

## BAB I PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Demam Berdarah *Dengue* (DBD) merupakan salah satu masalah kesehatan dan penyakit yang memiliki jumlah kematian yang meningkat pada setiap tahunnya. Indonesia merupakan salah satu negara beriklim tropis dan curah hujan yang tinggi. Kondisi seperti itu mendukung untuk menjadi tempat perindukan nyamuk yang menjadi vektor penyakit DBD (Kristinah *et al.*, 2005). Virus *dengue* ditularkan melalui gigitan nyamuk. *Aedes aegypti* merupakan penyebab penyakit Demam Berdarah *Dengue* (DBD). Tidak semua nyamuk *Aedes aegypti* berperan sebagai vektor virus *dengue*, akan tetapi hanya nyamuk betina saja yang menghisap darah manusia untuk memenuhi kebutuhan protein bagi perkembangan telur nyamuk (Hastuti, 2008).

Menurut Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan, jumlah kasus Demam Berdarah *Dengue* (DBD) yang terjadi di Indonesia adalah 68.407 kasus. Provinsi dengan jumlah kasus tertinggi terjadi di 3 (tiga) provinsi di Pulau Jawa, masing-masing Jawa Barat dengan total kasus sebanyak 10.016 kasus, Jawa Timur sebesar 7.838 kasus dan Jawa Tengah 7.400 kasus (Kemenkes RI, 2017). Dari data tersebut diketahui bahwa penyakit DBD ini adalah masalah serius yang harus ditindaklanjuti. Karena penyakit DBD ini dapat menyerang semua kalangan usia dan dapat mengakibatkan kematian terutama pada anak-anak (Gubler dan Meltzer, 2014). Oleh karena itu, perlu dilakukan upaya agar jumlah penderita DBD tidak mengalami kenaikan setiap tahunnya.

Pengendalian nyamuk *Aedes aegypti* dilakukan salah satunya dengan menggunakan insektisida. Insektisida selama ini yang digunakan pada umumnya merupakan insektisida yang mengandung bahan-bahan kimia yang bersifat racun yang dapat mematikan serangga. Salah satu cara ini digunakan untuk membasmi nyamuk karena dianggap cepat dalam membunuh hanya dengan menyemprotkan

insektisida tersebut pada tempat-tempat perindukan nyamuk. Namun insektisida yang digunakan untuk membasmi nyamuk tersebut cenderung tidak ramah lingkungan karena tidak mudah terurai, dapat menyebabkan gangguan pernapasan jika terhirup, dan penggunaan insektisida kimia secara berlebihan dapat menyebabkan resistensi (kekebalan) vektor, serta mengancam kehidupan organisme lain yang bukan target (Milam, 2000). Oleh sebab itu, untuk menanggulangi dampak negatif penggunaan insektisida kimia, diperlukan upaya pengendalian penyebab penyakit DBD secara biologis tanpa menyebabkan pencemaran lingkungan. Cara untuk mengurangi penggunaan insektisida yaitu dengan penggunaan bioinsektisida.

Upaya yang dilakukan dengan penggunaan bioinsektisida merupakan cara alami untuk membasmi penyebab penyakit DBD yang lebih ramah lingkungan. Penggunaan bioinsektisida juga tidak menyebabkan gangguan pernapasan jika dihirup, mudah terurai, dan mampu membasmi target dengan spesifik tanpa mengancam kehidupan ekosistem yang ada disekitarnya. Bioinsektisida dapat berasal dari pemanfaatan zat-zat yang terkandung dalam suatu organisme, seperti bakteri. Bakteri yang telah dikenal memiliki potensi sebagai bioinsektisida antara lain *Bacillus* (Mitsutomi dkk., 1995), *Streptomyces* (Okazaki dkk., 1995), *Enterobacter* (Chernin dkk., 1995), dan *Serratia* (Khrisnan dkk., 1999).

Bakteri yang memiliki potensi sebagai bioinsektisida salah satunya adalah genus *Bacillus*. *Bacillus* merupakan bakteri Gram positif berbentuk batang yang dapat hidup dalam kondisi aerob obligat atau fakultatif. Bakteri yang tergolong dalam genus *Bacillus* mampu membentuk endospora yang dibentuk secara intraseluler sebagai respon terhadap kondisi lingkungan yang kurang menguntungkan sehingga mampu bertoleransi pada kondisi lingkungan yang berubah-ubah. Spora pada *Bacillus* tahan terhadap kekeringan, panas, asam, dan dingin karena dinding spora bersifat impermeable dan spora mengandung sedikit air (Waluyo, 2007).

Terdapat beberapa spesies *Bacillus* yang berpotensi sebagai entomopatogen pembunuh larva nyamuk yaitu *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus sphaericus*, dan *Bacillus cereus*. Bakteri ini mampu menghasilkan  $\delta$ -endotoksin yang patogen terhadap larva serangga. Dari beberapa spesies yang bersifat patogen, *Bacillus thuringiensis* merupakan spesies yang berpotensi tinggi menjadi agen hayati. *Bacillus thuringiensis* memiliki kemampuan menghasilkan kristal paraspora yang bersifat insektisidal. Pada awalnya *Bacillus thuringiensis* hanya dapat membunuh serangga dari golongan Lepidoptera namun kemudian diketahui bahwa bakteri ini juga mampu menyerang serangga dari golongan Diptera dan Koleoptera (Dent, 1993).

Menurut Hammed dkk. (1991) serangga yang peka terhadap bakteri tersebut adalah yang mempunyai saluran pencernaan yang bersifat alkali, menghasilkan mineral dan enzim yang dapat menghidrolisis kristal protoksin menjadi toksin. Kerusakan tubuh serangga terutama terjadi pada usus bagian tengah. Tahap awal infeksi terjadi ketika toksin menembus dinding perotrofik, mikrofilia kemudian memisahkan sel-sel kolumnar dan sel goblet, sehingga epitel usus nyamuk tersebut rusak dan seluruh jaringan usus menjadi rusak. Kemudian patogen tersebut memasuki *hemolimfe* di dalam *hemocoel*, ke sel tabung malphigi, syaraf, *trachea*, badan lemak dan integumen, akhirnya dapat membunuh inangnya. Untuk mengetahui toksin tersebut aman terhadap manusia maka perlu diuji patogenitasnya.

Uji patogenitas dilakukan dengan menggunakan media BAP (*Blood Agar Plate*) untuk mendeteksi kemampuan hemolisis bakteri. Analisis kemampuan suatu bakteri patogen dalam menyebabkan penyakit dapat diungkap secara genetika melalui pemahaman substansi kromosom maupun plasmid. Menurut Pelczar dan Chan (1988) serta Oxoid (1998) mengemukakan bahwa sifat patogen dari suatu bakteri dapat diketahui dari fenotipnya berupa kemampuan bakteri melisiskan eritrosit. Bakteri yang mampu melisiskan eritrosit bersifat lebih patogen dibandingkan bakteri yang tidak mampu melisiskan eritrosit. Kemampuan

bakteri untuk melisis eritrosit ditentukan oleh substansi berupa protein ekstraseluler yang disebut hemolisin (McKane dan Kandel, 1998). Salamun *et al.* (2018) telah melakukan isolasi dan karakterisasi bakteri entomopatogen *Bacillus* sp. dari berbagai sampel lingkungan, yaitu dari sampel larva nyamuk *Aedes aegypti*, endapan tempat perindukan nyamuk, dan tanah alamiah dari baluran dan menemukan isolat-isolat yang potensial untuk dikembangkan sebagai biolarvasida terhadap larva *Aedes aegypti* vektor DBD. Isolat-isolat tersebut diantaranya diberi kode isolat *Bacillus* sp. LS9.1, EG6.4, dan BK5.2.

Penelitian ini perlu dilakukan untuk mengetahui keamanan *Bacillus* sp. LS9.1, EG6.4, dan BK5.2 terhadap manusia melalui uji hemolisis sel darah merah.

## 1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah jenis isolat *Bacillus* sp. LS9.1, EG6.4 dan BK5.2 berpengaruh terhadap indeks hemolisis dan tipe hemolisis ?
2. Apakah variasi dosis isolat *Bacillus* sp. LS9.1, EG6.4 dan BK5.2 berpengaruh terhadap indeks hemolisis dan tipe hemolisis ?
3. Apakah kombinasi antara jenis isolat dan variasi dosis isolat *Bacillus* sp. LS9.1, EG6.4 dan BK5.2 berpengaruh terhadap indeks hemolisis dan tipe hemolisis ?

## 1.3 Asumsi Penelitian

*Bacillus* sp. merupakan bakteri Gram positif, berbentuk batang, bersifat motil, dan menghasilkan spora yang biasanya resisten pada panas. Bakteri ini hanya memiliki satu molekul DNA yang berisi seperangkat set kromosom. Ada beberapa keunggulan dari bakteri ini adalah mampu mensekresikan antibiotik dalam jumlah besar ke luar dari sel (Scetzer, 2006).

Menurut Purnomo dkk., (2006) hemolisin yang dihasilkan *Staphylococcus aureus* bersifat toksik karena dapat melisis sel darah merah hospes.  $\alpha$ -hemolisin bersifat dermonekrotik dan dapat menyebabkan vasokonstriksi

pembuluh darah sehingga dapat menyebabkan kematian (Koneman *et al.*, 1992; Quinn *et al.*, 2002), sedangkan  $\delta$ -hemolisin dapat menyebabkan dermonekrotik dan merusak leukosit (Timoney *et al.*, 1988; Jawetz *et al.*, 2001), sehingga pada umumnya *S. aureus* yang dapat memproduksi hemolisin termasuk bersifat patogen (Purnomo dkk., 2006).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Fatmasari (2015) mengenai uji sensitivitas *Bacillus cereus* pada identifikasi vitek 2, pada media *Blood Agar* ditumbuhi oleh koloni bakteri *Bacillus cereus* yang berwarna putih dengan hasil beta hemolisis ( $\beta$ ). Beta hemolisis ( $\beta$ ) atau biasa disebut hemolisis total, didefinisikan sebagai lisis seluruh sel darah merah. Berdasarkan penelitian tersebut *Bacillus cereus* mampu melisis sel darah merah dengan menghasilkan toksin dan toksin tersebut diharapkan aman juga bagi manusia.

Menurut Brown (2002) ada tiga jenis hemolisis pada bakteri, yaitu 1. Beta hemolisis, yang merupakan lisis lengkap sel darah merah dan hemoglobin. Darah secara lengkap digunakan oleh mikroba. Streptolysin, suatu eksotoksin yang merupakan enzim yang diproduksi oleh bakteri yang menyebabkan lisis lengkap sel darah merah. Media yang ada koloninya menjadi tidak berwarna, 2. Alfa hemolisis, yang merupakan lisis parsial/sebagian dari sel darah merah dan hemoglobin. Hal ini menghasilkan perubahan warna disekitar koloni menjadi abu-abu kehijauan. Alfa hemolisis disebabkan oleh hidrogen peroksida yang diproduksi oleh bakteri, pengoksidasi hemoglobin menghasilkan methemoglobin derivat teroksidasi hijau, 3. Gamma hemolisis, yang merupakan tidak terjadi hemolisis, dimana tidak ada perubahan warna dalam media.

Terdapat beberapa spesies bakteri dari genus *Bacillus* yang tergolong entomopatogen yaitu *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus sphaericus*, dan *Bacillus cereus*. Entomopatogen *Bacillus* sp. merupakan bakteri agensia yang memiliki daya toksisitas terhadap berbagai serangga karena organisme ini menghasilkan toksin selama fase sporulasi. Bahan aktif yang mempunyai aktivitas larvasida ini

adalah  $\delta$ -endotoksin yaitu suatu protein yang terkandung dalam inklusi parasporal pada *Bacillus thuringiensis* H-14 dan struktur-struktur sel termasuk spora dan dinding sel pada *Bacillus sphaericus* (Baum & Malvar, 1995). Keistimewaan  $\delta$ -endotoksin ini adalah daya toksik dengan kisaran sempit terhadap serangga tertentu dari ordo Lepidoptera, Diptera, dan Coleoptera (Johnson *et al.*, 1998). Selain itu  $\delta$ -endotoksin tidak menimbulkan pencemaran, tidak membahayakan manusia, vertebrata lainnya dan tanaman serta tidak bersifat toksik terhadap serangga berguna. Daya kerja  $\delta$ -endotoksin terletak pada kristal protein. Berbagai faktor penentu kemampuan  $\delta$ -endotoksin antara lain adalah strain *Bacillus*, daya larut kristal protein dalam saluran makanan, serta kepekaan insektisida terhadap toksin (Knowles, 1994).

Dengan demikian *Bacillus* sp. LS9.1, EG6.4, DAN BK5.2 tersebut aman bagi manusia.

## **1.4 Hipotesis**

### **1.4.1 Hipotesis penelitian**

Jika isolat *Bacillus* sp. LS9.1, EG6.4 dan BK5.2 mampu menghidrolisis sel darah merah, maka akan membentuk zona bening pada uji hemolisis sel darah merah.

### **1.4.2 Hipotesis statistik**

1. H<sub>0</sub> : Tidak ada pengaruh pada jenis isolat *Bacillus* sp. LS9.1, EG6.4 dan BK5.2 terhadap indeks hemolisis dan tipe hemolisis.  
H<sub>1</sub> : Ada pengaruh jenis isolat *Bacillus* sp. LS9.1, EG6.4 dan BK5.2 terhadap indeks hemolisis dan tipe hemolisis.
2. H<sub>0</sub> : Tidak ada pengaruh pada variasi dosis isolat *Bacillus* sp. LS9.1, EG6.4 dan BK5.2 terhadap indeks hemolisis dan tipe hemolisis.

H1 : Ada pengaruh pada variasi dosis isolat *Bacillus* sp. LS9.1, EG6.4 dan BK5.2 terhadap indeks hemolisis dan tipe hemolisis.

3. H0 : Tidak ada pengaruh kombinasi antara jenis isolat dan variasi dosis isolat *Bacillus* sp. LS9.1, EG6.4 dan BK5.2 terhadap indeks hemolisis dan tipe hemolisis.

H1 : Ada pengaruh kombinasi antara jenis isolat dan variasi dosis isolat *Bacillus* sp. LS9.1, EG6.4 dan BK5.2 terhadap indeks hemolisis dan tipe hemolisis.

### **1.5 Tujuan Penelitian**

1. Untuk mengetahui pengaruh pada jenis isolat *Bacillus* sp. LS9.1, EG6.4 dan BK5.2 terhadap indeks hemolisis dan tipe hemolisis.
2. Untuk mengetahui pengaruh pada variasi dosis isolat *Bacillus* sp. LS9.1, EG6.4 dan BK5.2 terhadap indeks hemolisis dan tipe hemolisis.
3. Untuk mengetahui pengaruh kombinasi antara jenis isolat dan variasi dosis isolat *Bacillus* sp. LS9.1, EG6.4 dan BK5.2 terhadap indeks hemolisis dan tipe hemolisis.

### **1.6 Manfaat Penelitian**

Penelitian ini diharapkan dapat menambah wawasan dilingkup biologi khususnya dalam bidang mikrobiologi, selain itu juga diharapkan dapat memberi manfaat bagi dunia ilmu pengetahuan untuk memberikan informasi mengenai patogenitas *Bacillus* sp. LS9.1, EG6.4, DAN BK5.2 terhadap manusia melalui uji hemolisis sel darah merah.