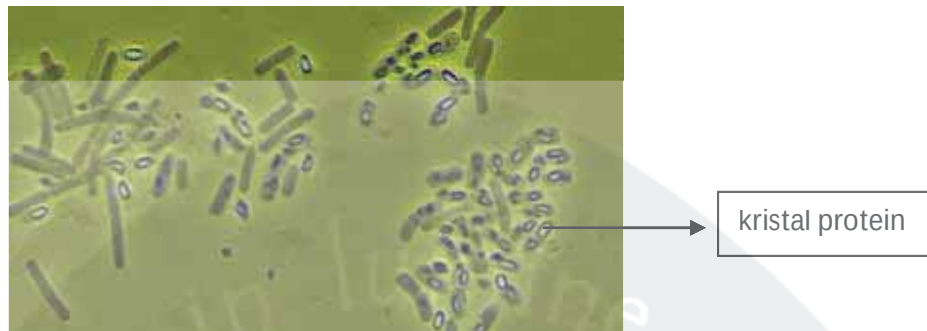


II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Deskripsi *Bacillus thuringiensis*

Bacillus thuringiensis pertama kali diisolasi oleh Ishiwata pada tahun 1901 dari ulat sutera dan kemudian diberi nama *Sotto disease bacillus*, namun adanya *inclusion body* pada bakteri berspora ini baru bisa dikemukakan oleh Berliner pada tahun 1909, ketika mempelajari penyebab sakit *Ephestia kunhniella* Zell. Berliner kemudian menamakan mikrobia tersebut dengan *B. thuringiensis*, meminjam nama propinsi Thuringia di Jerman (Ishawata, 1901).

Secara morfologi, *Bacillus thuringiensis* mirip dengan *B. cereus*. Antara keduanya dibedakan dengan adanya badan kristal protein (δ -endotoksin) ataupun badan kristal paraspora pada *B. thuringensis* (Helgason dkk., 2000). Kristal protein yang dibentuk selama sporulasi, terletak terpisah dari spora. Bentuk kristal protein pada *B. thuringiensis* inipun bermacam-macam yaitu kuboid, bipiramid dan pyramid (Tojo, 1986) dan ovoid atau amorphous (Mikolla dkk, 1982) tergantung dari strainnya. Morfologi sel *B. thuringiensis* dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Morfologi sel *B. thuringiensis*

Sumber: <http://ditjenbun.pertanian.go.id>

Keterangan: bentuk sel vegetatif, ukuran sel dengan panjang 3-5 μm dan lebar 1-1,2 μm . Ciri khas yang terdapat pada Bt adalah kemampuannya membentuk kristal bersamaan dengan pembentukan spora, yaitu pada waktu sel mengalami sporulasi

B. Daur Hidup *Bacillus thuringiensis*

Bacillus thuringiensis mempunyai dua fase pertumbuhan, yaitu fase germinasi (pertumbuhan vegetatif) dan fase sporulasi. Fase germinasi terjadi pada saat bakteri berada pada lingkungan yang kaya nutrisi. Pada fase ini, sel akan memperbanyak diri dengan cara membelah diri. Fase sporulasi terjadi apabila nutrisi yang ada di lingkungan habis atau adanya tekanan kondisi lingkungan terhadap pertumbuhan *Bacillus thuringiensis* (Khetan, 2001). Pada fase ini, *Bacillus thuringiensis* akan membentuk endospora yang resisten terhadap kondisi lingkungan yang buruk, seperti kekeringan dan suhu tinggi hingga 80°C (Dini, 2005). Spora akan mengalami fase germinasi lagi apabila berada pada lingkungan yang mendukung, seperti suhu yang optimal dalam perkembangan *Bacillus thuringiensis*, yaitu sekitar 26-37°C (Khetan, 2001).

Pada *batch culture*, pertumbuhan sel *Bacillus thuringiensis* dapat dibagi menjadi empat fase pertumbuhan yaitu (1) fase lag, (2) fase eksponensial, (3) fase stasioner, dan (4) fase kematian (Taborsky, 1992). Pertumbuhan yang intensif terjadi pada fase eksponensial, fase ini berlangsung antara 16-18 jam setelah inokulasi. Sel akan mulai membentuk endospora dan kristal toksin setelah melalui fase stasioner (Taborsky, 1992). Sporulasi akan berlangsung sempurna setelah 20-24 jam. Pada kultur 32-42 jam, endospora dan kristal toksin mulai dibebaskan melalui mekanisme lisis sel (Taborsky, 1992). Oleh karena itu apabila diproduksi secara fermentasi maka pemanenan dilakukan pada fase stasioner.

C. Toksin *Bacillus thuringiensis*

Kristal protein merupakan toksin utama penyebab kematian larva Lepidoptera yang rentan dan serangga lainnya, seperti ordo Diptera dan Coleoptera, karena dapat menimbulkan kerusakan pada sel epitelium dinding usus sehingga menyebabkan terjadinya paralisis sistem pencernaan serangga.

Selain kristal tersebut *Bacillus thuringiensis* juga menghasilkan 3 macam substansi lain yang bersifat sebagai racun terhadap serangga, yaitu: (a) α -eksotoksin yang merupakan suatu enzim yang dihasilkan oleh bakteri yang sedang berkembang berupa fosfolipase C atau lecitinase C (Johnson, 1978). Substansi ini berfungsi memecah fosfolipida esensial dalam jaringan tubuh

serangga. (b) β -eksotoksin (*fly-factor* atau *heatstable exotoxin*) yang merupakan sekresi sel bakteri pada medium sekitarnya yang bersifat larut dalam air, tahan panas, dan dapat menyebabkan kematian serangga karena menghambat sintesis RNA. (c) γ -eksotoksin merupakan toksin yang belum jelas diketahui identifikasinya, namun demikian diduga berfungsi memecah fosfolipid menjadi asam lemak (Johnson, 1978). *Bacillus thuringiensis* termasuk bakteri yang dapat membentuk spora sekaligus kristal protein (γ -endotoksin) yang bersifat racun. Kristal protein toksin cry tersebut merupakan glikoprotein yang larut dalam air dan tidak stabil dalam medium alkali. Bagi larva Lepidoptera yang memiliki pH usus alkali akan sangat rentan terhadap toksin tersebut (Vadmudi dkk., 1995).

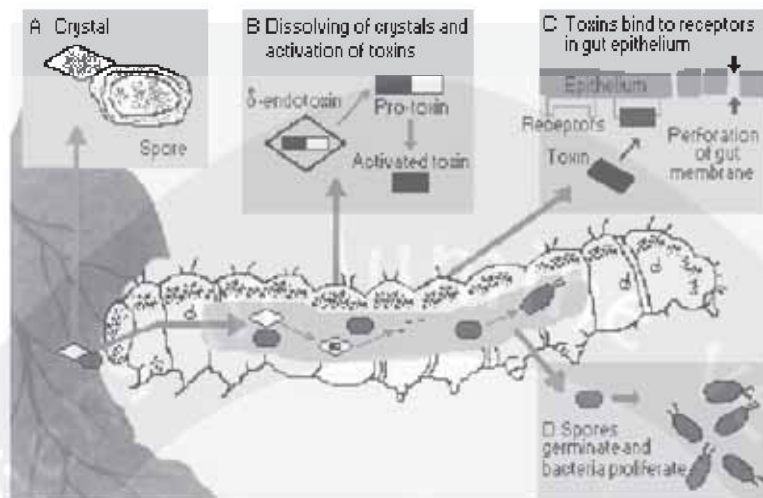
Di antara toksin yang dihasilkan oleh *Bacillus thuringiensis* tersebut, yang paling umum dan nyata efek toksisitasnya terhadap serangga pada umumnya adalah α -eksotoksin dan γ -eksotoksin (Aronson dkk., 1986). α -eksotoksin dalam tubuh serangga akan menghambat sintesis protein sehingga menyebabkan terganggunya proses *moulting*. Ketidaknormalan secara teratologis mengurangi fekunditas dan umur imago serta terjadinya kematian (Ignoffo & Gregory, 1972).

D. Mekanisme Kerja Kristal Protein

Kristal protein yang dihasilkan oleh *Bacillus thuringiensis* merupakan toksin yang sesungguhnya timbul setelah adanya proteolisis di dalam saluran pencernaan serangga (Gill dkk., 1992). Menurut Khaetan (2001), kristal protein

yang masuk dalam saluran pencernaan serangga yang rentan terhadap toksin, akan berubah menjadi aktif setelah melalui serangkaian proses. Pertama, kristal protein akan larut ketika masuk ke dalam cairan usus tengah serangga yang bersifat basa. Kemudian, dalam bentuk protoksin, kristal protein akan terurai oleh enzim protease didalam usus tengah serangga. Setelah itu, fragmen usus tengah yang beracun tersebut terikat pada reseptor khusus berupa enzim protease yang terdapat pada membran sel ephitelim usus tengah. Selanjutnya, ikatan reseptor fragmen usus tengah yang beracun akan menyebabkan kerusakan pada epithelium usus tengah, sehingga permeabilitas sel berubah dan mengganggu transfer ion Na^+ dan K^+ . Terakhir, sel epithelium usus tengah yang mengalami kebocoran akan mempermudah masuknya spora *Bacillus thuringiensis* dan bakteri lain yang ada di saluran pencernaan ke dalam rongga tubuh serangga.

Gejala awal dari infeksi *Bacillus thuringiensis* adalah berhubungan dengan perilaku makan dan metabolisme. Larva yang terinfeksi akan terlihat kehilangan nafsu makan, diare, paralisis saluran pencernaan dan regurgitasi (Khaetan, 2001). Selanjutnya menjadi lemah, tidak mengadakan respon terhadap iritasi, kejang-kejang dan gerakan menjadi tidak teratur (Pionar & Thomas, 1982). Mekanisme kerja kristal protein dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Mekanisme kerja Kristal protein

Sumber: <http://biogen.litbang.deptan.go.id>

Keterangan: Toksin aktif mengikat reseptor protein pada membran sel epitel usus serangga. Kemudian, toksin akan masuk ke sitoplasma sel yang menyebabkan kehilangan ATP sel dan serangga tersebut akan mati.

Penggunaan insektisida kimiawi baik dalam bidang kesehatan maupun pertanian secara terus menerus menimbulkan dampak negatif yaitu terjadinya resistensi vektor atau serangga hama (Barroga, 1980; Ahmad, 1998; Bahagiawati, 2000; Suharto, 2004), resistensi hama, ledakan hama sekunder dan pencemaran lingkungan karena akumulasi dalam tanaman sehingga berbahaya bagi manusia dan berbagai spesies hewan yang memakan tanaman tersebut (Untung, 2006; Ahmad & Hussain, 2002). Fenomena tersebut mengakibatkan penggunaan insektisida kimiawi menjadi semakin kurang efektif dan efisien sehingga petani terdorong untuk meningkatkan dosis dan frekuensi aplikasi. Dengan demikian, penggunaan insektisida kimiawi terus meningkat, lingkungan

hidup menjadi tercemar, sedangkan masalah hama tidak pernah dapat diselesaikan bahkan justru semakin meningkat (Blondine dkk, 1992).

E. Karakteristik Nyamuk *Culex* sp.

Nyamuk *Culex* bersifat merupakan serangga diurnal atau aktif pada pagi hingga siang hari. Penularan penyakit dilakukan oleh nyamuk betina karena hanya nyamuk betina yang mengisap darah. Hal itu dilakukannya untuk memperoleh asupan protein yang diperlukannya untuk memproduksi telur. Nyamuk jantan tidak membutuhkan darah, dan memperoleh energi dari nektar bunga ataupun tumbuhan (Mortimer, 1998).

Karakteristik telur *Culex* adalah berbentuk bulat pancung yang mula-mula berwarna putih kemudian berubah menjadi hitam. Telur diletakkan terpisah di permukaan air untuk memudahkan menyebar dan berkembang menjadi larva di dalam medium air. Medium air yang dipilih untuk tempat peneluran itu adalah air bersih yang tenang (Mortimer, 1998).

F. Daur Hidup Nyamuk *Culex* sp.

Nyamuk *Culex* meletakkan telur pada permukaan air bersih secara individual. Telur berbentuk elips berwarna hitam dan terpisah satu dengan yang lain. Telur menetas dalam 1 sampai 2 hari menjadi larva. Terdapat empat tahapan dalam perkembangan larva yang disebut instar. Perkembangan dari

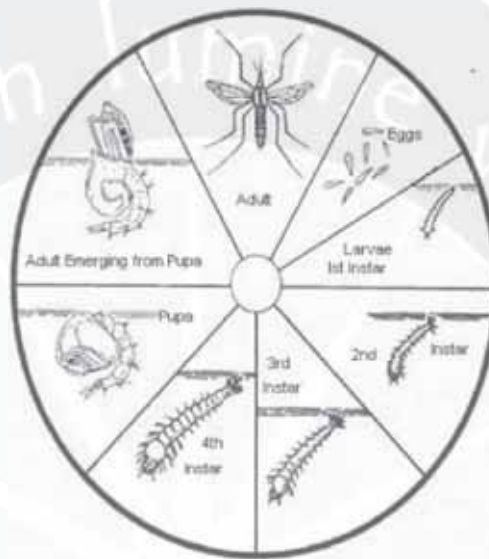
instar 1 ke instar 4 memerlukan waktu sekitar 5 hari. Setelah mencapai instar ke-4, larva berubah menjadi pupa dan larva memasuki masa dorman. Keempat instar itu dapat diselesaikan dalam waktu 4 hari sampai 2 minggu, tergantung keadaan lingkungan seperti suhu air, yaitu antara 20-25°C dan persediaan pakan berupa mikroorganisme kecil, seperti zooplanton dan fitoplanton. Pupa bertahan selama 2 hari sebelum akhirnya nyamuk dewasa keluar dari pupa. Perkembangan dari telur hingga nyamuk dewasa membutuhkan waktu 7 hingga 8 hari, namun dapat lebih lama jika kondisi lingkungan tidak mendukung (Soekiman dkk., 1986).

Menurut Soekiman, dkk. (1986), pada fase pertama, yaitu fase telur, nyamuk akan meletakkan telurnya pada daun yang lembab atau kolam kering. Nyamuk menggunakan reseptor yang ada di bawah perutnya untuk mencari tempat yang cocok untuk bertelur. Setelah tempat ditemukan, induk nyamuk mulai bertelur.

Pada fase kedua, larva nyamuk mulai keluar dari telurnya dalam waktu yang hampir sama. Kemudian, pada fase yang selanjutnya, yaitu fase ketiga. Pada fase ini, nyamuk akan berganti kulit dan sangat rentan terhadap kebocoran pupa. Agar tetap bertahan, sebelum pupa siap untuk perubahan kulit yang terakhir kalinya, dua saluran, seperti antena nyamuk muncul ke atas air. Saluran itu digunakan untuk alat pernapasan. Terakhir, yaitu fase keempat. Pada fase ini,

nyamuk berada di dalam kepompong pupa dan siap untuk terbang dengan semua organ lengkapnya (Soekiman, dkk., 1986).

Daur hidup nyamuk *Culex* dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Daur Hidup Nyamuk *Culex*

Sumber: <http://image.slidesharecdn.com/morfologidaurhidupperilakunyamuk-140711072415-phpapp01/95>

Keterangan: Nyamuk *Culex* meletakkan telur pada permukaan air bersih secara individual. Telur berbentuk elips berwarna hitam dan terpisah satu dengan yang lain. Terdapat empat tahapan dalam perkembangan larva yang disebut instar. Perkembangan dari instar 1 ke instar 4 memerlukan waktu sekitar 5 hari. Setelah mencapai instar ke-4, larva berubah menjadi pupa di mana larva memasuki masa dorman. Keempat instar itu dapat diselesaikan dalam waktu 4 hari sampai 2 minggu

Menurut Soekiman dkk. (1986), pupa nyamuk *Culex* membutuhkan lingkungan berair yang tenang dan bersih. Pupa adalah fase inaktif yang tidak membutuhkan makan, namun tetap membutuhkan oksigen untuk bernafas. Untuk keperluan pernafasannya pupa berada di permukaan air. Lama fase pupa

tergantung dengan suhu air berkisar antara 22-24°C dan spesies nyamuk yang lamanya dapat berkisar antara satu hari sampai satu minggu.

Imago *Culex* yang lebih awal keluar adalah jantan yang sudah siap melakukan kopulasi bila betinanya muncul belakangan. Imago *Ae. albopictus* biasanya melakukan kopulasi di dekat inang imago betina dengan harapan memudahkan mendapatkan cairan darah (Lutz, 2000). Imago betina membutuhkan cairan darah sebelum meletakkan sejumlah telurnya yang fertil. Cairan darah itu digunakan imago betina setiap akan meletakkan telurnya. Daur penghisapan darah dilakukan setiap akan meletakkan telur, sehingga pengisapan cairan darah itu dapat dilakukan berkali-kali selama hidupnya (Lutz, 2000).

G. Hipotesis Penelitian

1. Semua Kelurahan memiliki potensi untuk dijadikan sebagai lokasi pengambilan sampel bakteri *Bacillus thuringiensis*.
2. Konsentrasi optimal isolat *Bacillus thuringiensis* yang dapat mengendalikan larva nyamuk *Culex* sp. adalah 10^{-4} .