#### I. TINJAUAN PUSTAKA

## A. Bacillus thuringiensis (Bt)

Bacillus thuringiensis (Bt) adalah bakteri Gram positif yang berbentuk batang, aerobik dan membentuk spora. Banyak strain dari bakteri ini yang menghasilkan protein yang beracun bagi serangga. Bakteri tersebut mempunyai serangga inang yang spesifik, tidak berbahaya bagi musuh alami dan organisme bukan sasaran, serta dapat ditingkatkan patogenisitasnya dengan teknik rekayasa genetik (Khetan, 2001). Bacillus thuringiensis merupakan famili bakteri yang memproduksi kristal protein di inclusion body-nya pada saat ia bersporulasi (James, 2000).



Gambar 1. *Bacillus thuringiensis* (Bt) perbesaran 100 x 10 Keterangan: Yang dilingkari dengan warna adalah spora Bt (Sumber: Herlambang, 2007)

### B. Taksonomi dan Deskripsi Bacillus thuringiensis (Bt)

Menurut Holt dkk (1994), kedudukan taksonomi *Bacillus thuringiensis* adalah sebagai berikut:

Kerajaan : Prokariota
Filum : Bakteria
Kelas : Bacilli
Bangsa : Bacillales
Suku : Bacillaceae

Marga : Bacillus

Jenis : Bacillus thuringiensis Linn

Bacillus thuringiensis merupakan bakteri Gram positif dengan bentuk batang, membentuk spora dengan panjang 3-5 μm dan lebar 1-1,2 μm, bergerak aktif (motil) dengan *flagella peritrich* (di seluruh dinding sel), bersifat fakultatif aerob dan bisa didapatkan di seluruh benua dan kepulauan dari ketinggian 0 sampai 2000 meter di atas permukaan laut dan zona tropis hingga artik. Bakteri ini bisa didapatkan di habitat alam seperti pada tanah, pepohonan, debu penyimpanan biji-bijian serealia, pakan ternak, dan serangga yang mati. Termasuk bakteri mesofil dengan kisaran suhu pertumbuhan 15-45°C, dengan suhu optimum antara 26-37°C, dan kisaran pH pertumbuhan antara 5,5 sampai 8,5 dengan pH optimum antara 6,5 sampai 7,5. Spora berbentuk oval berwarna hijau kebiruan, berukuran 1,0-1,3 μm dengan posisi terminal, sedangkan protein kristal berukuran 0,6 sampai 2,0 μm bergantung dari tipenya masing-masing (Zeigler, 1999).

Secara alami *B. thuringiensis* adalah bakteri entemopatogen dan sampai saat ini telah diidentifikasi sebanyak 70 subspesies atau varietas yang berbeda, yang di bedakan oleh serologi dari antigen *flagella*-nya, dan

menghasilkan lebih dari 300 protein Cry dari 1000 galur dan hanya beberapa galur yang telah di manfaatkan. Protein Cry merupakan bentuk protoksin yang disintesis oleh *Bacillus thuringiensis* bersamaan dengan pembentukan spora yang berada di dalam sel sampai sel mengalami lisis sesudah sporulasi sempurna. Spora pada bakteri tersebut merupakan suatu usaha perlindungan diri dari pengaruh lingkungan luar yang buruk, hal ini terjadi karena dinding bakteri yang bersifat impermeabel (Dini, 2005).

Protein Cry yang dihasilkan merupakan bagian dari 25 % berat kering bakteri yang terdiri dari suatu molekul glikoprotein dengan massa molekular 30 sampai 240 kDa, mengandung 3,9 % glukosa dan 1,8 % manosa. Protein Cry tidak larut dalam air ataupun pelarut organik, tetapi larut dalam larutan alkali dan terdenaturasi oleh panas, asam lambung dan enzim protease lambung sehingga terlarut dalam air dan membentuk toksin aktif yang akan tetap aktif meskipun dipanaskan hingga suhu 80°C selama 20 menit (Dini, 2005).

#### C. Sejarah dan Status Bacillus thuringiensis (Bt)

Bacillus Thuringiensis telah dikenal sebagai biokontrol agen sejak tahun 50-an. Bakteri ini tersebar di berbagai tempat pada hampir semua penjuru dunia. Pertama kali dijumpai di Jepang pada tahun 1901, yang membunuh ulat sutera di tempat pemeliharaan. Sepuluh tahun kemudian, di Jerman ditemukan strain baru dari Bacillus thuringiensis pada larva yang menyerang biji-bijian (serealia) di gudang penyimpanan. Karena strain

berikutnya ditemukan di Propinsi Thuringen, maka bakteri ini di sebut *Bacillus thuringiensis*, yaitu nama yang diberikan pada famili bakteri yang memproduksi kristal protein yang bersifat insektisidal. Semula bakteri ini hanya diketahui menyerang larva dari serangga kelas Lepidoptera sampai kemudian ditemukan bahwa bakteri ini juga menyerang Diptera dan Koleoptera (Dent, 1993).

## D. Toksisitas Bacillus thuringiensis Pada Larva Insekta

Bacillus thuringiensis merupakan bakteri yang paling banyak digunakan untuk produksi bioinsektisida dan paling penting secara ekonomi, sehingga bioinsektisida komersial Bt digunakan secara luas untuk mengendalikan larva hama serangga (Feitelson dkk, 1992). Bt yang dikomersialkan dalam bentuk spora membentuk inklusi bodi. Inklusi bodi ini mengandung kristal protein yang dikeluarkan pada saat bakteri lisis pada fase stasioner. Bt memiliki kristal protein yang mengandung gen tosik yang disebut dengan gen Cry.

Berdasarkan hasil penelitian Rusmana dan Hadioetomo (1994), bentuk kristal protein ada empat macam yakni bipiramida, oval, tidak beraturan (amorf) dan bulat. Kristal protein memiliki daya bunuh untuk ordo Lepidoptera yaitu berbentuk bipiramida yang jumlahnya hanya satu tiap sel, sedangkan yang berbentuk kubus, oval dan amorf umumnya toksik terhadap serangga ordo Diptera dan jumlahnya dapat lebih dari satu tiap sel. Kristal

yang mempunyai daya bunuh terhadap serangga ordo Coleoptera berbentuk empat persegi panjang dan datar atau pipih (Khaeruni dkk, 2012).

Kristal protein yang bersifat insektisida ini sebenarnya hanya protoksin yang jika larut dalam usus serangga akan berubah menjadi polipeptida yang lebih pendek sehingga bersifat toksik. Toksin yang telah aktif berinteraksi dengan sel-sel epitelium di usus tengah serangga sehingga menyebabkan terbentuknya pori-pori di sel membran saluran pencernaan serangga (Bahagiawati, 2002). Hal ini akan mengganggu keseimbangan osmotik sel di dalam usus serangga sehingga ion-ion dan air dapat masuk ke dalam sel dan menyebabkan sel mengembang dan mengalami lisis (hancur). Larva akan berhenti makan dan akhirnya mati (Hofte dan Whiteley, 1989).

## E. Cara Kerja Kristal Protein Bacillus thuringiensis (Bt)

Bacillus thuringiensis adalah bakteri yang menghasilkan kristal protein yang bersifat membunuh serangga (insektisida) sewaktu mengalami proses sporulasinya. Kristal protein yang bersifat insektisidal ini sering disebut dengan endotoksin. Kristal ini sebenarnya hanya merupakan protoksin yang jika larut dalam usus serangga akan berubah menjadi polipeptida yang lebih pendek (27-149 kd) serta mempunyai sifat insektisidal (Hofte dan Whiteley, 1989).

Pada umumnya kristal Bt di alam bersifat protoksin, karena adanya aktivitas proteolis (enzim protease memecah struktur kristal protein) dalam sistem pencernaan serangga dapat mengubah Bt protoksin menjadi

polipeptida yang lebih pendek dan bersifat toksin. Toksin yang telah aktif berinteraksi dengan sel-sel epithelium di *midgut* serangga. Bukti-bukti telah menunjukkan bahwa toksin Bt ini menyebabkan terbentuknya pori-pori (lubang yang sangat kecil) di sel membran di saluran pencernaan dan mengganggu keseimbangan osmotik dari sel-sel tersebut. Karena keseimbangan osmotik terganggu, sel menjadi bengkak dan pecah dan menyebabkan matinya serangga (Hofte dan Whiteley, 1989).

## F. Cacing Darah (Chironomus sp)

Cacing darah (*Chironomus* sp), terdapat di lingkungan perairan danau atau sungai berarus tenang dan kaya bahan organik. Cacing darah dapat hidup pada kondisi oksigen 1-2 ppm. Makanannya berupa detritus dan bakteri (Nasution, 2000). Cacing darah merupakan larva dari nyamuk *Chironomus*. Larva berukuran 1-3cm ini merupakan salah satu pakan alami bergizi tinggi untuk benih ikan. Cacing darah adalah larva serangga golongan *Chironomus*. Oleh karena itu, meskipun disebut sebagai cacing, binatang ini sama sekali bukan golongan cacing tetapi serangga. Nyamuk *Chironomus* tidak menggigit dan kerap dijumpai di perairan bebas dengan dasar berlumpur atau berpasir sangat halus yang kaya akan bahan organik. Fase makan dari serangga ini terdapat pada fase larvanya, sedangkan bentuk dewasanya, sebagai nyamuk yang tidak menggigit, hanya berperan untuk kawin kemudian bertelur dan mati (Sutrisno, 2011).

### G. Klasifikasi dan Deskripsi Cacing Darah (Chironomus sp)

Menurut Sutrisno (2011), cacing darah yang dikenal juga *bloodworm* memiliki klasifikasi:

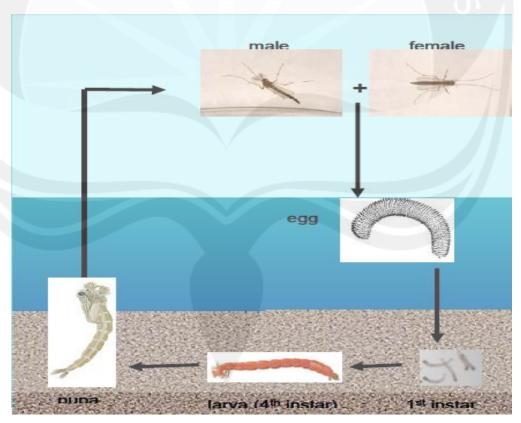
Kerajaan : Animalia
Filum : Arthropoda
Kelas : Insecta
Bangsa : Diptera

Suku : Chironomidae Marga : Chironomus Jenis : Chironomus sp.

Telur *Chironomous* sp terdiri dari kelompok yang berlendir dan transparan, berisi tersusun melingkar seperti spiral di permukaan air atau menempel pada substrat atau tumbuhan air. Sekelompok telur biasanya berisi 350-500 butir telur. Telur *Chironomous* sp yang sangat dipengaruhi oleh temperatur dan oksigen terlarut ini biasanya menetas pada umur antara 3-6 hari. Setelah menetas larva akan berenang ke dalam air dan membuat berumbung untuk tempat tinggalnya (Garno, 2000).

Larva *Chironomous* sp mempunyai bentuk tubuh yang memanjang, silindris, dan terdiri dari kepala serta 12 segmen yang meliputi 3 segmen sebagai *thorax* dan 9 segmen *abdomen*. Di dalam berumbung larva *Chironomous* sp melakukan gerak yang *undulated* (bergelombang seperti ombak) sehingga air selalu mengalir kedalam berumbung dan keluar melalui ujung lainnya yang terbuka. Dengan cara ini larva tidak akan kekurangan oksigen dan karenanya larva *Chironomus* sp dapat tinggal dan banyak ditemukan dalam perairan yang mengandung oksigen terlarut sedikit (Garno, 2000).

Larva *Chironomous* sp memakan alga dan tumbuh-tumbuhan yang membusuk, serta detritus yang ada. Didalam berumbung, setelah 24 hari larva berubah menjadi pupa dengan panjang 10-12 cm yang nampak akan mempunyai sayap dan kaki, dan sehari berikutnya menjadi imago. Larva *Chironomous* sp banyak ditemukan pada badan air tawar dan beberapa air laut serta payau yang tidak banyak bergerak seperti kolam, sawah paya dan genangan air, dan hidup didasar perairan yang berlumpur, berpasir atau berlendir. Larva *Chironomous* sp tahan terhadap kadar oksigen 1-2 ppm, variasi pH 9, dan tahan hidup pada perairan tercemar bahan organik (Garno, 2000). Dibawah ini adalah gambar daur hidup larva *Chironomus* sp



Gambar 2. Daur Hidup Larva *Chironomus* sp (Sumber: Weltje dan Bruns, 2009)

#### H. Abate

Abate (*temephos*) adalah larvasida yang paling banyak digunakan untuk membunuh larva *Aedes aegypti* (Ridha dan Nisa, 2011). Abate (*temephos*) yang biasa digunakan berbentuk butiran pasir (*sand granules*) dan ditaburkan di tempat yang biasa digunakan untuk menampung air. Dosis yang biasa digunakan adalah 1 gram untuk 10 liter air. Bahan kimia ini mempunyai kemampuan untuk membunuh larva selama 3 bulan dan tidak berbahaya (Nugroho, 2013). Abate (*temephos*) murni berbentuk kristal putih dengan titik lebur 30-35°C, dan mudah terdegradasi apabila terkena sinar matahari sebab bersifat mengabsorbsi sinar ultraviolet (Suwasono, 1991 dalam Nugroho, 2013).

Abate (*temephos*) mempunyai beberapa kelebihan antara lain: tidak berbahaya bagi manusia, burung, ikan dan binatang peliharaan lainnya, telah mendapatkan persetujuan dari WHO untuk digunakan pada air minum, dan abate juga tidak menyebabkan perubahan rasa, warna dan bau pada air yang diberi perlakuan. Namun dalam keadaan wabah yang memerlukan pemberantasan secara cepat, maka larvasida ini tidak bisa diharapkan sebagai pembunuh yang hebat (efektif) untuk bisa meurunkan kepadatan populasi secara cepat (Nugroho, 2013).

## I. Cara Kerja Abate

Abate (*temephos*) merupakan salah satu pestisida golongan senyawa phosphat organik. Pestisida yang termasuk dalam golongan ini dapat masuk

melalui kulit, terhirup lewat pernapasan dan termakan lewat mulut (Suwasono, 1991 dalam Nugroho, 2013). Golongan pestisida ini mempunyai cara kerja menghambat enzim *cholineterase*, baik pada vertebrata maupun invertebrata, sehingga menimbulkan gangguan pada aktivitas syaraf karena tertimbunnya *acetylcholine* pada ujung syaraf. Fungsi dari enzim *cholineterase* adalah menghidrolisis *acetycholine* menjadi cholin dan asam cuka, sehingga bila enzim tersebut dihambat maka hidrolisis *acetycholine* tidak terjadi sehingga otot akan tetap berkontraksi dalam waktu lama maka akan terjadi kekejangan (Suwasono, 1991 dalam Nugroho, 2013).

Pada ujung saraf dari sistem saraf serangga akan dihasilkan acetycholine apabila saraf tersebut mendapatkan stimulasi atau rangsangan. Acetycholine ini berfungsi sebagai mediator atau perantara, antara saraf dan otot daging sehingga memungkinkan impuls listrik yang merangsang otot daging untuk berkontraksi. Setelah periode kontraksi selesai, maka acetycholine akan dihancurkan oleh enzim acetycholineterase menjadi choline, laktat dan air (Suwasono, 1991 dalam Nugroho, 2013).

Bila *acetycholine* tidak segera dihancurkan maka otot akan tetap berkontraksi dalam waktu lama sehingga akan terjadi kekejangan atau konvulsi. Dengan menggunakan abate yang merupakan salah satu dari golongan pestisida organophosphat maka enzim *cholineterase* akan diikat atau dihancurkan sehingga terjadi kekejangan otot secara terus menerus, dan serangga akhirnya akan mati. Jadi seperti halnya senyawa organophosphat

lainnya abate juga bersifat anti *cholineterase* (Suwasono, 1991 dalam Nugroho, 2013).

# J. Hipotesis

- 1. Pemberian *Bacillus thuringiensis* dapat mempengaruhi tingkat mortalitas pada larva *Chironomus* sp
- 2. Ada perbedaan efektifitas penggunaan *Bacillus thuringiensis* dan abate dalam menanggulangi larva *Chironomus* sp