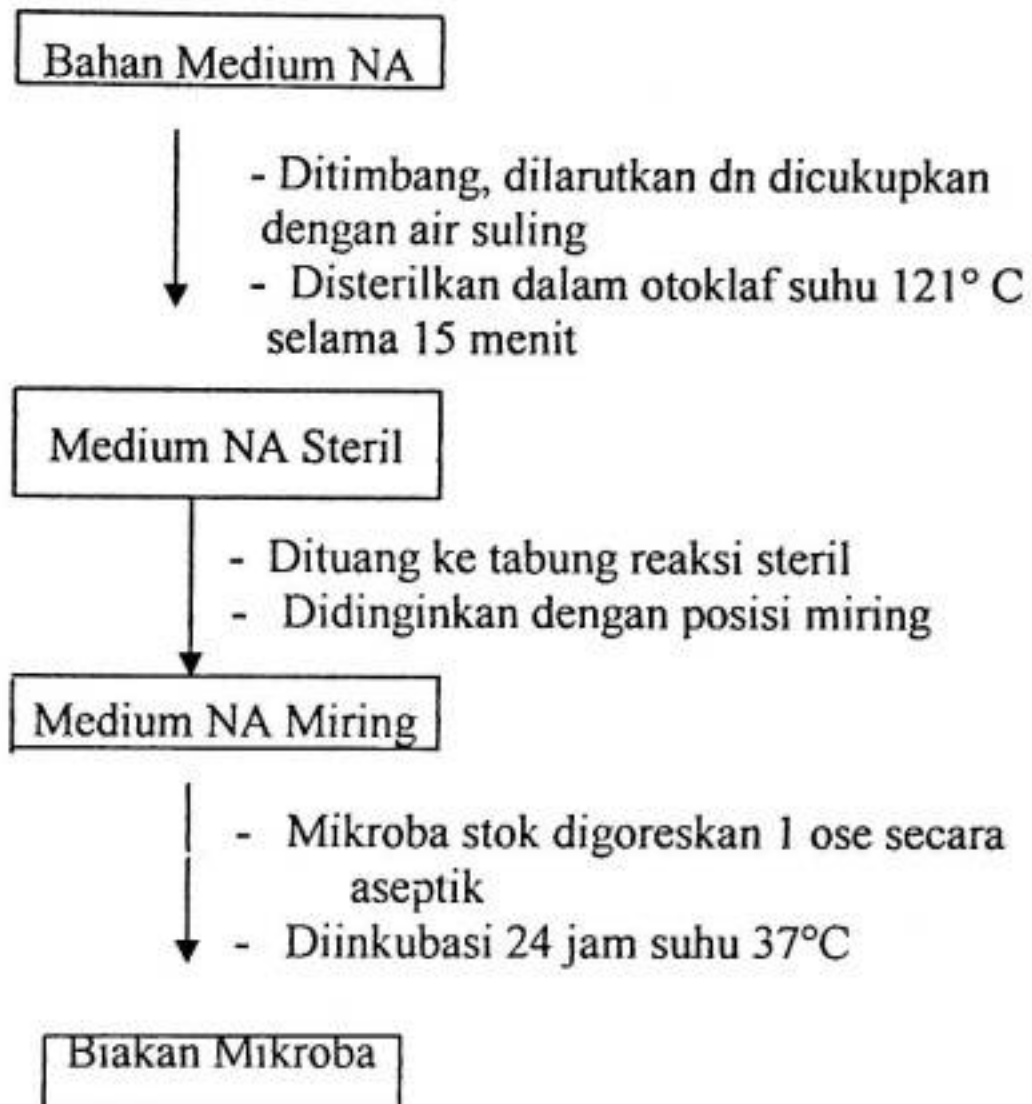
$$x = -1,731$$

$$\text{Antilog} = 0,0186 \% b/v$$

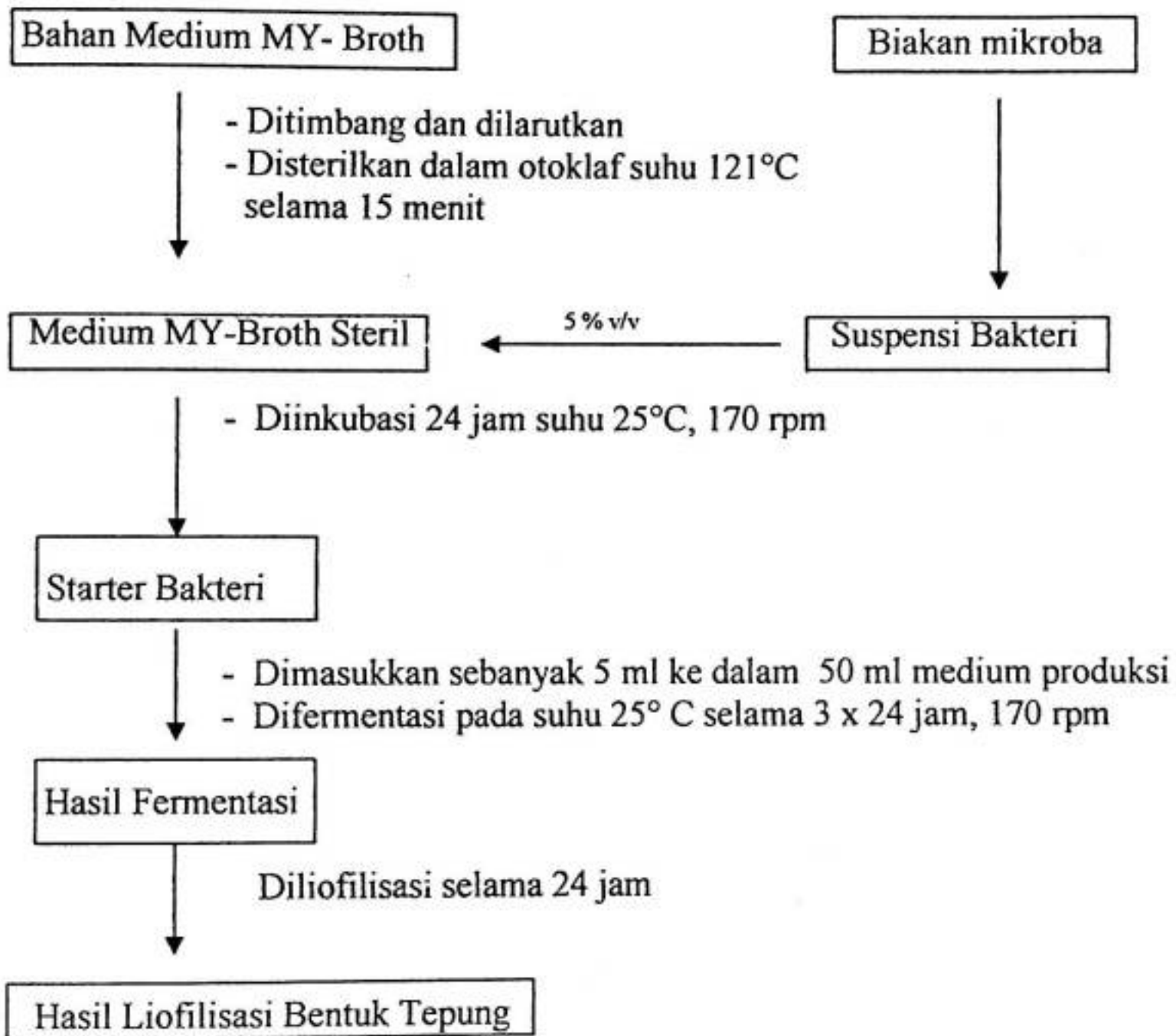
$$= 0,0186 \times 10^4 \text{ ppm}$$

$$\text{LC}_{50} = 186 \text{ ppm atau } 186 \text{ bpj}$$

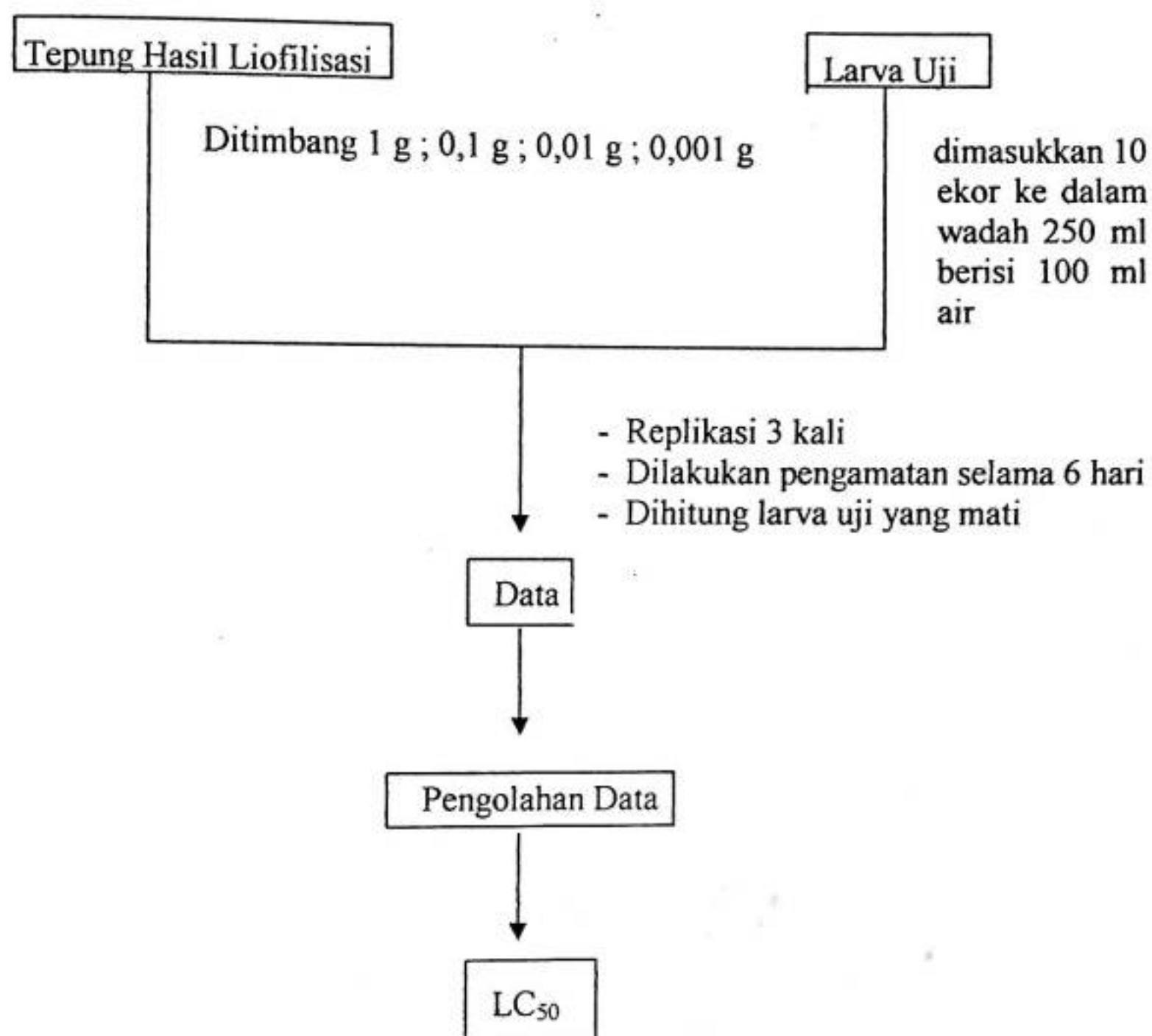
Lampiran 2. Skema Kerja Pembuatan Medium NA dan Peremajaan Biakan Mikroba



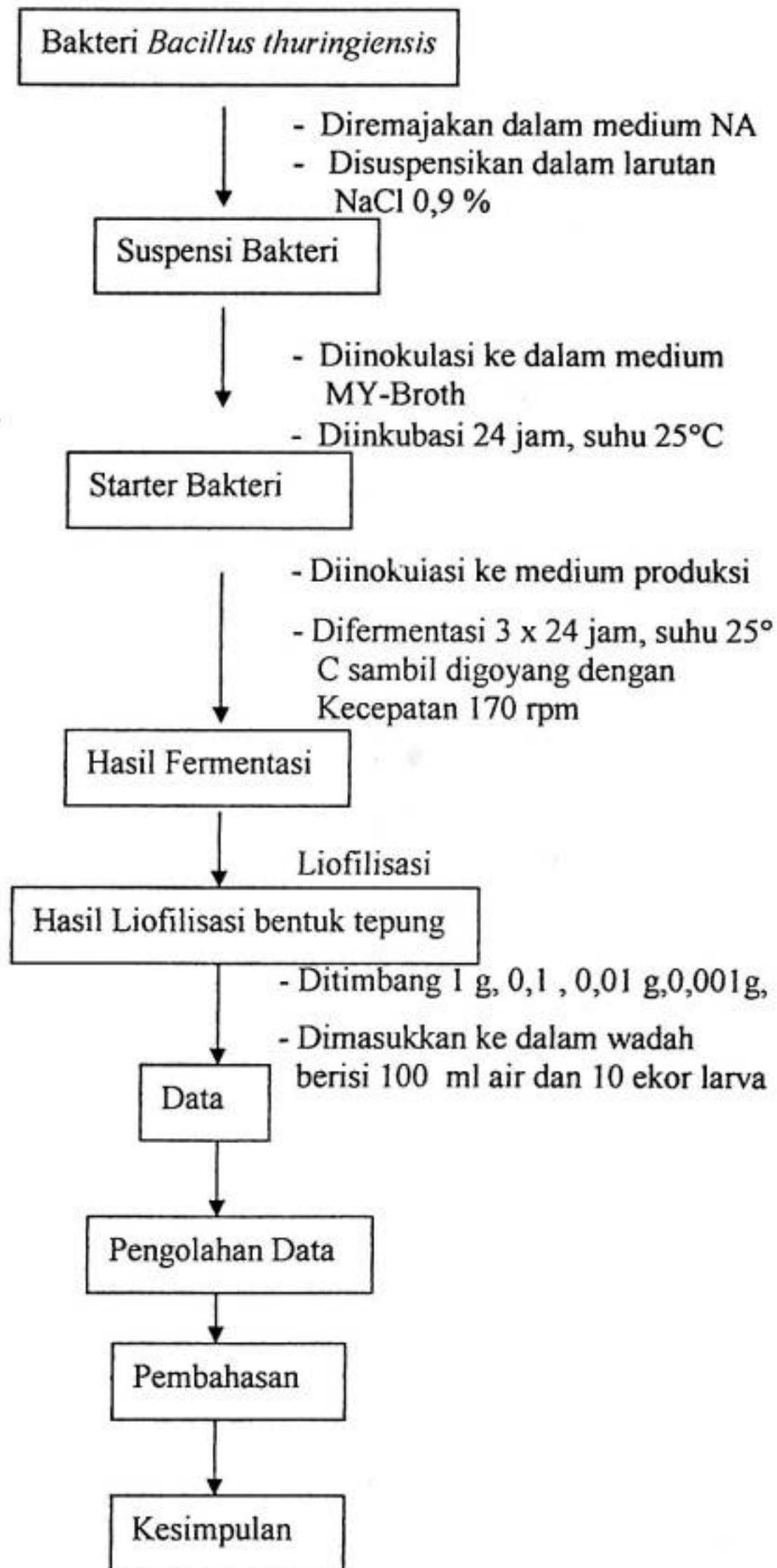
Lampiran 3. Skema Kerja Pembuatan Medium Inokulum dan Produksi Larvasida

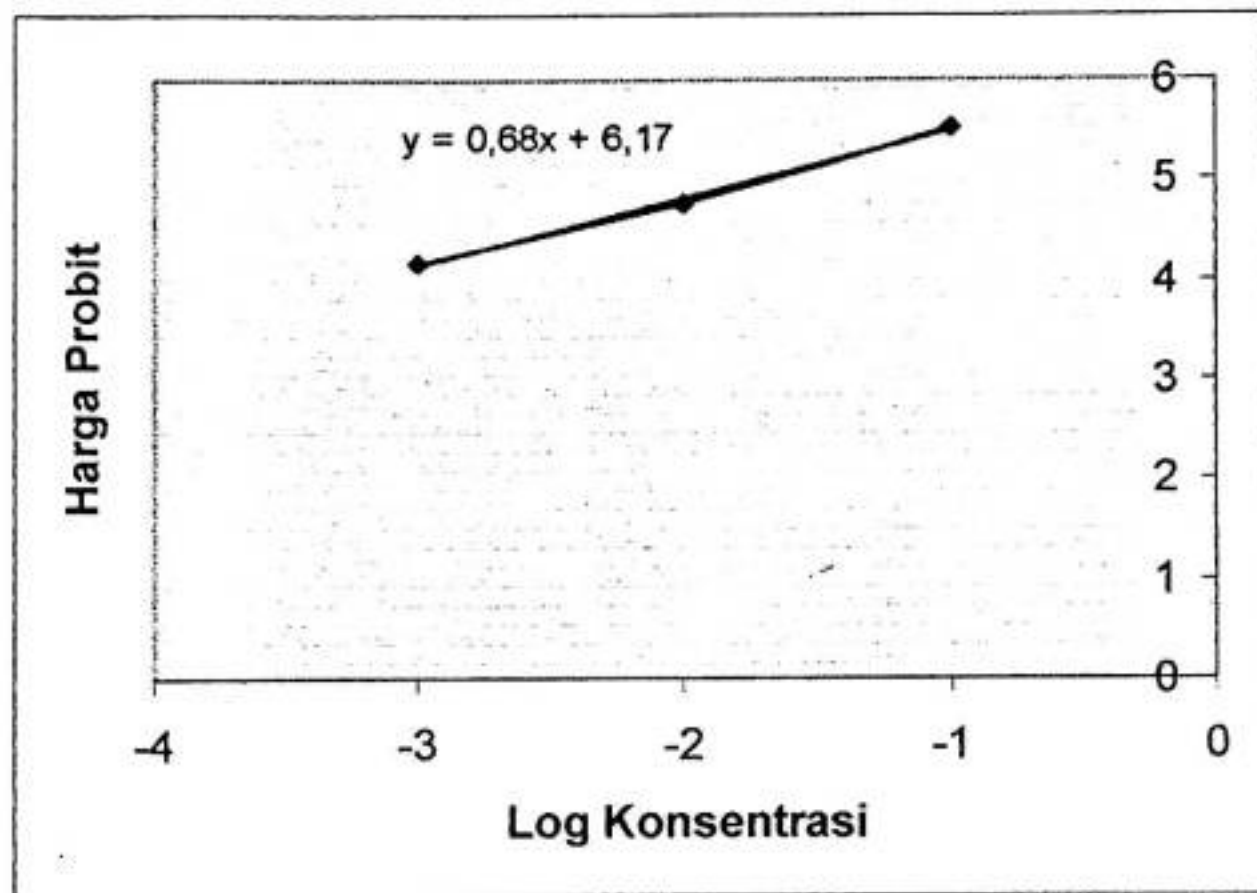


Lampiran 4. Skema Kerja Pengujian Aktivitas Larvasida

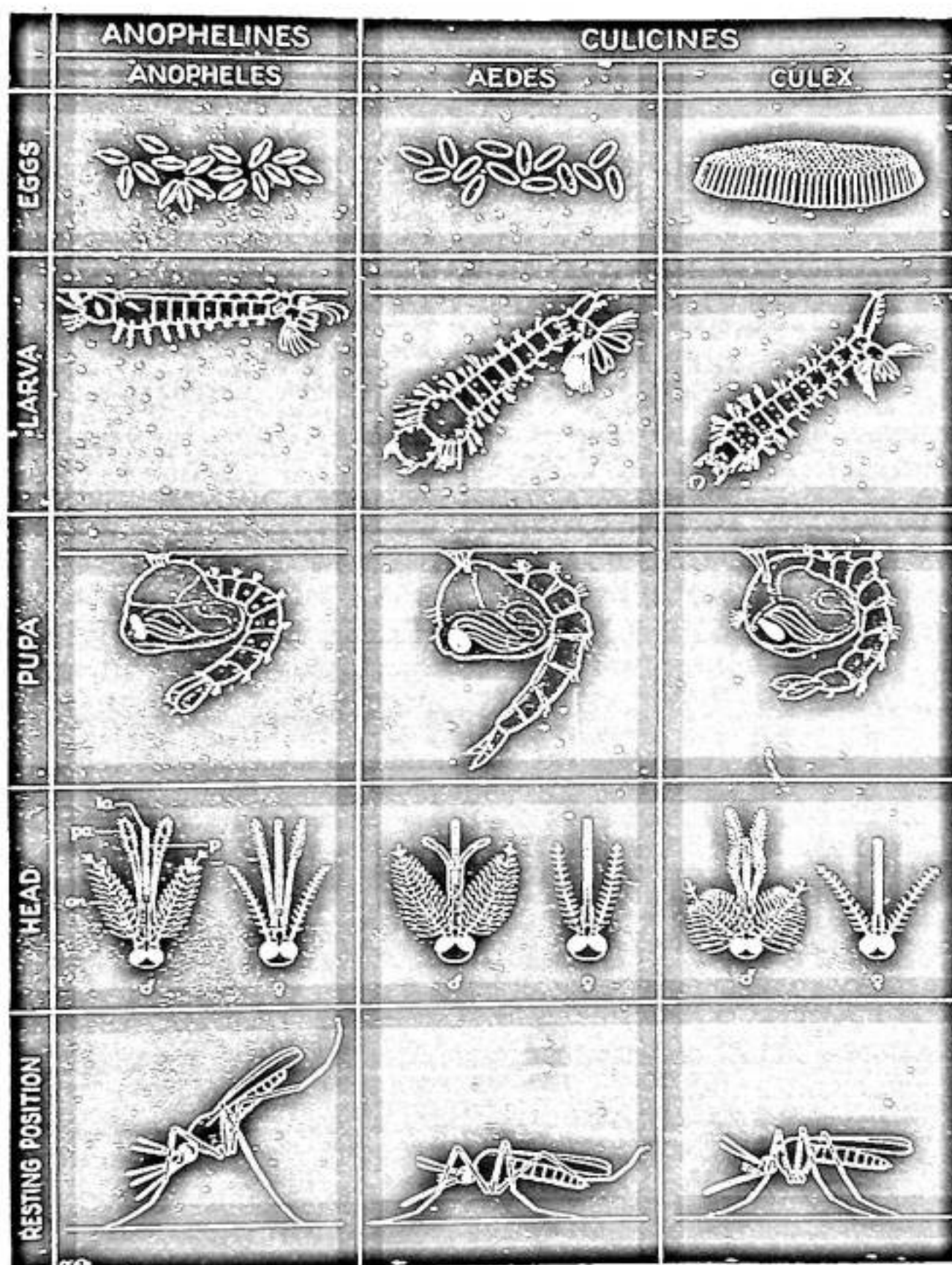


Lampiran 5. Skema Kerja Penentuan LC₅₀ Tepung Hasil Fermentasi Bakteri *Bacillus thuringiensis* Terhadap Larva Nyamuk *Aedes sp*

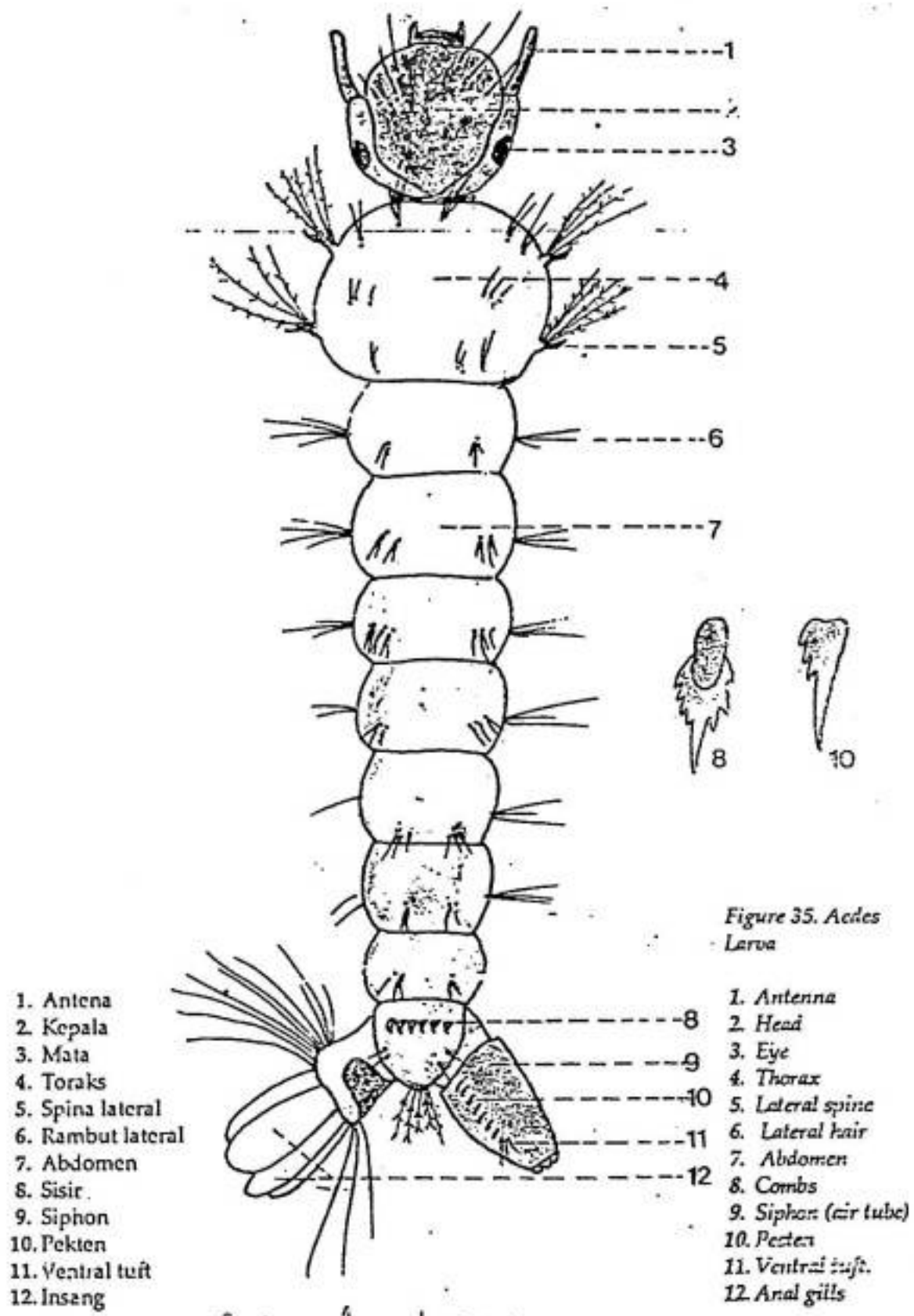




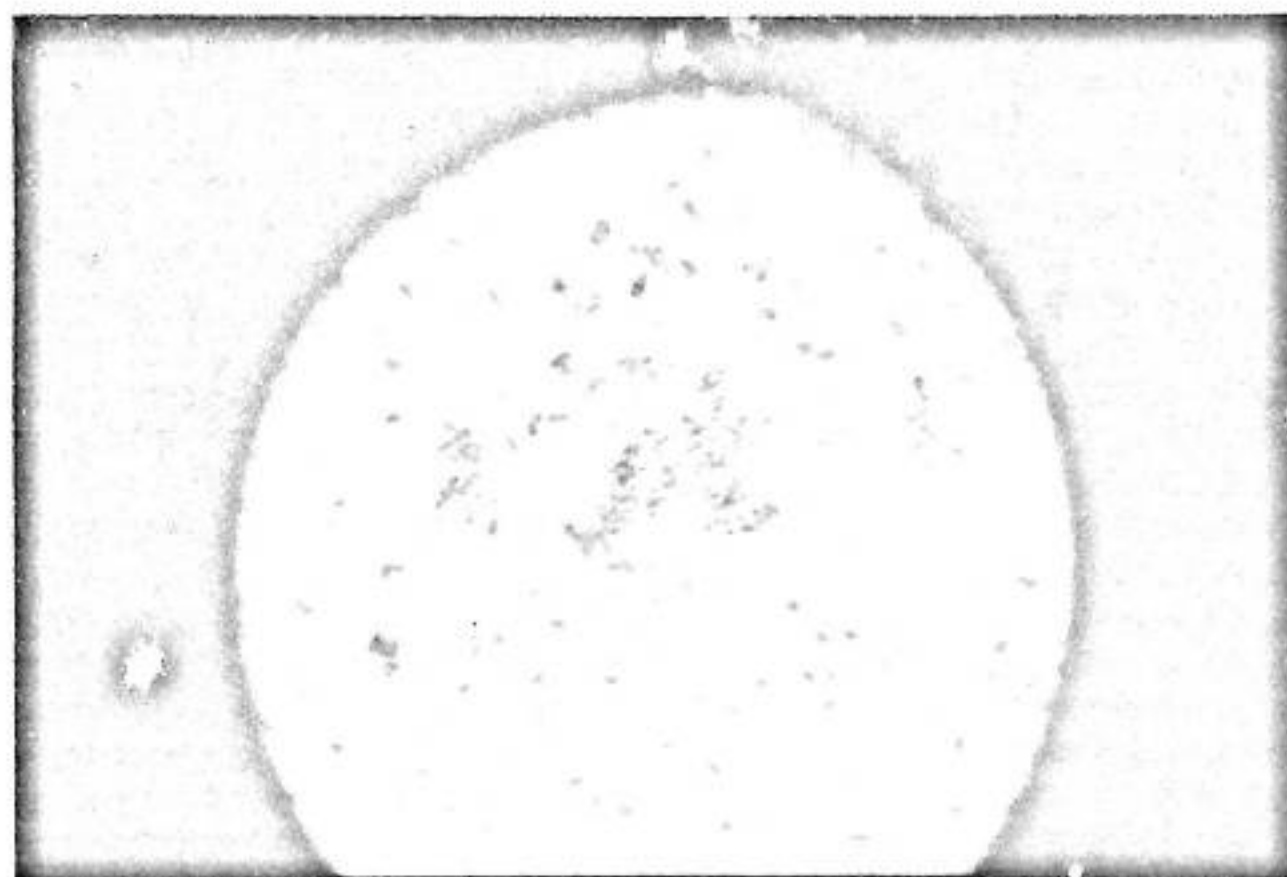
Gambar 1. Grafik Hubungan Log Konsentrasi dengan Harga Probit



Gambar 2. Perbedaan Nyamuk *Aedes sp* dengan Nyamuk *Anopheles* dan *Culex*



Gambar 3. Morfologi Larva Nyamuk *Aedes sp* dan Bagian-bagiannya



Gambar 4 Pengamatan bentuk bakteri *Bacillus thuringiensis* secara mikroskopik