



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA

Kampus C Mulyorejo Surabaya 60115 Telp. (031) 5914042, 5914043, Fax (031) 5981841
Website : <http://www.unair.ac.id>; e-mail : rektor@unair.ac.id

SALINAN

KEPUTUSAN
REKTOR UNIVERSITAS AIRLANGGA
NOMOR 886/UN3/2018

TENTANG

PELAKSANAAN PENELITIAN INTERNAL UNIVERSITAS AIRLANGGA
HIBAH RISET MANDAT, PENELITIAN UNGGULAN FAKULTAS DAN
PENELITIAN DOSEN PEMULA TAHUN 2018

REKTOR UNIVERSITAS AIRLANGGA,

- Menimbang : a. bahwa dalam rangka pelaksanaan penelitian sebagai salah satu wujud dari tri dharma perguruan tinggi, maka perlu menetapkan para peneliti dan judul penelitian dimaksud;
- b. bahwa sesuai hasil seleksi proposal penelitian hibah riset mandat, penelitian unggulan fakultas dan penelitian dosen pemula Universitas Airlangga tahun 2018, maka perlu menetapkan para peneliti dan judul penelitian sebagaimana pada huruf a;
- c. bahwa berdasarkan pertimbangan sebagaimana dimaksud pada huruf a dan huruf b, perlu menetapkan Keputusan Rektor tentang Pelaksanaan Penelitian Internal Universitas Airlangga Hibah Riset Mandat, Penelitian Unggulan Fakultas dan Penelitian Dosen Pemula Tahun 2018;
- Mengingat : 1. Undang-Undang Nomor 20 Tahun 2003 tentang Sistem Pendidikan Nasional (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2003 Nomor 78, Tambahan Lembaran Negara Nomor 4301);
2. Undang – Undang Nomor 12 Tahun 2012 tentang Pendidikan Tinggi (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2012 Nomor 158, Tambahan Lembaran Negara Tahun 2012 Nomor 5336);
3. Peraturan Pemerintah Republik Indonesia Nomor 57 Tahun 1954 tentang Pendirian Universitas Airlangga di Surabaya sebagaimana telah diubah dengan Peraturan Pemerintah Nomor 3 Tahun 1955 tentang Pengubahan Peraturan Pemerintah Nomor 57 Tahun 1954.(Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 1954 Nomor 99 Tambahan Lembaran Negara Nomor 695 juncto Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 1955 Nomor 4 Tambahan Lembaran Negara Nomor 748);

4.Peraturan ...

4. Peraturan Pemerintah Nomor 37 Tahun 2009 tentang Dosen (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2009 Nomor 76, Tambahan Lembaran Negara Republik Indonesia Nomor 5007);
5. Peraturan Pemerintah Nomor 4 Tahun 2014 tentang Penyelenggaraan Pendidikan Tinggi dan Pengelolaan Perguruan Tinggi (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2014 Nomor 16, Tambahan Lembaran Negara Nomor 5500);
6. Peraturan Pemerintah Nomor 30 Tahun 2014 tentang Statuta Universitas Airlangga (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2014 Nomor 100, Tambahan Lembaran Negara Nomor 5535);
7. Peraturan Pemerintah Nomor 26 Tahun 2015 tentang Bentuk dan Mekanisme Pendanaan Perguruan Tinggi Negeri Badan Hukum (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2015 Nomor 110, Tambahan Lembaran Negara Republik Indonesia Nomor 5699);
8. Keputusan Majelis Wali Amanat Universitas Airlangga Nomor 1032/UN3.MWA/K/2015 tentang Pengangkatan Rektor Universitas Airlangga Periode 2015-2020;
9. Peraturan Rektor Universitas Airlangga Nomor 42 Tahun 2016 tentang Organisasi dan Tata Kerja Universitas Airlangga sebagaimana telah diubah dengan Peraturan Rektor Nomor 39 Tahun 2017;
10. Peraturan Rektor Universitas Airlangga Nomor 38 Tahun 2017 Tentang Peraturan Pendidikan Universitas Airlangga sebagaimana telah diubah dengan Peraturan Rektor Nomor 01 Tahun 2018;
11. Keputusan Rektor Universitas Airlangga Nomor 1280/UN3/2015 tentang Pembentukan Lembaga Penelitian dan Inovasi;
12. Keputusan Rektor Universitas Airlangga Nomor 1285/UN3/2015 tentang Pengangkatan Ketua pada Lembaga dan Kepala Perpustakaan di Lingkungan Universitas Airlangga.

Meperhatikan : Surat Ketua lembaga penelitian dan Inovasi Universitas Airlangga No. 463/UN3.14/LT/2018, tanggal 26 Maret 2018, perihal Permohonan Keputusan Rektor tentang Pelaksanaan Penelitian Universitas Airlangga Tahun Anggaran 2018.

MEMUTUSKAN :

MENETAPKAN : KEPUTUSAN REKTOR TENTANG PELAKSANAAN PENELITIAN INTERNAL UNIVERSITAS AIRLANGGA HIBAH RISET MANDAT, PENELITIAN UNGGULAN FAKULTAS DAN PENELITIAN DOSEN PEMULA TAHUN 2018.

PERTAMA : ...

- PERTAMA** : Menetapkan hasil seleksi proposal penelitian internal Universitas Airlangga hibah riset mandat, penelitian unggulan fakultas dan penelitian dosen pemula tahun 2018.
- KEDUA** : Penerima hibah riset mandat sebanyak 42 judul, penelitian unggulan fakultas sebanyak 205 judul dan penelitian dosen pemula sebanyak 145 judul, dengan susunan nama tim peneliti sebagaimana tercantum dalam lampiran I, lampiran II dan lampiran III yang merupakan bagian tidak terpisahkan dari Keputusan Rektor ini.
- KETIGA** : Biaya untuk pelaksanaan penelitian sebagaimana dimaksud pada diktum **KEDUA** adalah sebesar Rp. 8.249.920.882,- (delapan milyar dua ratus empat puluh sembilan juta sembilan ratus dua puluh ribu delapan ratus delapan puluh dua rupiah) untuk Hibah Riset Mandat, Rp. 8.137.881.900,- (delapan milyar seratus tiga puluh tujuh juta delapan ratus delapan puluh satu ribu sembilan ratus rupiah) untuk penelitian unggulan fakultas dan Rp. 3.561.445.500,- (tiga milyar lima ratus enam puluh satu juta empat ratus empat puluh lima ribu lima ratus rupiah) untuk penelitian dosen pemula.
- KEEMPAT** : Dalam melaksanakan tugasnya, penerima dana penelitian sebagaimana dimaksud pada diktum **KEDUA**, bekerja secara jujur dan transparan dengan berpedoman pada peraturan dan ketentuan-ketentuan yang berlaku, serta bertanggungjawab kepada Rektor melalui Dekan pada Fakultas masing-masing.
- KELIMA** : Jangka waktu pelaksanaan penelitian sebagaimana dimaksud pada diktum **PERTAMA** terhitung mulai tanggal 19 Maret 2018 sampai dengan 7 Desember 2018.
- KEENAM** : Keputusan Rektor ini mulai berlaku sejak tanggal ditetapkan dan berdaya laku surut sejak 12 Maret 2018.

Salinan disampaikan Yth :

1. Pimpinan Unit Kerja di Lingkungan Unair
2. Yang bersangkutan

Ditetapkan di Surabaya
pada tanggal 27 Maret 2018

REKTOR,

TTD

Salinan sesuai dengan aslinya
Sekretaris Universitas,

MOHAMMAD NASIH
NIP.196508061992031002

KOKO SRIMULYO
NIP. 196602281990021001

LAMPIRAN II KEPUTUSAN REKTOR UNIVERSITAS AIRLANGGA**NOMOR : 86/UN3/2018, TANGGAL 28 FEBRUARI 2018****TENTANG : PELAKSANAAN PENELITIAN INTERNAL UNIVERSITAS AIRLANGGA HIBAH RISET MANDAT,
PENELITIAN UNGGULAN FAKULTAS DAN PENELITIAN DOSEN PEMULA TAHUN 2018**

SKEMA PENELITIAN UNGGULAN FAKULTAS

No	TIM PENELITI	Fakultas / Pusat Studi	JUDUL PENELITIAN	DANA (Rp.)
1	Dr Kusnanto, S.Kp., M.Kes Dr. Ninuk Dian Kurniawati,S.Kep., Ns., MANP. Erna Dwi Wahyuni,S.Kep., Ns., M.Kep Dr. Abu Bakar, Ns., Sp.Kep MB.	F.Kep.	Pengaruh spiritual based motivasional self diabetic management terhadap spiritualitas, self efficacy, perawatan diri dan HbA1c pada penderita diabetes mellitus	40.000.000
2	Dr. Retno Indarwati, S.Kep., Ns., M.Kep Rizki Fitriyasari, S.Kep., Ns., M.Kep Eka Mishbahatul Mar'ah Has, S.Kep., Ns., M.Kep Sylvia Dwi Wahyuni, S.Kep., Ns., M.Kep	F.Kep.	Family Resilience pada Keluarga yang memiliki anak berkebutuhan khusus-Ditinjau dari perspektif saudara Kandung	35.000.000
3	Ilya Krisnana, S.Kep., Ns., M.Kep Praba Diyan Rachmawati, S.Kep., Ns., M.Kep Yuni Sufyanti Arief, S.Kp. M.Kes	F.Kep.	Pola Interaksi dan Pola Asuh Orang Tua Sebagai determinan faktor Perilaku Bulliying Pada remaja	40.000.000
4	Dr. Tintin sukartini,S.Kp., M.Kes Dr. Hanik Endang Nihayati, S.Kep., Ns., M.Kep Lingga Curnia Dewi, S.Kep., Ns., M.Kep Dewi Arini Hidayah, S.Kep., Ns	F.Kep.	Studi fenomenologi pengalaman hidup penderita kanker payudara	40.000.000
5	Harmayetty, S.Kp., M.Kes Laily Hidayati, S.Kep., Ns., M.Kep Dr. Ninuk Dian Kurniawati,S.Kep., Ns., MANP. Prabadiyan, R, S.Kep., Ns. M.Kep.	F.Kep.	Efisiensi Deteksi Depresi Pasien Pasca Stroke dengan Penggunaan Patient Health Questionnaire Berbasis Android terhadap Gangguan Kognitif dan Gangguan Fungsional	40.000.000
6	Ni Ketut Alit A, S.Kp., M.Kes Aria Aulia Nastiti, S.Kep., Ns., M.Kep Retnayu Pradanie, S.Kep., Ns., M.Kep Mira Triharini, S.Kp., M.Kep	F.Kep.	Gaya Hidup dan Status Nutrisi Akseptor KB Hormonal Wanita Pasangan Usia Subur	39.000.000
7	Dr. Andri Setiya Wahyudi,S.Kep., Ns., M.Kep Rr. Dian Tristiana,S.Kep., Ns., M.Kep Lingga Curnia Dewi, S.Kep., Ns., M.Kep Candra Panji Asmoro, S.Kep., Ns., M.Kep	F.Kep.	Studi Komparasi Ekspektasi, Kesulitan Dalam Memutuskan dan Pilihan Karir Pada Mahasiswa Baru dan Program Profesi Ners	30.000.000

No	TIM PENELITI	Fakultas / Pusat Studi	JUDUL PENELITIAN	DANA (Rp.)
157	Jan Ady, S.Si., M.Si Drs. Djony Izak R, M.Si Drs. Siswanto, M.Si	FST	Optimasi Fase Perovskit Barium Titanat Menggunakan Teknik Sol-Gel untuk Bahan Baku Piezoelektrik	38.000.000
158	Dr. Sucipto Hariyanto, DEA Prof. Dr. Yosephine Sri Wulan Manuhara, M.Si Putut Rakhmad Purnama, S.Si	FST	Respons <i>Thalassia hemprichii</i> (Ehrenb.) Aschers. terhadap Perlakuan Cekaman Suhu Tinggi	40.000.000
159	Auli Damayanti, S.Si., M.Si Asri Bakti Pratiwi, S.Si., M.Si Dr. Riries Rulaningtyas, S.T., M.T.	FST	Klasifikasi Kelainan Retina Mata pada Citra Fundus Menggunakan <i>Ruled-based Neural Fuzzy Regression Model</i> dan <i>Wavelet Coefficient Energy</i>	40.000.000
160	Salamun, Drs., M.Kes Dr. Fatimah, S.Si., M.Kes Agus Supriyanto, Drs., M.Kes Tri Nurhariyati, S.Si., M.Kes	FST	Pengembangan Produk Bioinsektisida: Isolasi dan Karakterisasi Fenotik Lokal <i>Bacillus</i> sp. serta Uji Potensinya sebagai Biolarvasida Vektor Demam Berdarah Dengue	39.600.000
161	Nur Indradewi Oktavetri, S.T., M.T Dra. Thin Soedarti, CESA Drs. Agus Supriyanto, M.Kes Febri Eko Wahyudianto, S.T., M.T	FST	Inovasi Pengolahan Air Limbah Aerobik dengan Penerapan Imobilisasi Mikroalga-bakteri untuk Penghematan Energi Olah Limbah	39.500.000
162	Dr. Muji Harsini, M.Si M. Zakki Fahmi, S.Si., M.Si., Ph.D Satya Candra Wibawa Sakti, M.Sc., Ph.D	FST	Sensor Voltametri Sensitif Hidrokuinon dalam Kosmetik Pemutih Kulit Berbasis Karbon Nanopori/Ferosen	40.000.000
163	Drs. Adri Supardi., M.S Jan Ady, S.Si., M.Si Drs. Djony Izak rudyarjo, M.Si	FST	Potensi <i>Biodegradable Metal</i> Berbasis Zn sebagai Material Implan	40.000.000
164	Drs. Saikhu Akhmad Husen, M.Kes Dr. Dwi Winarni, Dra., M.Si Dr. Sri Pudji Astuti Wahyunuingsih	FST	Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Okra (<i>Abelmoschus esculentus</i> L) untuk Menurunkan Kolesterol Darah Puasa dan Aktivitas Peroksida Lipid pada Mencit Diabetik	40.000.000
165	Badrus Zaman, S.KOM., M.Cs Army Justitia, S.Kom., M.Kom Endah Purwanti, S.Si., M.Kom	FST	Sistem Deteksi Berita Hoax Menggunakan Algoritma Cosine Similarity dan Naive Bayes	40.000.000
166	Dr. Purkan, M.Si Dr. Sri Sumarsih, M.Si Drs.Sofijan Hadi, M. Kes	FST	Skrining Bakteri Lipolitik Penghasil Enzim Lipase untuk Pengembangan Produksi Biodiesel	40.000.000
167	Dra. Inna Kuswandari, M.Si Dr. Fatmawati, M.Si Dr. Muhammad Imam Utoyo, M.Si	FST	Reduksi Orde Model dengan Metode Pemotongan Setimbang pada Sistem Linear atas Ring Komutatif	40.000.000

No	TIM PENELITI	Fakultas / Pusat Studi	JUDUL PENELITIAN	DANA (Rp.)
200	Dr. Aniek Setiya Budiatin, M.Si., Apt Toetik Aryani, Dra., M.Si.,Apt Chrismawan Ardianto, S. Farm., M. SC.,Ph.D.,Apt Samirah, S.Si.,Sp.FRS.,Apt	Riset & Pengembangan Produk Halal	Pengembangan Produk Bonegraft Halal Dari Tulang Sapi	40.000.000
201	Dr. Tika Widiastuti, S.E.,M.Si. Eko Fajar Cahyono, S.E.,M.E. Dr. Imron Mawardi, S.P., M.Si.	Riset & Pengembangan Produk Halal	Pengembangan Kawasan Industri Halal di Indonesia : Pendekatan Metode ISM-ANP (Interpretative Structural Modeling-Analytical Network Process)	30.000.000
202	Prima Ayu Wibawati, drh., M.Si Maya Nurwartanti Yunita, drh., M.Si Bodhi Agustono, drh., M.Si M. Thohawi Elziyad P.,drh.,M.Si	Riset & Pengembangan Produk Halal	Monitoring Penyeblihan Ayam Yang Benar Untuk Menjamin Produk Asal Hewan Yang Halal Di Rumah Potong Ayam Di Jawa Timur	40.000.000
203	Margaretha, S.Psi., P.G.Dip.Psych., M.Sc. Fitri Andriani, S.Psi., M.Si.	F. Psikologi	Kesehatan Mental Anak Usia Sekolah Indonesia: Sebuah Kajian Pemetaan dan Pengembangan Alat Ukur dari Sampel Surabaya	40.000.000
204	Dr. Achmad Chusairi, S.Psi., MA. Dr. Duta Nurdibyanandaru, MS., Psikolog.	F. Psikologi	Positive youth development sebagai model pengembangan diri remaja	40.000.000
205	Atika Dian Ariana, S.Psi., M.Sc. Dr. Hamidah, M.Si. Tri Kurniati Ambarini, M.Psi.	F. Psikologi	Treatment pathways orang dengan gangguan mental (ODGM)	40.000.000
TOTAL				8.137.881.900

Salinan sesuai dengan aslinya
Sekretaris Universitas,


KOKO SRIMULYO
NIP. 196602281990021001

Surabaya, 27 Maret 2018

REKTOR,

TTD

MOHAMMAD NASIH
NIP. 196508061992031002

**LAPORAN AKHIR
PENELITIAN UNGGULAN FAKULTAS**



JUDUL PENELITIAN

**PENGEMBANGAN PRODUK BIOINSEKTISIDA :
Isolasi dan Karakterisasi Fenotik Entomopatogen Lokal *Bacillus* sp.
serta Uji Potensinya sebagai Biolarvasida Vektor
Demam Berdarah Dengue**

TIM PENELITI

Salamun, Drs., M.Kes. NIDN. 0010116120 (Ketua)
Dr. Fatimah, S.Si., M.Kes NIDN. 0015107401 (Anggota 1)
Tri Nurhariyati, S.Si., M.Kes. NIDN. 0013116702 (Anggota 2)
Agus Supriyanto, Drs., M.Kes. NIDN 0024086208 (Anggota 3)

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

UNIVERSITAS AIRLANGGA

November 2018

**HALAMAN PENGESAHAN
PENELITIAN UNGGULAN FAKULTAS**

Judul Penelitian : **PENGEMBANGAN PRODUK BIOINSEKTISIDA :
Isolasi dan Karakterisasi Fenotik Entomopatogen
Lokal *Bacillus* sp. serta Uji Potensinya sebagai
Biolarvasida Vektor Demam Berdarah Dengue**

Kode>Nama Rumpun Ilmu : 113/ Biologi (dan Bioteknologi Umum)

Ketua Peneliti

a. Nama Lengkap : Salamun, Drs., M.Kes.
b. NIDN : 0010116120
c. Jabatan Fungsional : Lektor Kepala
d. Program Studi : Biologi
e. Nomor HP : 081332198122
f. Alamat surel (e-mail) : salamunsalamy@gmail.com

Anggota Peneliti (1)

a. Nama Lengkap : Dr. Fatimah, S.Si., M.Kes.
b. NIDN : 0015107401
c. Fakultas : Sains dan Teknologi

Anggota Peneliti (2)

a. Nama Lengkap : Tri Nurhariyati, S.Si., M.Kes.
b. NIDN : 0013116702
c. Fakultas : Sains dan Teknologi

Anggota Peneliti (3)

a. Nama Lengkap : Agus Supriyanto, Drs., M.Kes.
b. NIDN : 0024086208
c. Fakultas : Sains dan Teknologi

Mahasiswa

a. Nama Lengkap : Vicky Findawati (dkk.)
b. NIM : 081411431047
c. Fakultas : Sains dan Teknologi

Biaya Penelitian : Rp. 39.600.000 (Tiga puluh sembilan juta enam ratus ribu)

Mengetahui
Dekan Fakultas Sains dan Teknologi



(Prof. Win Darmanto, M.Si., PhD.)
NIP. 1961061661987011001

Surabaya, 30 November 2018

Peneliti

(Salamun, Drs., M.Kes.)
NIP. 196111101987031003

RINGKASAN

Demam Berdarah Dengue (DBD) adalah penyakit viral yang ditularkan oleh nyamuk vektor penyakit dan sampai saat ini merupakan masalah kesehatan masyarakat yang serius di Indonesia. Usaha untuk mengatasi masalah DBD telah banyak dilakukan, tetapi sampai saat ini hasilnya masih belum memuaskan. Alternatif harapan untuk mengatasi penyakit ini adalah memutus rantai penyebaran penyakit dengan pengendalian populasi vektor sampai di bawah ambang kendali. Penggunaan insektisida kimiawi terbukti banyak menimbulkan dampak negatif berupa perkembangan kearah resistensi serangga sasaran, membunuh serangga non-sasaran dan mengganggu kualitas lingkungan hidup. Harapan dan kenyataan mengenai masalah DBD membuat para ahli pengendalian hayati menyarankan untuk mengembangkan penggunaan bioinsektisida dan terus dicari pengendali hayati sebagai salah satu alternatif untuk pengendalian vektor penyakit, karena sasaran yang dituju lebih spesifik, lebih aman dan berwawasan lingkungan. Salah satu agensia hayati yang dikembangkan sebagai bioinsektisida pengendali hayati adalah bakteri entomopatogenik dari marga *Bacillus*.

Penelitian ini direncanakan secara bertahap untuk mendukung Rencana Induk Penelitian (RIP) fakultas dan universitas, yaitu dalam bidang Produk Mikroorganisme dan diharapkan dapat membantu permasalahan kesehatan masyarakat melalui penelitian bidang Kedokteran Tropis, khususnya pengembangan Bioinsektisida berbahan baku bakteri *Bacillus* sp.. Pada penelitian ini peneliti berusaha mendapatkan entomopatogen lokal (*indigenous*) dari marga *Bacillus* yang diisolasi dari lingkungan alamiah, tempat perindukan domestik dan larva vektor DBD. Upaya pengembangan lebih lanjut diarahkan pada optimalisasi dan formulasi entomopatogen lokal sebagai bioinsektisida yang dapat diterapkan di tempat perindukan nyamuk vektor DBD khususnya di Indonesia. Penelitian pengembangan bioinsektisida lokal ini direncanakan secara bertahap, meliputi aspek biologis (tahap I), uji hayati dan penelitian aspek genomik dan proteomik (tahap II), penelitian kerjasama dengan teknolog untuk optimalisasi dan pengembangan formula (tahap III), penelitian kerjasama dengan kesehatan masyarakat untuk uji coba di lapangan (tahap IV), dan penelitian kerjasama dengan industri untuk pengembangan produksi biomassa bioinsektisida (tahap V).

Pada penelitian tahap I ini, dilakukan isolasi, uji potensi, dan karakterisasi Fenotik. Isolasi jenis bakteri *Bacillus* sp. lokal dari tanah alamiah, endapan TPA, dan larva telah dilakukan. Hasil isolasi menunjukkan bahwa bakteri entomopatogen lokal *Bacillus* sp. yang berpotensi sebagai biolarvasida terhadap larva *Aedes aegypti* dapat diisolasi dari tanah lingkungan alamiah, endapan TPA tempat perindukan nyamuk, dan larva *A. aegypti* vektor DBD. Isolasi dari tanah alamiah di Taman Nasional Baluran, sebanyak 9,25 % isolat berpotensi tinggi sebagai biolarvasida. Isolasi dari endapan TPA tempat perindukan domestik nyamuk vektor DBD, sebanyak 12,03 % isolat berpotensi tinggi sebagai biolarvasida. Isolasi dari larva nyamuk *Aedes aegypti* di tempat perindukan domestik vektor DBD, sebanyak 12,50% isolat berpotensi tinggi sebagai biolarvasida. Isolat berpotensi tinggi dilanjutkan karakterisasi makroskopis, mikroskopis, dan fisiologis. Berdasarkan hasil perhitungan nilai koefisien kesamaan (Ss) dari karakteristik isolat-isolat tersebut, menunjukkan bahwa nama isolat yang ditemukan memiliki nilai koefisien kesamaan yang berbeda-beda dari *Bacillus sphaericus* dan *Bacillus thuringiensis*. Bakteri entomopatogen lokal *Bacillus* sp. yang mampu membunuh 90-100% larva uji dalam pengamatan waktu 24 jam, sangat potensial untuk dikembangkan sebagai biolarvasida, sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut sesuai tahapan penelitian dalam upaya pengembangan produk bioinsektisida.

PRAKATA

Puji syukur alhamdulillah kami panjatkan kehadiran Allah SWT, yang telah memberikan kekuatan dan kesehatan, sehingga kami dapat menyelesaikan laporan akhir dari sebagian tahapan Penelitian Unggulan Fakultas (PUF) periode tahun 2018. Terimakasih dan penghargaan yang setinggi tingginya juga kami sampaikan kepada seluruh pimpinan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga yang telah memberikan kesempatan kepada kami untuk mendapatkan dana PUF 2018, sehingga kami dapat mengawali tahap I dari penelitian yang kami rencanakan sampai dengan tahap V.

Penelitian ini dirancang secara bertahap untuk mendukung RIP fakultas dan universitas dalam bidang **Produk Mikroorganisme dan Enzim**, serta dalam upaya membantu permasalahan kesehatan masyarakat melalui penelitian bidang **Kedokteran Tropis**, khususnya pengembangan **Bioinsektisida** berbahan baku bakteri *Bacillus* sp. lokal. Pada penelitian ini peneliti berusaha mendapatkan entomopatogen lokal (*indigenous*) marga *Bacillus* sp. yang diisolasi dari lingkungan alamiah, tempat perindukan domestik vektor DBD, dan larva vektor DBD. Upaya pengembangan lebih lanjut diarahkan pada karakterisasi genomik dan proteomik, optimalisasi dan formulasi entomopatogen lokal sebagai bioinsektisida yang dapat diterapkan di tempat perindukan nyamuk vektor DBD di Indonesia. Penelitian pengembangan bioinsektisida lokal ini direncanakan pada penelitian aspek biologis (tahap I), penelitian aspek genomik dan proteomik (tahap II), penelitian kerjasama dengan teknolog untuk optimalisasi dan pengembangan formula (tahap III), penelitian kerjasama dengan kesehatan masyarakat untuk uji coba di lapangan (tahap IV), dan penelitian kerjasama dengan industri untuk pengembangan produksi biomassa bioinsektisida (tahap V).

Akhirnya semoga hasil penelitian ini dapat bermanfaat bagi kita semua, khususnya dalam upaya pengembangan bioinsektisida lokal sebagai salah satu pengendali hayati untuk mengatasi masalah DBD di Indonesia. Kami menyadari bahwa laporan kemajuan ini masih belum sempurna dan masih banyak kekurangannya. Oleh karena itu kritik, saran, masukan dan lainnya sangat kami harapkan guna perbaikan laporan penelitian final nantinya.

Surabaya, 20 Nopember 2018

Ketua Peneliti,

ttd.

Salamun, Drs., M.Kes.

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
RINGKASAN	iii
PRAKATA	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
BAB 1. PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang Masalah	1
1.2. Rumusan Masalah	3
1.3. Tujuan Penelitian	4
1.4. Kontribusi Penelitian	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Nyamuk <i>Aedes aegypti</i>	6
2.2. Pengendalian Populasi Nyamuk <i>Aedes aegypti</i>	7
2.3. Entomopatogen <i>Bacillus sp.</i>	9
BAB 3. METODE PENELITIAN	
3.1. Kolonisasi Larva Uji	15
3.2. Isolasi <i>Bacillus sp.</i>	15
3.3. Uji Potensi Isolat Lokal <i>Bacillus sp.</i>	17
3.4. Karakterisasi Fenotik	17
3.5. Analisis Data	18
BAB 4. HASIL YANG DICAPAI	
4.1. Hasil Penelitian	19
4.2. Pembahasan	26
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1. Kesimpulan	28
5.2. Saran	29
DAFTAR PUSTAKA	30
DAFTAR LAMPIRAN	33

DAFTAR TABEL

- Tabel 1. Karakteristik fisiologis isolat-isolat *Bacillus* sp. dari Taman Nasional Baluran, Endapan Tempat Penampung Air (TPA), dan Larva *Aedes aegypti* 24
- Tabel 2. Karakterisasi Entomopatogen Lokal *Bacillus* sp. yang Berpotensi Tinggi (%) sebagai Biolarvasida terhadap Larva *Aedes Aegypti* , diisolasi dari Lingkungan Alamiah, Endapan TPA, dan Larva *A. Aegypti* 25

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. <i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>morrisoni</i> strain C18, Spora dan <i>Parasporal Crystals</i> tampak Jelas (TEM x 44.000), Sumber : Ibrahim <i>et al.</i> , (2010).	12
Gambar 2. Perubahan Morfologis Sel akibat Toksin Cry, Keterangan : M5, <i>High-Five Cells</i> ; S5, <i>S5 Cells</i> , Sumber : Ibrahim, <i>et al.</i> (2010).	14
Gambar 3. Skema Rencana Tahapan Penelitian Pengembangan Bioinsektisida Lokal terhadap Vektor DBD.	17
Gambar 4. Hasil Pengambilan Sampel dari Tempat Perindukan Alamiah, Domestik (Endapan TPA), dan Larva <i>Aedes aegypti</i>	19
Gambar 5. Hasil Isolasi Bakteri Entomopatogen Lokal <i>Bacillus</i> Sp. dari Perindukan Alamiah, Perindukan Domestik, dan Larva, serta Hasil Uji Potensinya Sebagai Biolarvasida terhadap Larva Instar III <i>Aedes aegypti</i>	20
Gambar 6. Bakteri Entomopatogen Lokal <i>Bacillus</i> sp. yang Berpotensi Tinggi (%) sebagai Biolarvasida terhadap Larva <i>Aedes Aegypti</i> , diisolasi dari Lingkungan Alamiah, Endapan TPA, dan Larva <i>A. Aegypti</i>	21
Gambar 7. Jumlah Isolat Bakteri Entomopatogen Lokal <i>Bacillus</i> sp. yang Berpotensi Tinggi (membunuh larva 60-100%) dari Hasil Uji Potensi Awal terhadap Larva <i>Aedes aegypti</i>	22
Gambar 8. Jumlah Isolat Bakteri Entomopatogen Lokal <i>Bacillus</i> sp. yang Berpotensi Sangat Tinggi (membunuh larva 90-100%) dari Hasil Uji Potensi Lanjutan, terhadap Larva <i>Aedes aegypti</i>	23

DAFTAR LAMPIRAN

Anggaran Belanja Penelitian yang Telah Dikeluarkan	33
Rincian Anggaran Belanja Penelitian	34
Susunan Organisasi Tim Peneliti dan Pembagian Tugas	35
Biodata Ketua dan Anggota Tim Penelitian	36

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Masalah

Demam Berdarah Dengue (DBD) adalah penyakit viral yang ditularkan oleh nyamuk vektor penyakit dan sampai saat ini merupakan masalah kesehatan masyarakat yang serius di Indonesia (Kemeskes RI, 2016). Penyakit DBD telah ditemukan di Manila tahun 1954 (Halstead, 1990), selanjutnya tahun 1960-an telah menyebar ke Asia Tenggara, termasuk Indonesia. Kota di Indonesia pertama kali dilaporkan ada wabah DBD adalah di Surabaya, dari 58 orang penderita 24 orang (41%) dilaporkan meninggal dunia (Sumarno, 1987). Semula penyakit DBD menyerang daerah perkotaan padat penduduk seperti Surabaya (Yotopranoto *et al.*, 2010). Pada saat ini dilaporkan telah tersebar luas baik di kota maupun di desa di seluruh provinsi di Indonesia (Kemenkes RI, 2016)

Usaha untuk mengatasi masalah DBD telah banyak dilakukan, tetapi sampai saat ini hasilnya masih belum memuaskan. Alternatif harapan untuk mengatasi penyakit ini adalah memutus rantai penyebaran dengan pengendalian populasi vektor sampai di bawah ambang kendali. Ada tiga jenis nyamuk vektor DBD yang pernah dilaporkan, yaitu *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus*, dan *Aedes scutellaris*, tetapi sampai saat ini vektor utama DBD adalah *A. aegypti* (Sukowati, 2010) Upaya menekan kepadatan populasi *A. aegypti* telah dilakukan dengan beberapa cara, diantaranya adalah dengan pengendalian kimiawi yang sesuai baik untuk larva atau nyamuk dewasa (Kemenkes RI, 2016). Pengabutan (*fogging*) sasaran nyamuk dewasa dianggap paling cocok dan selama ini banyak digunakan, namun hasilnya masih belum memuaskan (Sukowati, 2010). Penggunaan insektisida kimiawi terbukti banyak menimbulkan dampak negatif berupa perkembangan kearah resistensi serangga sasaran, membunuh serangga non-sasaran dan mengganggu kualitas lingkungan hidup.

Harapan dan kenyataan mengenai masalah DBD membuat para ahli pengendalian hayati menyarankan untuk mengembangkan penggunaan bioinsektisida dan terus dicari pengendali hayati sebagai salah satu alternatif untuk pengendalian vektor penyakit, karena sasaran yang dituju lebih spesifik, lebih aman dan berwawasan lingkungan. Salah satu agensia hayati yang dikembangkan sebagai bioinsektisida pengendali hayati adalah bakteri entomopatogenik dari marga *Bacillus*. Berbagai jenis bakteri pembentuk endospora yang mampu hidup berasosiasi dengan serangga antara lain *Bacillus thuringiensis*, *B. cereus*, *B.*

lentimorbus, *B. sphaericus*, *B. papilliae*, *B. larvae*, *B. morotai* telah dimanfaatkan untuk pengendalian berbagai jenis serangga. Entomopatogen yang telah dimanfaatkan secara luas dalam bentuk formula siap pakai, untuk pengendalian larva nyamuk *A. aegypti* adalah *B. thuringiensis* serotipe H-14, diisolasi dari tanah di Israel (Boyce, R., 2013) dan *Bacillus sphaericus* H5a5b diisolasi dari tanah di India (Balaraman and Pillai, 1990). Salamun (2004) berhasil mengisolasi entomopatogen lokal yang potensial terhadap membunuh larva *A. aegypti* dari tanah bekas genangan di kawasan Pantai Bama Taman Nasional Baluran Banyuwangi. Isolat lokal tersebut diberi nama BL5MT dan sampai dengan saat ini belum dilakukan penelitian lebih lanjut, termasuk nama spesies, karakter fenotik dan genomik dari bakteri isolat lokal BL5MT. Penelitian ini dirancang dengan tahapan sebagai berikut :

1. isolasi bakteri entomopatogen lokal *Bacillus* sp. yang berpotensi sebagai biolarvasida terhadap larva *Aedes aegypti* dari lingkungan alamiah, tempat perindukan nyamuk, dan larva.
 - a. Isolasi dari tanah alamiah di Taman Nasional Baluran
 - b. Isolasi dari endapan tempat perindukan domestik vektor DBD
 - c. Isolasi dari larva nyamuk *Aedes aegypti* di tempat perindukan domestik vektor DBD
2. Uji potensi entomopatogen lokal *Bacillus* sp. hasil isolasi dari tanah alamiah dan tempat perindukan domestik, dalam kemampuannya membunuh larva *A. aegypti* vektor DBD.
3. Karakterisasi fenotik entomopatogen lokal *Bacillus* sp. :
 - a. karakter makroskopis,
 - b. karakter mikroskopis, dan
 - c. karakter fisiologis.
4. Uji hayati untuk menentukan LC_{50} , LC_{90} , LT_{50} , dan LT_{90} entomopatogen lokal *Bacillus* sp. terhadap larva *A. aegypti*.
5. Karakterisasi genomik dan proteomik entomopatogen lokal *Bacillus* sp. :
 - a. kekerabatan genetik,
 - b. karakter protein *Cry*, dan
 - c. gen penyandi toksin *parasporal crystal*
6. Optimalisasi berbagai variabel untuk pengembangan entomopatogen *Bacillus* sp. yang potensial untuk produk bioinsektisida terhadap vektor DBD.

7. Pengembangan formula bioinsektisida *Bacillus* sp. yang paling potensial sebagai bioinsektisida terhadap vektor DBD.
8. Uji coba penerapan di lapangan berbagai formula bioinsektisida *Bacillus* sp. yang paling potensial sebagai bioinsektisida terhadap vektor DBD.
9. Produksi biomassa bioinsektisida *Bacillus* sp. yang paling potensial sebagai produk paten bioinsektisida terhadap vektor DBD.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah tersebut di atas, maka penelitian pada tahap I ini diajukan rumusan masalah sebagai berikut :

1. Apakah bakteri entomopatogen lokal *Bacillus* sp. yang berpotensi sebagai biolarvasida terhadap larva *Aedes aegypti* dapat diisolasi dari lingkungan alamiah, tempat perindukan nyamuk, dan larva *A. aegypti* vektor DBD ?
 - a. Isolasi dari tanah alamiah di Taman Nasional Baluran.
 - b. Isolasi dari endapan tempat perindukan domestik nyamuk vektor DBD.
 - c. Isolasi dari larva nyamuk *Aedes aegypti* di tempat perindukan domestik vektor DBD.
2. Apakah bakteri entomopatogen lokal *Bacillus* sp. yang diisolasi dari lingkungan alamiah, tempat perindukan domestik nyamuk dan larva *A. aegypti* vektor DBD berpotensi membunuh larva *A. aegypti* ?.
3. Bagaimanakah karakter fenotik bakteri entomopatogen lokal *Bacillus* sp. hasil diisolasi dari lingkungan alamiah, tempat perindukan domestik nyamuk dan larva *A. aegypti* vektor DBD ?.
 - a. karakter makroskopis,
 - b. karakter mikroskopis, dan
 - c. karakter fisiologis.

1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian tahap I, adalah sebagai berikut.

1. Mendapatkan isolat bakteri entomopatogen lokal *Bacillus* sp. yang berpotensi sebagai biolarvasida terhadap larva *Aedes aegypti* dapat diisolasi dari lingkungan alamiah, tempat perindukan nyamuk, dan larva *A. aegypti* vektor DBD.
 - a. Isolat dari tanah alamiah di Taman Nasional Baluran.
 - b. Isolat dari endapan tempat perindukan domestik nyamuk vektor DBD.
 - c. Isolat dari larva nyamuk *Aedes aegypti* di tempat perindukan domestik vektor DBD.
2. Mengetahui potensi entomopatogen lokal *Bacillus* sp. yang diisolasi dari lingkungan alamiah, tempat perindukan nyamuk, dan larva *A. aegypti* vektor DBD dalam membunuh larva *A. aegypti* vektor DBD.
3. Mengidentifikasi karakter fenotik berupa ciri makroskopis, mikroskopis, dan fisiologis entomopatogen lokal *Bacillus* sp. hasil diisolasi dari lingkungan alamiah, tempat perindukan nyamuk, dan larva *A. aegypti* vektor DBD.
 - a. karakter makroskopis,
 - b. karakter mikroskopis, dan
 - c. karakter fisiologis.

1.4. Kontribusi Penelitian

1. Hasil penelitian ini, diharapkan dapat meluaskan wawasan peneliti, khususnya mendalami salah satu bidang ilmu mikrobiologi yang diminati, serta diharapkan dapat merupakan sumbangan berharga untuk :
 - a. Memperkaya khasanah ilmu pengetahuan, khususnya di bidang usaha pengendalian hayati vektor penyakit DBD yang menggunakan bioinsektisida lokal di Indonesia
 - b. Meningkatkan pembangunan nasional, dengan mengembangkan potensi lokal agensia hayati dalam upaya pengendalian kepadatan populasi nyamuk vektor penyakit DBD di Indonesia

2. Hasil penelitian ini, diharapkan dapat menambah "khasanah pemanfaatan unggulan lokal untuk kemaslahatan nasional/internasional", dalam upaya pengembangan bioinsektisida lokal sebagai salah satu pengendali hayati untuk mengatasi masalah DBD di Indonesia

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Nyamuk *Aedes aegypti*

Nyamuk *A. aegypti* melakukan metamorfosis sempurna (*holometabola*), dengan pertumbuhan dan perkembangan dibagi menjadi 4 tahap, yaitu nyamuk dewasa, telur, larva dan pupa (Rahayu dan Ustiawan, 2013). Nyamuk *A. aegypti* sering disebut *black-white mosquito*, karena tubuhnya ditandai dengan garis garis putih keperakan di atas dasar hitam, di Indonesia juga disebut sebagai salah satu dari nyamuk rumah. Tahap telur, larva, dan pupa tumbuh dan berkembang di air. Genangan air yang disukai sebagai tempat perindukan adalah genangan air di suatu wadah (kontainer) tempat penampung air (TPA), bukan genangan air di tanah. Survei yang telah dilakukan di beberapa kota di Indonesia menunjukkan bahwa TPA yang digunakan sebagai tempat perindukan sehari-hari adalah tempayan, bak mandi, bak WC, dan sejenisnya yang berisi air jernih (Yotopranoto dkk., 1998; Candra, 2010). Tempat perindukan tambahan non-TPA, seperti tempat minuman burung, barang bekas, vas bunga, dan lainnya, sedangkan TPA alamiah berupa lubang pohon, pelepah daun, tempurung kelapa, potongan bambu, dan lainnya (Yotopranoto dkk., 1998; Candra, 2010).

Nyamuk dewasa meletakkan telur satu-persatu pada benda-benda yang terapung atau pada dinding bagian dalam dekat permukaan air dari TPA, yang disukai adalah berair jernih dan berwarna gelap, paling menyukai TPA dengan warna dinding hitam, terbuka lebar dan terutama terletak di tempat-tempat terlindung dari sinar matahari langsung (Nurjana dan Kurniawan, 2017). Dilaporkan bahwa dari telur yang dilepas, sebanyak 85% melekat di dinding TPA dan 15% telur lainnya jatuh ke permukaan air (Mardihusodo dkk., 1978). Telur *A. aegypti* akan menetas menjadi larva dalam waktu 1-2 hari dengan suhu air antara 20-40 °C. Kecepatan telur menetas menjadi larva dipengaruhi beberapa faktor, diantaranya adalah suhu, tempat, dan keadaan air serta kandungan zat makanan yang ada di tempat perindukannya. Setelah telur menetas menjadi larva, larva bertubuh langsing, bergerak sangat lincah, aktif mencari makan, berperilaku menghindari sinar, dan waktu istirahat tubuhnya membentuk sudut hampir tegak lurus dengan bidang permukaan air (Mardihusodo dkk., 1978). Pada kondisi optimum, larva berkembang menjadi pupa dalam waktu 4-9 hari. Setelah larva menjadi pupa, gerakan pupa lebih lincah larva, namun pupa

pada bentuk tidak makan. Waktu istirahat, posisi tubuh pupa sejajar dengan bidang permukaan air. Pupa berubah menjadi nyamuk dewasa dalam waktu 2-3 hari. Jadi pertumbuhan dan perkembangan *A. aegypti* dari telur sampai dengan menjadi nyamuk dewasa memerlukan waktu kurang lebih 7-14 hari (Kemenkes RI, 2016).

A. aegypti hidup domestik tersebar secara kosmopolitan, lebih menyukai tinggal di dalam rumah, nyamuk betina menusuk dan mengisap darah di siang hari dan lebih menyukai darah manusia (antropofilik) daripada darah hewan (zoofilik). Waktu mencari makan, lebih tertarik oleh bau yang dipancarkan inang, kemudian faktor suhu, kelembaban, kadar CO₂, dan warna TPA. Kebiasaan istirahat lebih banyak di dalam rumah pada benda yang bergelantungan, berwarna gelap dan di tempat lain yang terlindung (Yotopranoto, dkk., 1998). Pada waktu menusuk dan mengisap darah dapat menularkan berbagai penyakit, seperti DBD, *Yellow fever*, *Virus encephalitis*, Filariasis, dan *Zika* (Blasberg *et al.*, 2016).

2.2. Pengendalian Populasi Nyamuk *Aedes aegypti*

Nyamuk *A. aegypti* berperan sebagai vektor penyakit DBD, untuk itu perlu dicari cara yang paling tepat untuk menekan kepadatan populasi sampai pada tingkat di bawah ambang kendali dalam perannya sebagai vektor penyakit. Usaha menekan kepadatan populasi nyamuk *A. aegypti* dapat dilakukan dengan berbagai cara. Secara garis besar ada 4 cara yang dapat dilakukan dalam pengendalian vektor penyakit, yaitu dengan cara pengendalian kimiawi, lingkungan, hayati, dan genetik (Sukowati, 2010; Kemenkes RI, 2016).

Pengendalian kimiawi dilakukan dengan menggunakan insektisida kimia baik untuk larva maupun nyamuk dewasa. Pengendalian nyamuk dewasa *A. aegypti* selama ini yang dianggap paling sesuai adalah dengan cara pengabutan (*fogging*). Cara ini biasanya dilakukan berulang-ulang dan harus diikuti dengan pengendalian larva (Sukowati, 2010). Larva *A. aegypti* hidup di air bersih seperti bak mandi, bak WC, atau genangan air bersih lainnya, maka harus dicari larvisida yang sesuai dan dinyatakan aman untuk manusia. Satu satunya larvisida kimia yang telah dinyatakan aman untuk digunakan di tempat perindukan nyamuk *A. aegypti* adalah temephos (Kemenkes RI, 2016). Pengendalian cara ini sudah dilakukan sejak tahun 1950-an sampai dengan sekarang, tetapi telah terbukti banyak menimbulkan dampak negatif seperti perkembangan ke arah resistensi serangga sasaran,

membunuh serangga non-sasaran yang berguna, dan mengganggu kualitas lingkungan hidup (Sukowati, 2010).

Pengelolaan lingkungan dilakukan untuk menghilangkan tempat-tempat perindukan yang disukai oleh nyamuk *A. aegypti* atau menghalangi kontak vektor dengan manusia (Sukowati, 2010). Contoh pengelolaan lingkungan yang biasa dilakukan untuk menghilangkan tempat perindukan *A. aegypti*, misalnya menguras bak mandi secara berkala, menanam barang bekas yang dapat menampung air hujan, menutup rapat penampung air yang bersifat permanen. Contoh menghalangi kontak vektor dengan manusia dilakukan dengan memasang kelambu, mengatur suhu ruang, dan memberi sekat angin pada pintu masuk ruangan. Cara-cara ini memang dianggap lebih aman dan terciptanya lingkungan yang sehat dan hidup bersih, tetapi membutuhkan partisipasi dan kesadaran masyarakat berkesinambungan dan terus menerus (Kemenkes RI, 2016).

Pengendalian hayati dengan memanfaatkan interaksi antara vektor dengan makhluk hidup lainnya yang secara alamiah biasa terjadi di alam semesta, baik interaksi vektor dengan golongan mikroorganisme, hewan invertebrata, atau hewan vertebrata (Salamun, 1998). Interaksi antara golongan makhluk hidup tersebut terjadi melalui mekanisme patogenitas, parasitisme, atau mangsa-pemangsa. Contoh hubungan mangsa-pemangsa, antara larva *A. aegypti* dengan ikan kepala timah (*Panchax panchax*) dan hubungan parasitisme antara Nematoda *Romanomermis iyengari* dengan larva *A. aegypti*. Beberapa golongan virus, bakteri, fungi, atau protozoa juga dapat dikembangkan sebagai patogen terhadap larva *A. aegypti*. Sebagai kompetitor virus DBD, telah digunakan bakteri *Wolbachia* yang dimasukkan ke dalam nyamuk *A. aegypti* dan dilepas ke lapangan (Soares, 2016).

Pengendalian genetik telah banyak dilakukan percobaan dan diterapkan di lapangan, misalnya dengan teknik jantan mandul, yaitu dengan melepas sejumlah besar nyamuk jantan yang sudah disterilkan melalui rekayasa genetika (Blasberg *et al.*, 2016). Nyamuk betina hanya kawin satu kali seumur hidupnya, sehingga jika dikawini oleh nyamuk jantan steril, maka tidak akan menghasilkan keturunan yang fertil.

Berbagai cara pengendalian vektor tersebut di atas, ternyata tidak ada satupun cara yang memuaskan jika dilakukan masing-masing secara terpisah. Dalam usaha penurunan populasi vektor pada tingkat di bawah ambang kendali dapat dilakukan dengan konsep pengendalian terpadu, yaitu dengan menerapkan semua cara sesuai dengan situasi dan

kondisi biologis, bionomik, ekologis vektornya, serta harus mempertimbangkan keuntungan dan kerugian baik dalam hal biaya dan pengaruhnya terhadap kualitas lingkungan hidup (Kemenkes RI, 2016).

2.3. Entomopatogen *Bacillus* sp.

Jenis jenis bakteri *Bacillus* sp. merupakan salah satu bakteri tanah yang jumlahnya melimpah, berkisar antara 10^6 hingga 10^7 sel tiap gram tanah (Alexander, M., 1977; Paul, 2007). Selain dapat ditemukan di tanah, jenis bakteri *Bacillus* sp. juga banyak diisolasi dari air dan tubuh hospes yang terinfeksi. Isolasi jenis bakteri anggota *Bacillus* sp. dari tanah dilakukan dengan teknik khusus, yaitu dengan memanaskan sampel tanah antara 65 hingga 80 °C selama 30 menit dengan maksud untuk memacu pembentukan endospora, sedangkan sel-sel bakteri yang tidak tahan panas dan tidak membentuk endospora akan mati, medium untuk pertumbuhan yang digunakan untuk isolasi adalah NYSP (Suryadi *et al.*, 2016).

B. thuringiensis yang mempunyai aktivitas bioinsektisidal, pertama kali ditemukan oleh ilmuwan Jepang Ishiwata tahun 1901, kemudian berikutnya ilmuwan Jerman Berliner tahun 1915, dan hasil temuan tersebut mempunyai andil besar di bidang program pengendalian hama tanaman (Balaraman and Pillai, 1990). Pada periode berikutnya Kellen dan kawan-kawan di tahun 1965, melaporkan bahwa *Bacillus sphaericus* yang mempunyai aktivitas bioinsektisidal pertama kali diisolasi dari larva instar IV *Culiceta insidens*, di California USA (Balaraman dan Pillai, 1990). Sejak ditemukan *B. thuringiensis* var. *israelensis* serotipe H-14 oleh Golberg dan Margalit (1977) di Israel dan terbukti mempunyai aktivitas bioinsektisidal terhadap larva nyamuk, akhir-akhir ini usaha terhadap pencarian bakteri *B. thuringiensis* lokal masih banyak dilakukan di Asia termasuk Indonesia.

Pusat Penelitian Pengendalian Vektor (VCRC) di India, telah menemukan beberapa isolat lokal yang mempunyai aktivitas insektisidal terhadap larva nyamuk *Culex quinquefasciatus*. Dua di antara isolat yang telah berhasil dikembangkan adalah *B. thuringiensis* H-14 (VCRC B17) yang kemudian dikemas dengan nama dagang Deltafix™ dan *B. sphaericus* H-5a5b (VCRC B42) yang dikemas dengan nama dagang Sphrefix™ (Balaraman dan Pillai, 1990). Di Malaysia Lee dan Seleena (1990), mengambil sampel 725 yang dikoleksi dari habitat bakteri, telah berhasil menemukan beberapa jenis bakteri yang

mempunyai aktifitas larvisidal, seperti *B. thuringiensis* H-14, *B. sphaericus* H-5a5b, dan *B. sphaericus* H-25, serta spesies lokal, yaitu *B. thuringiensis* susp. *malaysianensis*. Bakteri lokal tersebut dilaporkan mempunyai potensi sebesar 1,71, 1,4, dan 1,62 kali berturut turut terhadap larva nyamuk *A. aegypti*, *Culex quinquefasciatus*, dan *Anopheles maculatus*, jika dibandingkan dengan *B. thuringiensis* subsp. *israelensis* (Lee and Seleena, 1990).

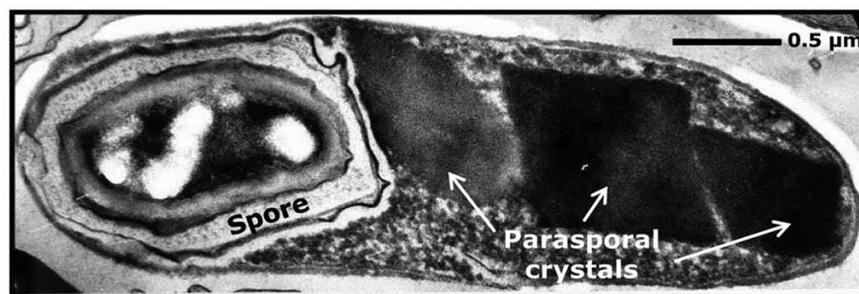
El-kersh, *et al.* (2016), telah mengisolasi dan melakukan karakterisasi strain lokal *B. thuringiensis* yang berasal dari Saudi Arabia dan sejumlah 68 isolat mempunyai toksisitas larvisidal terhadap nyamuk *Anopheles gambiae* vektor penyakit malaria, isolat *B. thuringiensis* strain 63 toksisitas larvisidalnya paling tinggi dan potensial dikembangkan sebagai pengendali hayati nyamuk vektor penyakit di masa mendatang. Ammouneh *et al.* (2011) juga telah berhasil mengisolasi dan melakukan karakterisasi strain lokal *B. thuringiensis* yang berasal dari tanah di Syria yang berpotensi dapat dikembangkan sebagai bioinsektisida terhadap serangga hama.

Mardihusodo *et al.* (1991) mengawali penelitian di Indonesia, meneliti 203 sampel yang dikoleksi dari 25 ekor larva nyamuk, 92 tanah, 86 air di satu lokasi daerah Jawa Timur, 3 lokasi daerah Istimewa Yogyakarta, dan 6 lokasi daerah Jawa Tengah, telah berhasil menemukan 4 isolat genus *Bacillus* yang mempunyai aktivitas insektisidal. Keempat isolat tersebut adalah *Bacillus cereus* (142), *Bacillus pumilus* (25C), dan *B. sphaericus* (23A dan 51C), aktivitas larvisidal masing masing basili masih jauh lebih rendah bila dibandingkan dengan aktivitas *B. thuringiensis* H-14 pembanding (Teknar^R). Dilaporkan juga bahwa dalam waktu 24 jam, *B. thuringiensis* H-14 telah membunuh 100% larva uji *Culex quinquefasciatus*, sedangkan ke-4 isolat lokal tersebut dalam waktu 48 jam mematikan larva uji hanya sebesar 52,5 sampai dengan 70% saja.

B. thuringiensis dan *B. sphaericus* lokal di Indonesia juga telah banyak diisolasi dan berpotensi sebagai pengendali hayati vektor penyakit dari golongan serangga Diptera. Muharsini dkk. (2003) telah mengisolasi dan karakterisasi *B. thuringiensis* lokal yang berpotensi sebagai bioinsektisida pengendali hayati terhadap *Chrysomya bezziana* lalat penyebab myasis, dari daerah di Jawa dan Sulawesi Selatan. Pratiwi dkk. (2013) melakukan isolasi dan uji toksisitas *B. thuringiensis* asal kota Nganjuk yang berpotensi sebagai larvisidal terhadap *A. aegypti*. Blondine (2013) juga telah melakukan uji efikasi galur lokal *B. thuringiensis* H-10 terhadap jentik nyamuk *A. aegypti* dan *A. aconitus*. Suryadi *et al.* (2016) telah mengisolasi dan karakterisasi *B. sphaericus* yang berpotensi

sebagai bioinsektisida pengendali hayati terhadap nyamuk vektor penyakit Malaria *A. aconitus* dari pulau Lombok.

B. thuringiensis adalah bakteri bentuk-batang, gram-positif, dapat bergerak, lebar 1,0-1,5 mikro meter, sporangium tidak membengkak dengan spora bentuk silindris, badan parasporal atau kristal protein berbentuk sferis, dapat menggunakan gula-gula untuk meningkatkan pertumbuhannya di samping harus ada sumber makanan lain berupa protein dan asam amino sebagai sumber utama karbon dan nitrogen (WHO, 1979). *B. sphaericus* adalah bakteri bentuk batang, gram-variabel, dapat bergerak, panjang 1,5 mikro meter dan 0,6 mikro meter. Sporangium membengkak di posisi ujung dengan spora bulat (sferis), bersifat aerobik, membentuk badan parasporal kecil, tidak mereduksi nitrat, tidak meragi glukosa atau gula-gula lain, tetapi menggunakan asam-asam amino sebagai sumber karbon dan nitrogen (WHO, 1980). Struktur *Bacillus thuringiensis* pada Gambar 1. berikut.



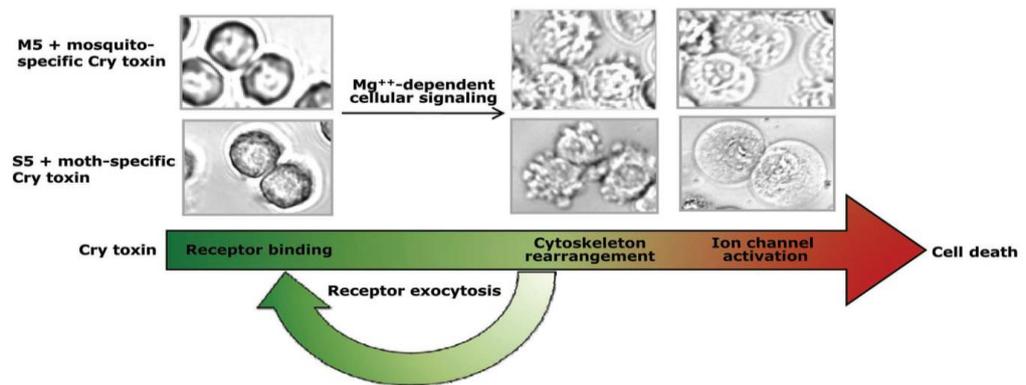
Gambar 1. *Bacillus thuringiensis* subsp. *morrisoni* strain C18, Spora dan *Parasporal Crystals* tampak Jelas (TEM x 44.000), Sumber : Ibrahim *et al.*, 2010.

B. thuringiensis H-14 bukan penyakit infeksi pada larva nyamuk, tetapi mengandung toksin yang jika ditelan oleh larva nyamuk, toksin dapat menyebabkan kematian (Ibrahim *et al.*, 2010). Toksin *B. thuringiensis* diproduksi selama proses sporulasi, dan berupa endotoksin karena selama proses sporulasi toksin disimpan di dalam spora atau inklusi parasporal. Bahan aktif yang mempunyai aktifitas larvisidal tersebut adalah delta-endotoksin, suatu protein yang ada di inklusi parasporal pada *B. thuringiensis* H-14 (Bahagiawati, 2002). Dalam tubuh serangga, protein delta-endotoksin yang mempunyai aktivitas larvisidal bersifat sebagai protoksin dan menjadi toksin aktif setelah dipengaruhi oleh cairan proteolitik yang ada di tengah usus larva sasaran (Bahagiawati, 2002). Pada *B.*

thuringiensis H-14, protoksin tersebut berupa protein sub-unit tunggal dengan berat molekul 134 kD, dan pada pH alkalis serta kondisi enzim yang sesuai di usus tengah larva sasaran, dengan cepat diubah menjadi sub-unit yang lebih kecil dan lebih toksik, menjadi toksin aktif dengan berat molekul 25 kD dan enzim aktivatornya adalah alkaline protease (Ibrahim *et al.*, 2010). Protoksin *parasporal crystal* (*Cry*) menempel pada reseptor *cadherin like-protein* dari membran sel usus tengah larva serangga dan bersifat spesifik terhadap serangga golongan Diptera, Lepidoptera, dan Coleoptera (Ibrahim *et al.*, 2010). Laporan lebih lanjut menunjukkan bahwa paling sedikit ada 4 fraksi protein pada inklusi parasporal atau spora yang sudah diketahui baik pada *B. thuringiensis* H-14 maupun *B. sphaericus*. Empat fraksi protein tersebut adalah komponen polipeptida dengan berat molekul 28, 68, 125, dan 135 kD pada *B. thuringiensis* H-14 dan 42, 51, 110, dan 125 kD pada *B. sphaericus* (Ibrahim *et al.*, 2010).

Kerja toksin *B. thuringiensis* H-14 dan *B. sphaericus* terhadap larva Diptera telah diketahui dengan jelas, setelah toksin aktif terbentuk dan menempel pada epitel usus tengah larva, maka epitel usus terganggu pengaturan permeabilitasnya. Gangguan terjadi pada transpor ion lintas membran karena adanya ikatan antara protein dengan permukaan mikrofili usus tengah larva (Ibrahim, *et al.*, 2010). Toksin aktif dengan bobot molekul yang lebih kecil yang terbentuk di usus tengah larva tetap stabil terhadap cairan proteolitik berikutnya, dan menyebabkan histopatologis pada epitel usus tengah larva yang sama baik dari toksin *B. thuringiensis* H-14 maupun *B. sphaericus*, hanya kecepatan kerjanya yang berbeda.

Toksin *B. thuringiensis* H-14 bekerja sangat cepat, hanya beberapa menit larva mati setelah pendedahan, sedangkan toksin *B. sphaericus* bekerja lebih lambat, larva mati beberapa jam setelah pendedahan (Ibrahim, *et al.*, 2010). Larva instar II (L2) selama 2 jam terpapar toksin dengan dosis lethal 50% (5 mikro gram per-ml), sel sel epitel usus tengah mengalami hipertropi, terpisah satu dengan lainnya, sel lisis, dan mengelupas dari membrana basalisnya, sehingga larutan alkalis dari usus tengah masuk ke rongga darah dan menyebabkan kematian larva (Bahagiawati, 2002). Mekanisme kerja toksin *Cry* dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Perubahan Morfologis Sel akibat Toksin Cry,
 Keterangan : M5, *High-Five Cells*; S5, *S5 Cells*
 Sumber : Ibrahim, *et al.* (2010)

Perbedaan aktifitas antara *B. thuringiensis* H-14 dengan *B. sphaericus* terhadap larva sasaran juga telah dilaporkan. *B. thuringiensis* H-14 lebih aktif terhadap larva *Aedes*, sedangkan *B. sphaericus* 1593 lebih aktif terhadap larva *Culex* (Mardihusodo, 1991). Perbedaan sensitivitas larva terhadap kedua bioinsektisida tersebut terjadi karena adanya perbedaan reseptor pada usus tengah larva, dilaporkan juga bahwa pengurangan sensitivitas larva terhadap toksin berhubungan dengan jumlah reseptor yang ada di sel sel usus tengah larva. Sehingga ada gagasan dilakukan fusi sel antara *B. thuringiensis* dengan *B. sphaericus* atau dengan rekayasa genetika toksin Cry yang hasilnya diharapkan berupa galur baru atau gabungan sifat-sifat toksin yang diinginkan dari basili tersebut (Ibrahim *et al.*, 2010).

Beberapa bentuk formulasi *B. thuringiensis* H-14 telah berhasil diproduksi, seperti bentuk tepung (*pouder*), tepung lembab (*wettable pouders*), cairan (*liquits*), granula (*granuls*), briket (*briquettes*), dan pelet (*pellets*). Bentuk bentuk formulasi tersebut mempunyai spesifikasi daya tahan terhadap faktor lingkungan yang berbeda beda, sehingga dapat dipilih formulasi yang dianggap paling sesuai untuk kondisi lingkungan tertentu (Bahagiawati, 2002). *B. sphaericus* H-5a5b (VCRC B-42) bentuk bubuk yang diproduksi oleh *Vector Controle Research Centre* (VCRC) India terbukti patogen terhadap larva *Culex quinquefasciatus* yang ada di Indonesia (Salamun, 1996). Larva *A. aegypti* L. yang dikolonisasikan di Surabaya, juga terbukti sensitif terhadap *B. thuringiensis* H-14 hasil isolasi di Israel dan *B. sphaericus* H-5a5b hasil isolasi di India (Salamun, 1998). Uji coba

kemampuan bertahan (residu) toksisitas bakteri *B. thuringiensis* H-14 dan *B. sphaericus* H-5a5b formula bubuk dari VCRC India, baik tunggal maupun komparasi terhadap larva *A. aegypti* di macam macam tipe TPA buatan juga pernah dilakukan (Salamun, dkk. 1994; Salamun, 1995; Salamun, 2000). *B. thuringiensis* H-14 bentuk bubuk (tepung) digunakan di bawah kondisi lapangan, aktivitas larvisidalnya menjadi lebih pendek bila dibandingkan dengan hasil ujinya di laboratorium. Tampaknya hal ini terjadi karena adanya : (1) degradasi kimiawi dan fisik di bawah kondisi lapangan ; (2) konsumsi dan destruksi toksin oleh larva nyamuk dan invertebrata lainnya; (3) pengendapan toksin menjadi sedimen sehingga menghilang dari zona makan (*feeding zone*) larva nyamuk (Bahagiawati, 2002). Laporan lain menunjukkan bahwa efek residual bioinsektisida dipengaruhi oleh (1) kualitas air di tempat perindukan nyamuk termasuk kadar garam kandungan zat organik zat makanan dan laju penelanan oleh larva dan kadar oksigen; (2) larva sasaran, termasuk jenis dan densitas larva; (3) larvisida termasuk jenis atau varietas patogen, bentuk formulasi, dan dosis yang digunakan; (4) tempat penampungan air (TPA) termasuk bahan dan macam endapan; dan (5) faktor lingkungan lain, termasuk iklim dan kondisi sinar matahari.

Boys *et al.* (2013), telah mengumpulkan hasil penelitian yang menggunakan berbagai formula bioinsektisida berbahan baku *B. thuringiensis* untuk pengendalian vektor DBD di berbagai negara. Berbagai formula yang telah digunakan di berbagai negara, telah terbukti dapat menurunkan angka kejadian penyakit DBD setelah bioinsektisida tersebut diterapkan di lapangan.

BAB 3

METODE PENELITIAN

Prosedur dalam penelitian ini dilakukan seperti yang telah dilakukan oleh Suryadi *et al.* (2016), yang telah berhasil mengisolasi dan melakukan karakterisasi bakteri jenis *B. sphaericus* dari kawasan pantai Pulau Lombok, terbukti entomopatogen terhadap larva nyamuk *Anopheles* sp. sebagai vektor Malaria. Namun pada penelitian ini target karakterisasi dan uji potensi adalah entomopatogen lokal bakteri jenis *Bacillus* sp. dan serangga target adalah larva *A. aegypti* sebagai vektor DBD. Kedua jenis dari *Bacillus* sp. tersebut habitatnya di tanah, sementara kedua vektor mempunyai habitat dan tempat perindukan yang berbeda. Diagram alur penelitian pengembangan bioinsektisida pada Gambar 3, sebagai berikut.

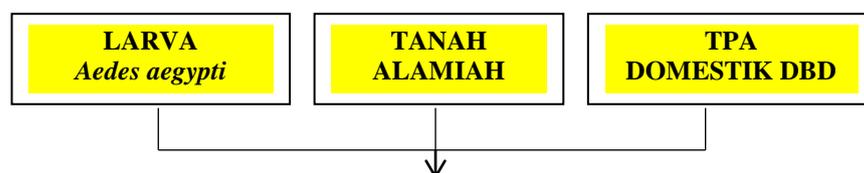
3.1. Kolonisasi Larva Uji

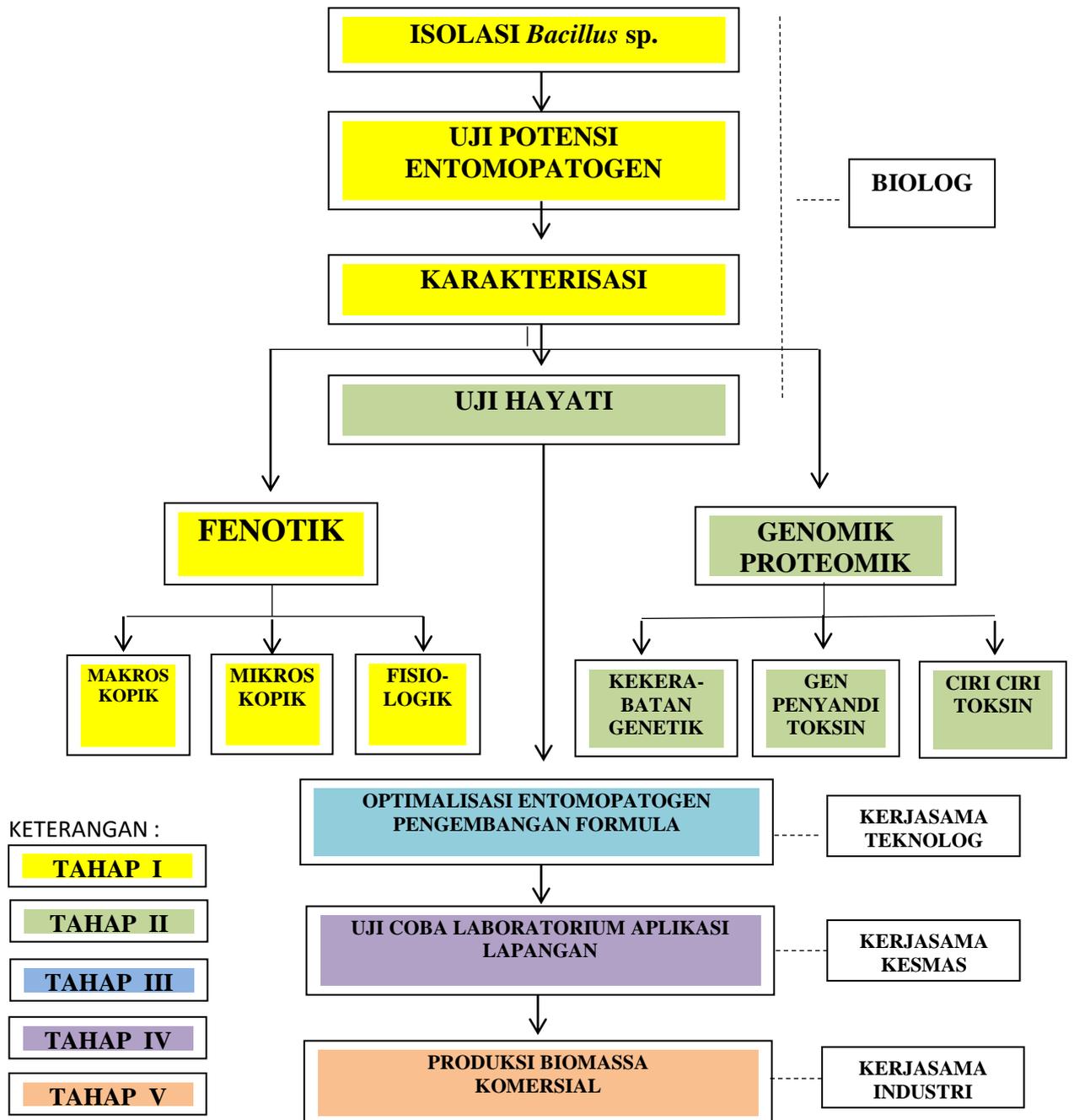
Telur *A. aegypti* berasal dari nyamuk yang dipelihara secara intensif di fasilitas pemeliharaan di Laboratorium Entomologi ITD (*Institut Tropical Diseases*) Universitas Airlangga Surabaya. Telur *A. aegypti* direndam dalam air sumur untuk penetasan dan kolonisasi larva uji. Larva yang dihasilkan dari penetasan telur dipelihara selama 6 hari untuk mencapai tahap larva instar III.

3.2. Isolasi *Bacillus* sp.

3.2.1. Pengambilan Sampel

Sampel tanah diambil dari bekas genangan air tempat perindukan nyamuk, di ambil dari 3 lokasi di area Taman Nasional Baluran Banyuwangi. Area Pantai Bama sebanyak 10 sampel tanah, area Pesanggerahan Bekol sebanyak 10 sampel tanah, dan Batangan 10 sampel. Sampel endapan TPA di tempat perindukan nyamuk *A. aegypti* sebanyak 30 sampel dipilih TPA yang ada di daerah endemik DBD di Surabaya 10 sampel, Gresik 10 sampel, dan Sidoarjo 10 sampel. Sampel larva sebanyak 30 diambil dari tempat perindukan di daerah endemik DBD di Surabaya 10 sampel, Gresik 10 sampel, dan Sidoarjo 10 sampel.





Gambar 3. Skema Rencana Tahapan Penelitian Pengembangan Bioinsektisida Lokal terhadap Vektor DBD

3.2.2. Isolasi *Bacillus* sp.

Sampel tanah alamiah, endapan TPA, dan larva *A. aegypti* yang dikumpulkan dari hasil sampling, kemudian dihomogenisasi dengan larutan garam fisiologis steril. Suspensi dipanaskan pada suhu 80 °C selama 30 menit dan kemudian dibiakkan ke NYSM (*Nutrient Yeast Extract Salt Medium*), media padat ditambah antibiotik. Koloni yang tumbuh ditandai dan diteruskan untuk uji potensi awal terhadap larva *A. aegypti*. Isolat dengan angka kematian larva lebih dari 50% membunuh larva uji, diteruskan uji potensi lanjutan terhadap larva *A. aegypti*.

3.3. Uji Potensi Isolat Lokal *Bacillus* sp.

Dilakukan pengujian awal untuk mengamati potensi toksisitas isolat lokal *Bacillus* sp., setelah dilakukan peremajaan kultur bakteri hasil isolasi dari lapangan. Prosedur pengujian diawali dengan menumbuhkan isolat dalam medium cair NYSM pada 30 °C selama 72 jam dengan 170 rpm. Tiga puluh larva *A. aegypti* (30 larva di 3 kontainer) dimasukkan ke dalam 10% v/v isolat *Bacillus* sp. hasil isolasi yang telah ditumbuhkan pada media cair NYSM. Kematian larva pada setiap uji dan setiap replikasi diamati dan kemudian dihitung nilai rata-rata angka kematian larva.

3.4. Karakterisasi Fenotik

Karakterisasi bakteri isolat yang terbukti potensial tinggi dari hasil uji potensi, dilakukan untuk mengetahui ciri Fenotik. Ciri Fenotik ditentukan melalui ciri morfologis maupun fisiologis. Ciri morfologis diamati melalui morfologi koloni, struktur sel, dan bentuk endospora dan posisinya melalui pengecatan Gram dan pengecatan Spora dengan menggunakan mikroskop cahaya untuk mengetahui struktur mikroskopisnya. Ciri-ciri fisiologis dilakukan dengan uji katalase, hidrolisis amilum, reduksi nitrat, pemakaian gula, indol, H₂S, urease, oksidase, hidrolisis casein dan aerobilitas, dan uji tambahan lainnya.

3.5. Analisis Data

Data yang diperoleh dari penelitian ini adalah data isolat dan sifat-sifat *Bacillus* sp., yaitu hasil isolasi, karakterisasi Fenotik, dan hasil uji potensi terhadap larva *A. aegypti*. Data hasil isolasi dan karakterisasi Fenotik akan dianalisis menggunakan statistik deskriptif. Data karakteristik makroskopis, mikroskopis, dan fisiologis isolat *Bacillus* sp. kemudian diidentifikasi dengan buku acuan *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 2nd ed Volume Three*.

Hasil yang didapatkan dari pengamatan morfologis dan fisiologis bakteri *Bacillus* sp. yang potensial dipergunakan untuk menentukan persentase koefisien sebanding (Ss) yang mencakup kesamaan positif dan negatif dari karakter masing-masing spesies bakteri dari genus *Bacillus* (Stainer *et al.*, 1986). Perhitungan persentase koefisien sebanding (Ss) yaitu:

$$Ss = \frac{a+d}{a+b+c+d} \times 100\%$$

Keterangan:

Ss = Koefisien sebanding

a = Jumlah ciri positif pada kedua galur bakteri

b = Jumlah ciri positif pada galur 1 dan jumlah ciri negatif pada galur 2 bakteri

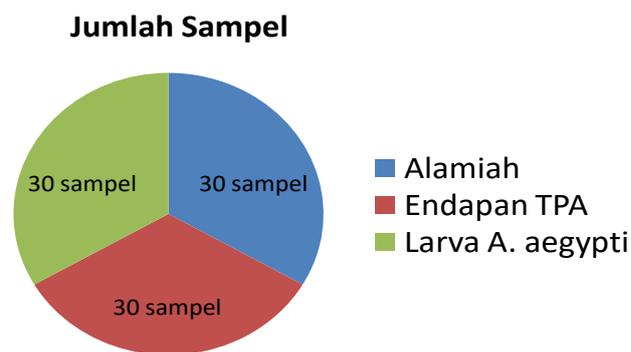
c = Jumlah ciri negatif pada galur 1 dan jumlah ciri positif pada galur 2 bakteri

d = Jumlah ciri positif pada kedua galur bakteri

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Hasil Penelitian

Pengambilan sampel dari berbagai tempat perindukan nyamuk *Aedes aegypti* telah dilakukan. Sampel tanah diambil dari bekas genangan air tempat perindukan nyamuk diambil dari 3 lokasi di area Taman Nasional (T.N.) Baluran Banyuwangi. Area Pantai Bama sebanyak 10 sampel tanah, area Pesanggerahan Bekol sebanyak 10 sampel tanah dan area Batangan 10 sampel. Sampel endapan Tempat Penampung Air (TPA) di tempat perindukan nyamuk *A. aegypti* sebanyak 30 sampel dipilih TPA yang ada di daerah endemik DBD di Surabaya 10 sampel, Gresik 10 sampel, dan Sidoarjo 10 sampel. Sampel larva *A. aegypti* sebanyak 30 sampel diambil dari tempat perindukan di daerah endemik DBD di Surabaya 10 sampel, Gresik 10 sampel, dan Sidoarjo 10 sampel. Hasil pengambilan sampel di rangkum pada Gambar 4. berikut di bawah ini.



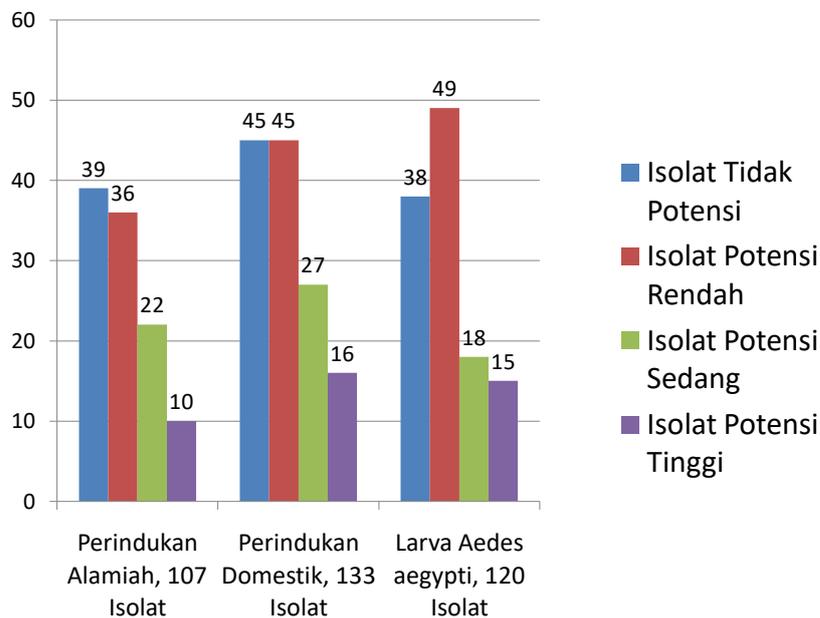
Keterangan : Alamiyah dari T.N. Baluran (Bama, Bekol, Batangan)
Endapan TPA (Surabaya, Gresik, Sidoarjo),
Larva *A. aegypti* (Surabaya, Gresik, Sidoarjo)

Gambar 4. Hasil Pengambilan Sampel dari Tempat Perindukan Alamiyah, Domestik (Endapan TPA), dan Larva *Aedes aegypti*

Isolasi bakteri entomopatogen lokal *Bacillus* sp. dari lingkungan alamiah T.N. Baluran, tempat perindukan nyamuk (endapan TPA), dan larva *A. aegypti* vektor DBD telah dilakukan, yaitu :

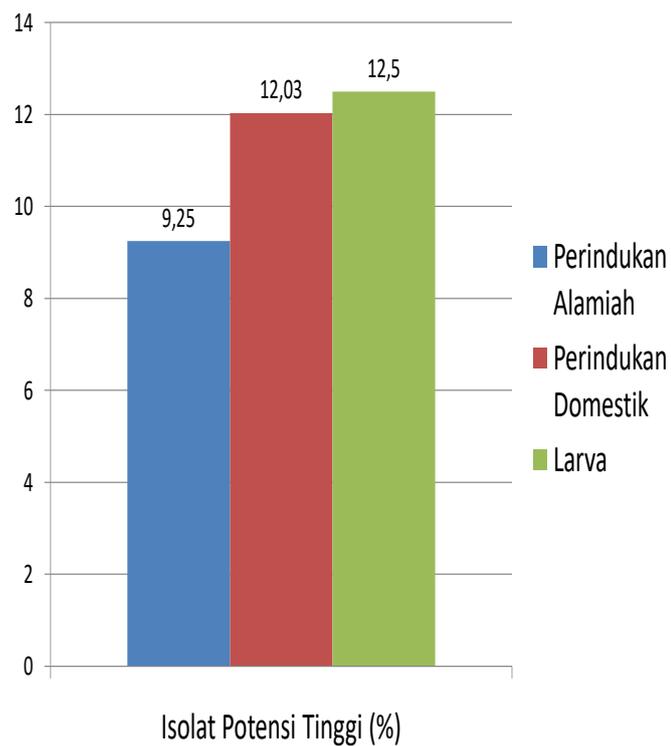
- a. Isolasi dari tanah alamiah di Taman Nasional Baluran, mendapatkan 107 isolat,
- b. Isolasi dari endapan TPA tempat perindukan domestik nyamuk vektor DBD, mendapatkan 133 isolat, dan
- c. Isolasi dari larva nyamuk *Aedes aegypti* di tempat perindukan domestik vektor DBD, mendapatkan 120 isolat.

Hasil isolasi tersebut di atas, masing-masing isolat dilakukan uji potensi awal terhadap larva *A. aegypti*. Hasil uji potensi awal isolat secara rinci dapat dilihat pada Gambar 5. berikut di bawah ini.



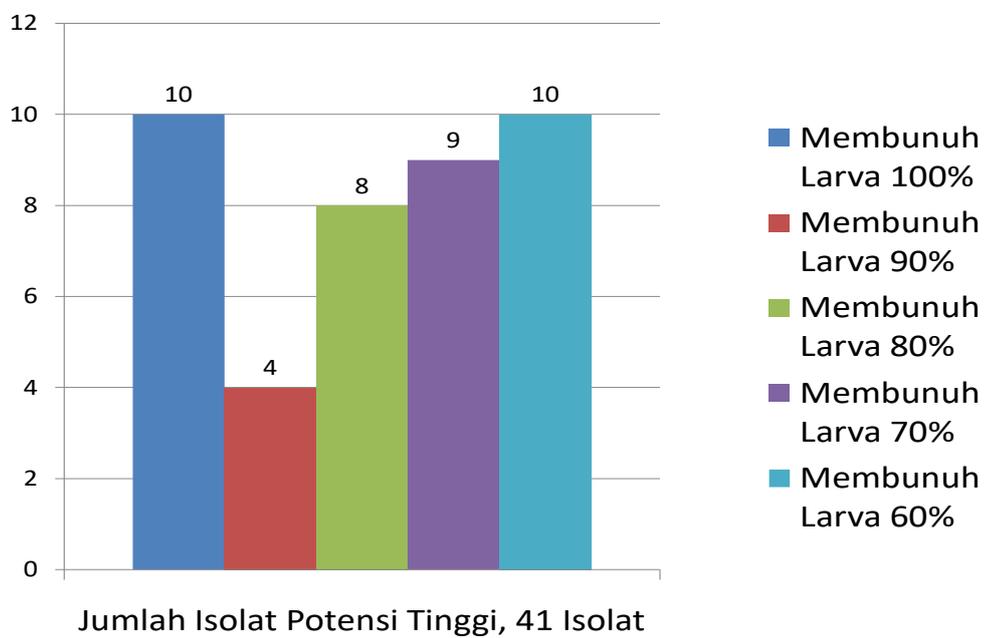
Gambar 5. Hasil Isolasi Bakteri Entomopatogen Lokal *Bacillus* Sp. dari Perindukan Alamiah, Perindukan Domestik, dan Larva, serta Hasil Uji Potensinya Sebagai Biolarvasida terhadap Larva Instar III *Aedes aegypti*

Hasil uji potensi awal isolat terhadap larva *A. aegypti*, yang diperoleh tersebut dikelompokkan menjadi isolat berpotensi rendah, isolat berpotensi sedang, dan isolat berpotensi tinggi. Sampel tanah dari T.N. Baluran mendapatkan 9,25% isolat berpotensi tinggi, sampel dari endapan TPA mendapatkan 12,03% isolat berpotensi tinggi, dan sampel dari larva *A. aegypti* mendapatkan 12,50% isolat berpotensi tinggi, dapat dilihat pada Gambar 6. Berikut di bawah ini.



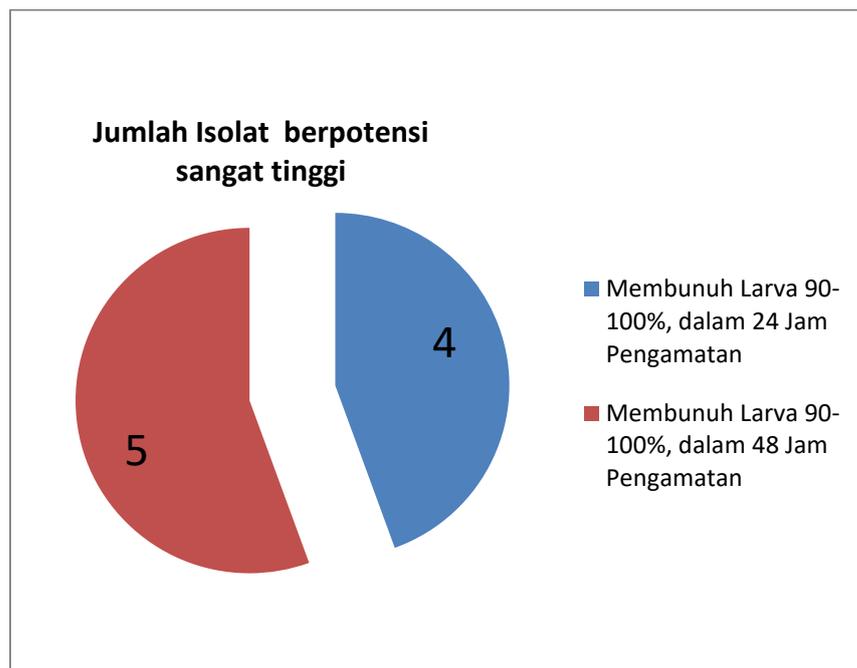
Gambar 6. Bakteri Entomopatogen Lokal *Bacillus* sp. yang Berpotensi Tinggi (%) sebagai Biolarvasida terhadap Larva *Aedes Aegypti*, diisolasi dari Lingkungan Alamiah, Endapan TPA, dan Larva *A. Aegypti*

Dari hasil uji potensi awal isolat *Bacillus* sp. didapatkan sebanyak 41 isolat yang merupakan *Bacillus* sp. entomopatogen dengan tingkat potensi yang tinggi terhadap larva *A. aegypti*. Secara rinci hasil uji potensi awal isolat *Bacillus* sp. entomopatogen yang berpotensi tinggi dapat dilihat pada Gambar 7. sebagai berikut.



Gambar 7. Jumlah Isolat Bakteri Entomopatogen Lokal *Bacillus* sp. yang Berpotensi Tinggi (membunuh larva 60-100%) dari Hasil Uji Potensi Awal terhadap Larva *Aedes aegypti*

Hasil uji potensi awal terhadap larva *aedes aegypti*, isolat bakteri entomopatogen lokal *Bacillus* sp. yang berpotensi tinggi (membunuh larva 60-100%) adalah sebanyak 41 isolat, kemudian dilakukan uji potensi lanjutan dengan hasil 4 isolat dapat membunuh larva uji 90-100% pada pengamatan 24 jam dan 5 isolat dapat membunuh larva uji 90-100% pada pengamatan 48 jam. Hasil uji potensi lanjutan dapat dilihat pada Gambar 8. berikut.



Gambar 8. Jumlah Isolat Bakteri Entomopatogen Lokal *Bacillus* sp. yang Berpotensi Sangat Tinggi (membunuh larva 90-100%) dari Hasil Uji Potensi Lanjutan, terhadap Larva *Aedes aegypti*

Kode isolat dari *Bacillus* sp. yang potensial sangat tinggi tersebut adalah BK5.2, BK7.1, BK7.2, EG6.4, ES7.3, ES4.3, LSD4.2, LS3.3, LS9.1. Hasil uji fisiologis terhadap sembilan isolat tersebut di atas dengan menggunakan *Microbact* 12A dan 12B serta ditambah beberapa uji fisiologis tambahan, hasilnya ditampilkan dalam Tabel 1. berikut.

Tabel 1. Karakteristik fisiologis isolat-isolat *Bacillus* sp. dari Taman Nasional Baluran, Endapan Tempat Penampung Air (TPA), dan Larva *Aedes aegypti*.

NO	Uji Fisiologis	Isolat <i>Bacillus</i> sp. (Kode)								
		BK 5.2	BK 7.1	BK 7.2	EG6.4	ES7.3	ES4.3	LSD4.2	LS3.3	LS9.1
1	Lysine	+	+	-	+	+	+	-	+	-
2	Ornithin	+	-	-	-	-	-	-	-	-
3	H ₂ S	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	Glucose	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	Mannitol	-	-	-	-	+	-	-	-	-
6	Xylose	-	-	+	-	-	+	-	+	+
7	ONPG	+	+	+	+	+	+	-	+	+
8	Indole	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	Urease	+	+	-	-	-	-	+	-	-
10	VP	+	+	+	+	+	+	+	+	+
11	Citrate	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	TDA	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13	Gelatin	+	+	+	+	+	+	+	+	+
14	Malonate	-	-	-	-	-	-	-	-	+
15	Inositol	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16	Sorbitol	-	-	-	+	-	-	-	-	-
17	Rhamnose	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18	Sucrose	-	-	-	+	+	-	-	-	-
19	Lactose	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20	Arabinose	+	+	+	+	+	+	-	+	+
21	Adonitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22	Raffinose	-	-	-	-	-	+	-	-	-
23	Salicin	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24	Arginin	-	-	-	+	-	-	-	-	-
25	Oksidase	-	-	-	-	-	-	+	-	-
26	Motilitas	+	+	+	+	+	+	+	+	+
27	Hidrolisis Amilum	+	-	+	+	+	+	+	+	+
28	Katalase	+	+	+	+	+	+	+	+	+
29	Reduksi Nitrat	+	+	+	+	+	+	+	+	+
30	Pertumbuhan pada NaCl 5%	+	+	+	+	+	+	-	+	+
31	Pertumbuhan pada NaCl 10%	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Keterangan: nilai positif (+) menunjukkan hasil uji positif dan nilai negatif (-) menunjukkan hasil uji negatif.

Persentase kesamaan didapatkan dari hasil perhitungan koefisien sebanding (Ss) mencakup kesamaan positif dan negatif antara karakter yang ada pada isolat dengan karakter pada spesies-spesies *Bacillus* yang terdapat pada buku acuan. Dari hasil perhitungan tersebut, nama spesies dari isolat hasil isolasi didapatkan dari presentase kesamaan yang paling tinggi antara satu spesies dengan spesies lainnya yang terdapat pada buku acuan. Pada hasil persentase kesamaan, menunjukkan bahwa nama isolat yang ditemukan memiliki nilai kesamaan yang berbeda-beda dengan *Bacillus sphaericus* dan merupakan *Bacillus thuringiensis*. Meskipun isolat-isolat tersebut memiliki kesamaan dalam nama spesies antara satu dengan isolat lainnya, akan tetapi masih terdapat beberapa perbedaan karakteristik, hal ini karena terdapat kemungkinan isolat tersebut merupakan *serotype* atau *strain* yang berbeda. Berdasarkan data hasil karakteristisasi dari isolat-isolat tersebut, terdapat persentase perbedaan karakteristik antara isolat-isolat dari hasil isolasi di tempat perindukan alamiah, perindukan domestik, dan larva *Aedes aegypti*. Hasil karakterisasi dari 9 isolat tersebut dapat dilihat pada Tabel 2. berikut.

Tabel 2. Karakterisasi Entomopatogen Lokal *Bacillus* sp. yang Berpotensi Tinggi (%) sebagai Biolarvasida terhadap Larva *Aedes Aegypti*, diisolasi dari Lingkungan Alamiah, Endapan TPA, dan Larva *A. Aegypti*

No.	Asal Isolat	Kode Isolat	Bahan untuk Karakterisasi	Ss	Nama Spesies
1	T.N. Baluran	BK5.2	Microbact 12A 12B ++	63,15 %	<i>Bacillus thuringiensis</i>
2	T.N. Baluran	BK7.1	Microbact 12A 12B ++	63,15 %	<i>Bacillus sphaericus</i>
3	T.N. Baluran	BK7.2	Microbact 12A 12B ++	63,15 %	<i>Bacillus thuringiensis</i>
4	Endapan Gresik	EG6.4	Microbact 12A 12B ++	80,60 %	<i>Bacillus thuringiensis</i>
5	Endapan Surabaya	ES7.3	Microbact 12A 12B ++	78,12 %	<i>Bacillus thuringiensis</i>
6	Endapan Surabaya	ES4.3	Microbact 12A 12B ++	71,40 %	<i>Bacillus sphaericus</i>
7	Larva Sidoarjo	LSD4.2	Microbact 12A 12B ++	82,60 %	<i>Bacillus sphaericus</i>
8	Larva Surabaya	LS3.3	Microbact 12A 12B ++	63,30 %	<i>Bacillus sphaericus</i>
9	Larva Sidoarjo	LS9.1	Microbact 12A 12B ++	62,50 %	<i>Bacillus thuringiensis</i>

Keterangan : *Microbact* 12A 12B ++ (Karakterisasi makroskopis, mikroskopis, dan fisiologis); Ss. (Koefisien Sebanding)

4.2. Pembahasan

Bakteri entomopatogen lokal *Bacillus* sp. yang berpotensi tinggi (%) dan dapat dikembangkan sebagai biolarvasida terhadap larva *A. Aegypti*, telah berhasil diisolasi dari tanah lingkungan alamiah Taman Nasional Baluran (9,25%), dari endapan TPA di Surabaya-Grasik-Sidoarjo (12,03%), dan larva *A. Aegypti* di Surabaya-Gresik-Sidoarjo (12,50%). Jenis jenis bakteri *Bacillus* sp. merupakan salah satu bakteri tanah yang jumlahnya melimpah, berkisar antara 10^6 hingga 10^7 sel tiap gram tanah (Alexander, M., 1977; Paul, 2007). Selain dapat ditemukan di tanah, jenis bakteri *Bacillus* sp. juga banyak diisolasi dari air dan tubuh hospes yang terinfeksi. Isolasi jenis bakteri anggota *Bacillus* sp. dari tanah dilakukan dengan teknik khusus, yaitu dengan memanaskan sampel tanah antara 65-80 °C selama 30 menit dengan maksud untuk memacu pembentukan endospora, sedangkan sel-sel bakteri yang tidak tahan panas dan tidak membentuk endospora akan mati, medium untuk pertumbuhan yang digunakan untuk isolasi adalah NYSP (Suryadi *et al.*, 2016).

Hasil uji potensi didapatkan sebanyak 41 isolat yang merupakan *Bacillus* sp. entomopatogen dengan tingkat potensi yang tinggi. Sementara isolat yang lain merupakan *Bacillus* sp. entomopatogen tingkat potensi rendah dan sedang. Perbedaan angka kematian larva uji tiap isolat dikarenakan *Bacillus* sp. yang diisolasi mempunyai keragaman sifat patogenik terhadap larva *A. aegypti*. Potensi toksisitas dari kristal protein (δ -endotoksin) *Bacillus thuringiensis* juga dipengaruhi oleh kelarutan, afinitas terhadap reseptor dan pemecahan protoksin menjadi toksin (Swadener, 1994). Efektivitas *Bacillus thuringiensis* juga dipengaruhi oleh instar larva nyamuk, makanan, periode pemaparan, kualitas air, strain bakteri, suhu air, adanya toksin pada substrat dan perilaku makan larva (Dambach, *et al.*, 2014). Penemuan bakteri entomopatogenik pada suatu saat tertentu dipengaruhi oleh banyak faktor antara lain, hujan dan erosi, epizootic dan enzootic, sehingga ada kemungkinan pada suatu waktu ditemukan bakteri entomopatogenik di suatu tempat tertentu tetapi pada saat lain tidak dapat ditemukan lagi dan sebaliknya.

Bacillus thuringiensis dan *B. sphaericus* lokal di Indonesia juga telah diisolasi dan berpotensi untuk dikembangkan sebagai pengendali hayati vektor penyakit dari golongan serangga Diptera. Muharsini dkk. (2003) telah mengisolasi dan melakukan karakterisasi *B. thuringiensis* lokal yang berpotensi sebagai biolarvasida pengendali hayati terhadap

Chrysomya bezziana lalat penyebab myasis, dari daerah di Jawa dan Sulawesi Selatan. Pratiwi dkk. (2013) melakukan isolasi dan uji toksisitas *B. thuringiensis* asal kota Nganjuk yang berpotensi sebagai biolarvisida terhadap *A. aegypti*. Blondine (2013) juga telah melakukan uji efikasi galur lokal *B. thuringiensis* H-10 terhadap jentik nyamuk *A. aegypti* dan *A. aconitus*. Suryadi *et al.* (2016) telah mengisolasi dan melakukan karakterisasi *B. sphaericus* yang berpotensi sebagai bioinsektisida pengendali hayati terhadap nyamuk vektor penyakit Malaria *Anopheles aconitus* dari pulau Lombok. El-kersh, *et al.* (2016), telah mengisolasi dari 300 sampel tanah dan melakukan karakterisasi strain lokal *B. thuringiensis* yang berasal dari Saudi Arabia dan sejumlah 68 isolat mempunyai toksisitas larvisidal terhadap nyamuk *Anopheles gambiens* vektor penyakit malaria, dan memberi saran bahwa isolat *Bacillus thuringiensis* strain 63 toksisitas larvisidalnya paling tinggi dan potensial dikembangkan sebagai pengendali hayati nyamuk vektor penyakit di masa mendatang. Ammouneh *et al.* (2011) juga telah berhasil mengisolasi dan melakukan karakterisasi terhadap strain lokal *B. thuringiensis* yang berasal dari tanah di Syria yang berpotensi dapat dikembangkan sebagai bioinsektisida terhadap serangga hama pertanian.

Identifikasi secara konvensional dari sembilan isolat tersebut di atas (Tabel 2.) dilakukan dengan menggunakan koefisien sebanding (Ss) berdasarkan hasil pengamatan karakter fisiologis (*Microbact* 12A 12B) dan pengamatan karakter morfologis (karakter makroskopis dan karakter mikroskopis) menghasilkan kedekatan dengan dua spesies *Bacillus*, yaitu *Bacillus thuringiensis* dan *Bacillus sphaericus*. Hasil yang diperoleh tersebut belum dapat dikategorikan ke dalam dua bakteri tersebut secara pasti. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk memastikan nama spesies dengan identifikasi menggunakan 16S rRNA terhadap sembilan isolat tersebut. Rinanda (2011), menyatakan bahwa identifikasi bakteri menggunakan 16S rRNA memiliki tingkat spesifisitas dan sensitivitas yang tinggi, dimana penanda molekuler gen pengkode rRNA dipergunakan untuk penentuan taksonomi, filogeni, serta jarak keragaman antar spesies dari bakteri.

BAB 5. **KESIMPULAN DAN SARAN**

5.1. Kesimpulan

1. Bakteri entomopatogen lokal *Bacillus* sp. yang berpotensi sebagai biolarvasida terhadap larva *Aedes aegypti* dapat diisolasi dari lingkungan alamiah, tempat perindukan nyamuk, dan larva *A. aegypti* vektor DBD.
 - a. Isolasi dari tanah alamiah di Taman Nasional Baluran, sebanyak 9,25 % isolat berpotensi tinggi sebagai biolarvasida terhadap larva *Aedes aegypti*.
 - b. Isolasi dari endapan tempat perindukan domestik (Endapan TPA) nyamuk vektor DBD, sebanyak 12,03 % isolat berpotensi tinggi sebagai biolarvasida terhadap larva *Aedes aegypti*.
 - c. Isolasi dari larva nyamuk *Aedes aegypti* di tempat perindukan domestik vektor DBD, sebanyak 12,50% isolat berpotensi tinggi sebagai biolarvasida terhadap larva *Aedes aegypti*.

2. Jumlah isolat bakteri entomopatogen lokal *Bacillus* sp. yang berpotensi tinggi (membunuh larva 60-100%) dari hasil uji potensi awal terhadap larva *Aedes aegypti* sebanyak 41 isolat, yaitu :
 - a. sebanyak 10 isolat dapat membunuh 100% larva uji,
 - b. sebanyak 4 isolat dapat membunuh 90% larva uji,
 - c. sebanyak 8 isolat dapat membunuh 80% larva uji,
 - d. sebanyak 9 isolat dapat membunuh 70% larva uji, dan
 - e. sebanyak 10 isolat dapat membunuh 60% larva uji.

3. Jumlah isolat bakteri entomopatogen lokal *Bacillus* sp. yang berpotensi sangat tinggi (membunuh larva 90-100%) dari hasil uji potensi lanjutan terhadap larva *Aedes aegypti* sebanyak 9 isolat, yaitu :
 - a. sebanyak 4 isolat dapat membunuh 90-100% larva uji pada pengamatan 24 jam dan
 - b. sebanyak 5 isolat dapat membunuh 90-100% larva uji pada pengamatan 48 jam.

4. Sembilan isolat bakteri entomopatogen lokal *Bacillus* sp. yang berpotensi tertinggi dari isolat asal TN. Baluran, endapan TPA, dan larva *A. aegypti*, setelah dilakukan karakterisasi Fenotik (karakter makroskopis, mikroskopis, dan fisiologis) adalah sebagai berikut.
- a. Isolat LSD4.2, mempunyai kesamaan 82,60 % dengan *Bacillus sphaericus*.
 - b. Isolat EG6.4, mempunyai kesamaan 80,60 % dengan *Bacillus thuringiensis*.
 - c. Isolat ES7.3, mempunyai kesamaan 78,12 % dengan *Bacillus thuringiensis*.
 - d. Isolat ES4.3, mempunyai kesamaan 71,40 % dengan *Bacillus sphaericus*.
 - e. Isolat LS3.3, mempunyai kesamaan 63,30 % dengan *Bacillus sphaericus*.
 - f. Isolat BK5.2, mempunyai kesamaan 63,15 % dengan *Bacillus thuringiensis*.
 - g. Isolat BK7.1, mempunyai kesamaan 63,15 % dengan *Bacillus sphaericus*.
 - h. Isolat BK7.2, mempunyai kesamaan 63,15 % dengan *Bacillus thuringiensis*.
 - i. Isolat LS9.1, mempunyai kesamaan 62,50 % dengan *Bacillus thuringiensis*.

5.2. Saran

Bakteri entomopatogen lokal *Bacillus* sp. yang mampu membunuh 100% larva uji dalam pengamatan waktu 24 jam, sangat potensial untuk dikembangkan sebagai biolarvasida, sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut sesuai tahapan penelitian berikutnya, yang telah direncanakan, dalam upaya pengembangan produk bioinsektisida.

DAFTAR PUSTAKA

- Alexander, M., 1977. *Introduction to Soil Microbiology*. Second Edition, John Wiley & Sons, New York, 467
- 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. *Turk. J. Agric. For.* 35 (2011) 421-431
- Bahagiawati, 2002. Penggunaan *Bacillus thuringiensis* sebagai Bioinsektisida. *Buletin AgroBio*. 5(1) : 21-28
- Balaraman ,R.E., J.S. Pillai, 1990. *Review of Biological Control Research at Vector Control Research Centre, Pondicherry*. Indian Council of Medical Research, New Delhi.
- Blasberg, M., H. Goos, and V. Hackenbroch, 2016. *Aedes aegypti* Mosquito, *Fighting the Most Dangerous Animal in the World*. WHO Spiegel Online.
- Blondine, Ch.P., 2013. Efikasi *Bacillus Thuringiensis* 2 Isolat Serotipe H-10 Galur Lokal terhadap Jentik Nyamuk *Aedes Aegypti* dan *Anopheles Aconitus*. *Jurnal Vektora* 5(1): 28-33
- Boyce, R., A. Lenhart, A. Kroeger, R. Velayudhan, B. Roberts and O. Horstick, 2013. *B. thuringiensis israelensis* for the Control of Dengue Vectors: Systematic Literature Review, *Trop. Med. and Int. Health* 18(5) : 564–577
- Candra, Aryu, 2010. Demam Berdarah Dengue: Epidemiologi, Patogenesis, dan Faktor Risiko Penularan. *Aspirator* 2(2) : 110 –119
- Dambach, P., Louis, V. R., Kaiser, A., Ouedraogo, S., Sie A., Sauerborn, A., and Becker, N. 2014. *Efficacy of Bacillus thuringiensis var. israelensis against Malaria Mosquitoes in Northwestern Burkina Faso*. *Parasites and Vectors*, 7:371.
- El-kersh, T.A., Ashraf M. Ahmed, Yazeed A. Al-sheikh, Frederic Tripet, Mohamed A. Ibrahim and Ali A. M. Metwalli, 2016. Isolation and Characterization of Native *Bacillus thuringiensis* strains from Saudi Arabia with enhanced Larvicidal Toxicity against the Mosquito Vector *Anopheles gambiae*. *Parasites & Vectors* 9: 1-14
- Goldberg, L.J. and J.Margalit, 1977. A Bacterial spore Demonstrating Rapid Larvicidal Activity Against *Anophels sergentii*, *Uranotaenia unguiculata*, *Culex univitattus*, *Aedes aegypti*, and *Culex pipiens*. *Mosq. News* 37 (3): 355-358
- Halstead, S.B., 1990. Global Epidemiology of Dengue Haemorrhagic Fever. *Shouteast Asian J. Trop. Med. Public Health* 21(4): 636-641
- Ibrahim, M.A., N. Griko, M. Junker and L.A. Bulla, 2010. *Bacillus thuringiensis*, A Genomics and Proteomics Perspective, *Bioengineered Bug* 1(1) :31-50
- Kemenkes RI, 2016. Situasi DBD di Indonesia. *Pusat Data dan Informasi Kesehatan RI*, Ditjen Pencegahan dan Penularan Penyakit, Kementerian Kesehatan RI, Jakarta, Indonesia.

- Lee, H.L and P. Seleena, 1990. Preliminary Field Evaluation of a Malaysian Isolate of *Bacillus thuringiensis* Serotype H-14 against *Culex pseudovishnui*. *Southeast Asian J. Trop. Med. Pub Heal.* 21(1): 143-144
- Mardihusodo, S.J., 1991. Sensitivitas Larva Nyamuk *Aedes aegypti* terhadap *Bacillus thuringiensis* H-14 dan *Bacillus sphaericus* 1593. *B. Kesehat. Masy.* 7(1): 44-49
- Mardihusodo, S.J., Mardhiyah, C.A. Baidlowi, 1979. Kemampuan Menetas Telur *Aedes aegypti*. Lembaga Penelitian, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Mardihusodo, S.J., M.A. Romas, J. Situmorang, dan M.M.I. Hajar, 1991. Isolasi dan Karakterisasi Basili Pembentuk Spora yang Patogenik terhadap Larva Nyamuk di Jawa. *B.I. Ked.* 23(2): 41-50
- Muharsini, S., April H. Wardhana, H. Rijzaani² dan B. Amirhusein. 2003. Karakterisasi Isolat *Bacillus thuringiensis* dari Beberapa Daerah di Jawa dan Sulawesi Selatan untuk Kontrol Biologi Lalat Myasis *Chrysomya bezziana*. *JITV* 8(4) :256-263
- Nurjana, M.A. dan A. Kurniawan, 2017. Preferensi *Aedes aegypti* Meletakkan Telur pada berbagai Warna Ovitrap di Laboratorium. *BALABA* 13(1) : 37-42
- Paul, A, 2007. *Soil Microbiology, Ecology, and Biochemistry*. Academic Press, Elsevier Inc. Burlington, USA
- Pratiwi, E.K., S. Samino, Z. Penata Gama, N. Nakagoshi, 2013. Uji Toksisitas *Bacillus thuringiensis* Asal Kota Nganjuk Terhadap Larva *Aedes aegypti*. *Jurnal Biotropika* 1(4) : 171-176
- Rahayu, D.F. dan A. Ustiawan, 2013. Identifikasi *Aedes aegypti* dan *Aedes albopictus*. *BALABA* 9(1) : 7-10
- Rinanda, T., 2011, Analisis Sekuensing 16S rRNA di Bidang Mikrobiologi, *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala*, **11**, 3
- Salamun, S.J. Mardihusodo, M.A. Romas, 1994. Recidual toxicity of *B. thuringiensis* H-14 (VCRC B-17) in Some Types of Breeding Places of *A. aegypti*. *Bulletin of Health Studies* 22(2): 63-66
- Salamun, 1995. Studi Komparatif Efek Residu *B. thuringiensis* H-14 dan *Bacillus sphaericus* terhadap Larva *A. aegypti* L. pada beberapa Tipe Tempat Penampung Air. *Buletin Penelitian Kesehatan* 23(4): 19-22
- Salamun, 1996. Toksisitas *B. sphaericus* H-5a5b (VCRC B-42) terhadap Larva *Culex quinquefasciatus*. *Berkala Penelitian Hayati*, 2(2)
- Salamun, 1998. Sensitivitas Larva *A. aegypti* L. terhadap *B. thuringiensis* H-14 dan *B. sphaericus* H-5a5b. *Majalah Kedok. Tropis Indonesia* 9(1-2): 19-24
- Salamun, 1998. Upaya Pemanfaatan Keaneragaman Agensia Hayati untuk Pengendalian Nyamuk Vektor. *Seminar Pengembangan Biodeversitas dalam Pembangunan Berkelanjutan*. Surabaya 3-4 Juni 1998
- Salamun, 2000. Masa Residu Efektif *B. thuringiensis* H-14 dan *B. sphaericus* H-5a5b serta Kombinasinya di Tempat Perindukan *Culex quinquefasciatus*, *Jurnal MIPA* 5(3)
- Salamun, 2000. Persistensi Toksisitas Bioinsektisida *Spherefix TM* pad beberapa Tipe Tempat Perindukan Nyamuk *A. aegypti* L., *Berkala Penelitian Hayati* 6(1).

- Salamun, 2004. Eksplorasi Bakteri Lokal yang Berpotensi sebagai Agen Hayati terhadap Larva Nyamuk Vektor, *Majalah Kedokteran Tropis Indonesia* 15(2)
- Soares, A.A., 2016. Promising New Tools to Fight Aedes Mosquitoes. *WHO Bulletin*, Vol. 94/8/16.
- Stanier, R.Y., Adelberg, E.A., dan Ingraham J.L., 1986, *The Microbial World 5th ed.* New Jersey: Prentice-Hall
- Soedarto, 2008. *Parasitologi Klinik*, Airlangga University Press, Surabaya.
- Sukowati, S., 2010. Masalah Vektor Demam Berdarah Dengue (DBD) dan Pengendaliannya di Indonesia. *Buletin Jendela Epidemiologi* 2 : 26-30
- Sumarmo, 1987. Dengue Haemorrhagic Fever in Indonesia. *Shoutheast Asian J. Trop. Med. Public Health* 18(3): 269-274
- Suryadi, B.F., B. Yanuwadi, T. Ardyati, Suharjono, 2016. Evaluation of Entomopathogenic *B. sphaericus* Isolated from Lombok Beach Area against Mosquito Larvae. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* 6(2): 148–154
- Swadener, C. 1994. *Bacillus thuringiensis*. *Journal of Pesticides Reform* vol. 14, No 3: 13-20.
- WHO, 1979. *Data Sheet on the Biological Control Agent, Bacillus thuringiensis* serotype H-14 (de Barjag 1978). World Health Organization, Geneva.
- WHO, 1980. *Data Sheet on the Biological Control Agent, Bacillus sphaericus* strain 1593. World Health Organization, Geneva.
- Yotopranoto, S., S. Subekti, Rosmanida, Salamun, 1998. Analisis Dinamika Populasi Vektor pada Lokasi dengan Kasus Demam Berdarah Dengue yang Tinggi di Kotamadya Surabaya, *Maj. Kedok. Tropis Indonesia* 9(1-2): 25-31
- Yotopranoto, S., Kusmartisnawati, K.C. Mulyatno, and H. Arwati, 2010. The Fluctuation of *Aedes aegypti* in Endemic Area of Dengue Hemorrhagic Fever in Surabaya City, Indonesia. *Ind. Jurnal Trop. Infec. Dis.* 1(2) : 60-64

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.

Anggaran Belanja yang Telah Dikeluarkan

No.	Jenis Pengeluaran	Biaya yang diperlukan (Rp.)
1	Bahan habis pakai dan peralatan	Rp. 13.052.320, 00
2	Perjalanan	Rp. 6.300.000,00
3	Pemeriksaan bahan	Rp. 18.000.000,00
4	Lain-lain: administrasi, publikasi, seminar, laporan, lainnya sebutkan	Rp. 2.340.000,00
Jumlah		Rp. 39.692.320,00

Rincian Anggaran Belanja Penelitian (Lampiran 2)

Lampiran 3 .**SUSUNAN ORGANISASI TIM PENELITI DAN PEMBAGIANTUGAS**

No.	Nama/NIDN	Instansi	Bidang Ilmu	Alokasi Waktu (Jam / minggu)	Rincian Tugas
1	Salamun, Drs., M.Kes. / (0010116120)	Dept. Biologi FST Unair	Mikro- biologi	20	Koordinator Umum Penelitian Menyusun Laporan Akhir Menyusun Artikel Ilmiah Mengurus Jurnal Internasional Terindeks Scopus Q3
2	Dr. Fatimah, S.Si., M.Kes. (0015107401)	Dept. Biologi FST Unair	Mikro- biologi	10	Subkordinator Isolasi Mikroba Mendeteksi Isolat dan ciri fisiologis Menyusun Laporan Akhir
3	Tri Nurhariyati, S.Si., M.Kes. (0013116702)	Dept. Biologi FST Unair	Mikro- biologi	10	Subkordinasi Karakterisasi Isolat Mendeteksi Ciri Makroskopis dan Mikroskopis Menyusun Laporan Akhir
4	Agus Spriyanto, Drs., M.Kes. (0024086208)	Dept. Biologi FST Unair	Mikro- biologi	10	Subkordinasi Uji Potensi Melakukan Uji Potensi Menyusun Laporan Akhir
5	Vicky Findawati	Dept. Biologi FST Unair	Mahasiswa	6	Membantu isolasi Membantu uji potensi
6	Meidita Ika F.M.	Dept. Biologi FST Unair	Mahasiswa	6	Membantu isolasi Membantu uji potensi
7	Hakimatul Husniyah	Dept. Biologi FST Unair	Mahasiswa	6	Membantu isolasi Membantu uji potensi
8	Rizky Danang Susetyo	Dept. Biologi FST Unair	Mahasiswa	6	Membantu Karakterisasi Membantu Identifikasi isolat dari alamiah
9	Mufida Utami Rizka	Dept. Biologi FST Unair	Mahasiswa	6	Membantu Karakterisasi Membantu Identifikasi isolat dari domestik dan larva
10	Ahmad Fauzi	Dept. Biologi FST Unair	Mahasiswa	6	Membantu Uji Toksisitas Membantu Kolonisasi Larva uji

Lampiran 4.

Biodata Ketua Dan Anggota Tim Penelitian

1. KetuaPeneliti

- a. Nama Lengkap : Salamun, Drs., M.Kes.
- b. Jenis kelamin : Lakilaki
- c. NIP. : 196111101987031003
- d. Disiplin Ilmu : Mikrobiologi
- e. Pangkat/Golongan : Pembina Utama Muda / IVC
- f. Jabatan Fungsional : Lektor Kepala
- g. Fakultas/Jurusan : Sains danTeknologi / Biologi
- h. Waktu Penelitian : 20 jam / minggu

2. Anggota Peneliti 1

- a. Nama Lengkap : Dr. Fatimah, S.Si., M.Kes..
- b. Jenis kelamin : Perempuan
- c. NIP. : 19741015 200212 2 001
- d. Disiplin Ilmu : Mikrobiologi
- e. Pangkat/Golongan : Penata Tingkat I / IIC
- f. Jabatan Fungsional : Lektor
- g. Fakultas/Jurusan : Sains danTeknologi / Biologi
- h. Waktu Penelitian : 10 jam / minggu

3. Anggota Peneliti 2

- a. Nama Lengkap : Tri Nurhariyati, S.Si., M.Kes.
- b. Jenis kelamin : Perempuan
- c. NIP. : 196711131994032001
- d. Disiplin Ilmu : Mikrobiologi
- e. Pangkat/Golongan : Penata Tk.I / IIIId
- f. Jabatan Fungsional : Lektor
- g. Fakultas/Jurusan : Sains danTeknologi / Biologi
- h. Waktu Penelitian : 10 jam / minggu

4. Anggota Peneliti 3

- a. Nama Lengkap : Agus Supriyanto, Drs., M.Kes.
- b. Jenis kelamin : Laki-Laki
- c. NIP. : 196208241989031002
- d. Disiplin Ilmu : Mikrobiologi
- e. Pangkat/Golongan : Penata Tk.I / IIIId
- f. Jabatan Fungsional : Lektor
- g. Fakultas/Jurusan : Sains danTeknologi / Biologi
- h. Waktu Penelitian : 10 jam / minggu

5. Asisten Peneliti Mahasiswa (S1)

- a. Nama Lengkap : Vicky Findawati
- b. Nama Lengkap : Meidita Ika F.M.
- c. Nama Lengkap : Hakimatul Husniyah
- d. Nama Lengkap : Rizky Danang Susetyo
- e. Nama Lengkap : Mufida Utami Rizka
- f. Nama Lengkap : Ahmad Fauzi
- g. Waktu Penelitian : 6 jam / minggu