



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN  
**UNIVERSITAS AIRLANGGA**

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

**SALINAN**

**KEPUTUSAN**  
**REKTOR UNIVERSITAS AIRLANGGA**  
**NOMOR 346/UN3/2020**

**TENTANG**

**PELAKSANAAN PENELITIAN INTERNAL UNIVERSITAS AIRLANGGA  
HIBAH RESEARCH GROUP, HIBAH RISET MANDAT, RISET KOLABORASI  
MITRA LUAR NEGERI, PENELITIAN UNGGULAN FAKULTAS, PENELITIAN  
DOSEN PEMULA DAN ARTICLE REVIEW PROGRAM TAHUN 2020**

**REKTOR UNIVERSITAS AIRLANGGA,**

- Menimbang : a. bahwa sesuai hasil seleksi proposal penelitian hibah riset mandat, penelitian unggulan fakultas dan penelitian dosen pemula Universitas Airlangga Tahun 2020 sebagai salah satu wujud dari pelaksanaan tridharma perguruan tinggi, maka perlu menetapkan para peneliti dan judul penelitian dimaksud;
- b. bahwa berdasarkan pertimbangan sebagaimana dimaksud pada huruf a, perlu menetapkan Keputusan Rektor tentang Pelaksanaan Penelitian Internal Universitas Airlangga Hibah Research Group, Hibah Riset Mandat, Riset Kolaborasi Mitra Luar Negeri, Penelitian Unggulan Fakultas, Penelitian Dosen Pemula Dan *Article Review* Program Tahun 2020;
- 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 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 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 8 Tahun 2020 tentang Perubahan Atas Peraturan Pemeerintah Nomor 26 Tahun 2015 tentang Bentuk dan Mekanisme Pendanaan Perguruan Tinggi Negeri Badan Hukum (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2020 Nomor 28, Tambahan Lembaran Negara Republik Indonesia Nomor 6461);
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 39 Tahun 2017 tentang Perubahan Atas Peraturan Rektor 42 Tahun 2016 tentang Organisasi dan Tata Kerja Universitas Airlangga;
10. Peraturan Rektor Universitas Airlangga Nomor 3 Tahun 2019 tentang Perubahan Kedua Atas Peraturan Rektor Nomor 27 Tahun 2018 tentang Pedoman Pendidikan Universitas Airlangga;
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.

Memperhatikan : Surat Ketua lembaga penelitian dan Inovasi Universitas Airlangga Nomor 398/UN3.14/LT/2019, tanggal 21 Maret 2019, perihal Permohonan SK tentang Pelaksanaan Penelitian Internal Universitas Airlangga Tahun 2019.

**MEMUTUSKAN :**

**MENETAPKAN : KEPUTUSAN REKTOR TENTANG PELAKSANAAN PENELITIAN INTERNAL UNIVERSITAS AIRLANGGA HIBAH RESEARCH GROUP, HIBAH RISET MANDAT, RISET KOLABORASI MITRA LUAR NEGERI, PENELITIAN UNGGULAN FAKULTAS, PENELITIAN DOSEN PEMULA DAN ARTICLE REVIEW PROGRAM TAHUN 2020.**

- KESATU : Menetapkan hasil seleksi proposal penelitian internal Universitas Airlangga Hibah Research Group, Hibah Riset Mandat, Riset Kolaborasi Mitra Luar Negeri, Penelitian Unggulan Fakultas, Penelitian Dosen Pemula Dan *Article Review* Program Tahun 2020.
- KEDUA : Penerima Hibah Research Group, Hibah Riset Mandat, Riset Kolaborasi Mitra Luar Negeri, Penelitian Unggulan Fakultas, Penelitian Dosen Pemula Dan *Article Review* Program Tahun 2020 sebagaimana dimaksud pada diktum KESATU sebanyak 7 (tujuh) judul Hibah *Research Group*, 53 (lima puluh tiga) judul Hibah Riset Mandat dan Hibah Riset Mandat Dosen Muda, dan 50 (lima puluh) judul Riset Kolaborasi Mitra Luar Negeri, 205 (dua ratus lima) judul Penelitian Unggulan Fakultas, 92 (sembilan puluh dua) judul Penelitian Dosen Pemula, 24 (dua puluh empat) judul *Article Review* dengan susunan nama tim peneliti sebagaimana tercantum dalam lampiran yang merupakan bagian tidak terpisahkan dari Keputusan Rektor ini.
- KETIGA : Biaya untuk pelaksanaan penelitian sebagaimana dimaksud pada diktum KEDUA adalah:
1. Hibah Research Group sebesar Rp 3.500.000.000 (tiga milyar Rupiah) dibebankan pada dana dibebankan pada dana RKAT Lembaga Penelitian dan Inovasi;
  2. Hibah Riset Mandat dan Hibah Riset Mandat Dosen Muda sebesar Rp.11.630.325.650 (sebelas milyar enam ratus tiga puluh juta tiga ratus dua puluh lima ribu enam ratus lima puluh rupiah) dibebankan pada dana RKAT Lembaga Penelitian dan Inovasi;
  3. Riset Kolaborasi Mitra Luar Negeri sebesar Rp 4.517.799.492 (empat milyar lima ratus tujuh belas juta tujuh ratus sembilan puluh sembilan ribu empat ratus sembilan puluh dua rupiah) dibebankan pada dana RKAT Lembaga Penelitian dan Inovasi;
  4. Penelitian Unggulan Fakultas sebesar Rp. 7.321.435.400 (tujuh milyar tiga ratus dua puluh satu juta empat ratus tiga puluh lima ribu empat ratus rupiah) dibebankan pada RKAT masing-masing Fakultas;
  5. Penelitian Dosen Pemula sebesar Rp. 2.105.323.750 (dua milyar seratus lima juta tiga ratus dua puluh tiga ribu tujuh ratus lima puluh rupiah) dibebankan pada RKAT masing-masing Fakultas;
  6. *Article Review* Program sebesar Rp 1.197.887.257 (satu milyar seratus sembilan puluh tujuh juta delapan ratus delapan puluh tujuh ribu dua ratus lima puluh tujuh rupiah) dibebankan pada dana RKAT Lembaga Penelitian dan Inovasi.

- KEEMPAT : Dalam melaksanakan tugasnya, penerima dana penelitian sebagaimana dimaksud pada diktum KEDUA, bekerja secara jujur dan transparan dengan berpedoman pada ketentuan peraturan perundang-undangan yang berlaku, serta bertanggungjawab kepada Rektor melalui Dekan pada Fakultas masing-masing.
- KELIMA : Jangka waktu pelaksanaan penelitian sebagaimana dimaksud pada diktum KESATU berlaku sampai 31 Desember 2020.
- KEENAM : Keputusan Rektor ini mulai berlaku surut sejak 1 maret 2020.

Salinan disampaikan Yth:  
1. Pimpinan Unit Kerja di Lingkungan Unair  
2. Yang bersangkutan


Ditetapkan di Surabaya  
pada tanggal 27 Maret 2020

REKTOR,

ttd

**MOHAMMAD NASIH**  
NIP.196508061992031002

Salinan sesuai dengan aslinya  
Sekretaris Universitas,



**KOKO SRIMALYO**  
NIP 196602281990021001

**LAMPIRAN II KEPUTUSAN REKTOR UNIVERSITAS AIRLANGGA**

**NOMOR : 346/UN3/2020, TANGGAL 27 MARET 2020**

**TENTANG : PELAKSANAAN PENELITIAN INTERNAL UNIVERSITAS AIRLANGGA HIBAH RESEARCH GROUP, HIBAH RISET MANDAT, RISET KOLABORASI MITRA LUAR NEGERI, PENELITIAN UNGGULAN FAKULTAS, PENELITIAN DOSEN PEMULA DAN ARTICLE REVIEW PROGRAM TAHUN 2020**

**DAFTAR PROPOSAL PENELITIAN UNGGULAN FAKULTAS YANG LOLOS UNTUK DIDANAI TAHUN 2020**

NO	TIM PENELITI	NIP	DOSEN NON UNAIR		NIM	SKEMA PENELITIAN	Fakultas / Nama Research Group	JUDUL PENELITIAN	DANA
1	Jan Ady S.Si., M.Si. (ketua), Drs. Djony Izak Rudyardjo, M.Si	*197201262002121002 *196802011993031004,		Astrid Puspita Setya Ariyanto, Nadia Safira,	*081611333026, *081611333084,	Penelitian Unggulan Fakultas	Sains dan Teknologi / Biomaterial	Optimasi Pembentukan Biomaterial Biokeramik Nanopartikel Polimorfik Trikalسيوم Fosfat Menggunakan Metode Sinter dan Sol-Gel	Rp 40.000.000
2	Suciati S.Si. Apt., M.Phil, PhD (ketua), Rr. Retno Widyowati, M.Pharm., Ph.D., Apt. Dr. Wiwied Ekasari, M.Si., Apt.	*197911042005012001 *197701052002122002, 196901221994032001,		Debora Poerwantoro, Lailatul Zakiyah Gifanda, Anita Probo Hapsari,	*051611133089, *051611133141, *051611133063,	Penelitian Unggulan Fakultas	Farmasi / NATURAL PRODUCT DRUG DISCOVERY	Evaluasi Aktivitas Antioksidan dari beberapa Ekstrak Tanaman Cassia moschata serta Profil Metabolitnya	Rp 40.000.000
3	Dr. Dewi Isadiartuti M.Si., Apt (ketua), Prof. Dr. Dwi Setyawan, M.Si., Apt. Helmy Yusuf, M.Sc., Ph.D., Apt.	*196505201991022001 *197111301997031003, *197907152003121002,		Gusti Ayu Manik Suartha Putri, Mega Meiana Putri, Ella Yurika, Luh Putu Ariyani Pratiwi,	*051611133135, *051611133014, *051611133032, *051611133153,	Penelitian Unggulan Fakultas	Farmasi / Rekayasa bahan aktif farmasi	PEMBENTUKAN KOMPLEKS INKLUSI ASAM PARA- METOKSISINAMAT DENGAN HIDROKSIPROPIL-B- SIKLODEKSTRIN YANG DIBUAT DENGAN METODE CO- GRINDING	Rp 40.000.000
4	Dr. Praptini Yulianti SE.,M.Si (ketua), Dr. Ahmad Rizki Sridadi, SH.,MM.,MH., Nidya Ayu Arina, SM.,MSM.,	195807191994032001 , 197610292002121002, 198908162019032027,		Refita Syaiskha Prameswari, Nancy Rosminingsih Tomanda,	*041814153023, *041824153015,	Penelitian Unggulan Fakultas	Ekonomi dan Bisnis / Center for Sociopreneur & Digitalpreneur	Family Support to Business Performance on Women Entrepreneurs	Rp 40.000.000
5	Dr. Enny Narwati S.H., M.H. (ketua), A. Indah Camelia, S.H., MH.	*196412111990022001 *198209152010122002,		Fa izin Achmad Sumhudi, Auly Nahdyan Mafaza,	*031711133233, *031711133061,	Penelitian Unggulan Fakultas	Hukum / GRUP RISET HUKUM INTERNASIONAL AIRLANGGA	Meningkatkan Peran Maritim Indonesia dalam Pengaturan Keselamatan Pelayaran Internasional pada Alur Laut Kepulauan Indonesia (ALKI) IIB Pasca Adopsi Traffic Separation Scheme Selat Lombok	Rp 36.500.000
6	Mefina Kuntjoro drg., SpPros.,M.Kes. (ketua), Eric Priyo Prasetyo, drg., M.Kes., Sp.KG(K). Dr. Nike Hendrijantini, drg., M.Kes., Sp.Pros(K)	197909292006042002 , 198101142006041003, 195910061986012001,		Marvin Rusli, Marcella Theodora,	*021918076306, *021918076307,	Penelitian Unggulan Fakultas	Kedokteran Gigi / Tissuc Engineering & Regenerative Medicine	Advance Glycation End Product (AGEs) induce hUCMSCs Intrinsic Apoptotic Pathway via APAF1, Caspace 3 and Caspace 9	Rp 20.000.000

NO	TIM PENELITI	NIP	DOSEN NON UNAIR		NIM	SKEMA PENELITIAN	Fakultas / Nama Research Group	JUDUL PENELITIAN	DANA
14	Dr. Andri Setiya Wahyudi S.Kep., Ns., M.Kep. (ketua), Ika Nur Pratiwi, S.Kep., Ns., M.Kep Arina Qona ah, S.Kep., Ns., M.Kep	198206192015041001 198711022015042003, 198611242018032001,		Ranee Dewi Aneke, Dluha Maf Ula, Elyn Zoegestyn,	131911123025, 131914153049, 131611133088,	Penelitian Unggulan Fakultas	Keperawatan / Chronics Illncs	Efektivitas latihan fisik berbasis selfcare dalam menurunkan Kadar Fentuin-A dan HbA1C pada klien DM Tipe 2	Rp 25.000.000
15	Dini Setyowati drg., MPH., Ph.D (ketua), Ninuk Hariyani, drg., MPH., M.Kes., Ph.D.	198412082008012004 , 197905072006042001,		Keyona Laila Olivia, Insyirah Dwi Vidyastami,	021711133128, 021711133109,	Penelitian Unggulan Fakultas	Kedokteran Gigi / Dental public health and primary health care	Model Psikososial Perilaku dalam Memelihara Kesehatan Gigi Anak Usia Prasekolah di Surabaya: Penelitian Mixed Methods	Rp 20.000.000
16	Drs. Salamun M.Kes. (ketua), Prof. Dr. Ir. Tini Surtiningsih, DEA Drs. Agus Supriyanto, M.Kes	196111101987031003 195110121980032001, 196208241989031002,		Imro Atul Kasanah, Illiyyun Firas Ilma, Seling Nur Praduwana, Habibah Lailatul Maghfirah, Husnah Hanifah,	081611433038, 081611433069, 081611433031, 081611433062, 081611433060,	Penelitian Unggulan Fakultas	Sains dan Teknologi / Applied microbiology and bioresource technology BIOME	PENGEMBANGAN PRODUK BIOINSEKTISIDA LOKAL : Deteksi Struktur Toksin Inklusi Parasporal Entomopatogen Lokal Bacillus sp. dan Patogenitasnya terhadap Organisme Non-target	Rp 40.000.000
17	Dr. Tri Soesantari Dra., M.Si. (ketua), Dr. Yunus Abdul Halim, S.Si., M.Kom Fitri Mutia, A.KS., M.Si.	195905171986012001 197501232008121002, 197510022008012011,		Erina Wahyu Anggreini, Michelle Laura,	071611633044, 071911633023,	Penelitian Unggulan Fakultas	Ilmu Sosial dan Ilmu Politik / Centre for library and information studies (CLIS)	PERJUANGAN DAN PENGETAHUAN POLITIK PEREMPUAN NASYIATUL & AISYIYAH DI JAWA TIMUR	Rp 40.000.000
18	Citrawati Dyah Kencono Wungu dr., M.Si (ketua), Prof.Retno Handajani, dr., MS., Ph.D. Dr.Gwenny Ichsan Prabowo, dr., M.Kes.	198812222019032010 194810122019026201, 196209291990022003,		Hendri Susilo, Eka Arum Cahyaning Putri,	011528136304, 011914553003,	Penelitian Unggulan Fakultas	Kedokteran / OMICS Research Group Biokimia Kedokteran	Analisis perbedaan kadar Transforming Growth Factor Beta 1, p53, dan Interleukin-10 Serum pada penderita Chronic Liver Disease di Surabaya	Rp 39.000.000
19	Siti Zulaikha SE., M.Si., Ph.D. (ketua), Noven Suprayogi, SE., M.Si., Ak.,	198006102008012022 197711052008121001,		Ilmiana Murti, Aqila Salsabila Rizqi Prasetyo,	041511433099, 041811433049,	Penelitian Unggulan Fakultas	Ekonomi dan Bisnis / Center for Innovative Islamic Investment and Capital Market (CIICAM)	Diversifikasi Portofolio Emas dan Saham Syariah: Pendekatan Time-Frequency Domain	Rp 40.000.000
20	Dr Ahmad Yudianto dr.SpF(K),SH.,M.Kes (ketua), Dr. Agung Sosiawan, drg., M.Kes. , Arofi Kurniawan, drg., Ph.D.	197305302016016101 197112112008121003, 198708042012121001,		Fery Setiawan, Beta Novia Rizky,	091824653004, 091814653009,	Penelitian Unggulan Fakultas	Sekolah Pascasarjana / Ilmu Forensik	KINDSHIP ANALYSIS SEBAGAI SALAH SATU TEKNIK PATERNITY TEST DALAM IDENTIFIKASI FORENSIK MELALUI STR CODIS LOCI : CSP1PO, THO1, TPOX	Rp 35.000.000

NO	TIM PENELITI	NIP	DOSEN NON UNAIR		NIM	SKEMA PENELITIAN	Fakultas / Nama Research Group	JUDUL PENELITIAN	DANA
202	Dr. Trisadini Prasastinah Usanti S.H., M.H. (ketua), Fiska Silvia Raden Roro, S.H., M.H., LL.M. Dr. Indira Retno Aryatie S.H., M.H.	*196702261993032001 , *197705292003122003, *198003202005012002,		Nur Utari Setiawati, Riski Pebru Ariyanti,	*031914253028, *031814253059,	Penelitian Unggulan Fakultas	Hukum / KELOMPOK RISET HUKUM ISLAM	PRINSIP IKHTIYATI PADA PEER TO PEER LENDING BERDASARKAN PRINSIP SYARIAH	Rp 36.000.000
203	Dr. Falih Suaedi Drs., M.Si. (ketua), Putu Aditya Ferdian Ariawantara, S.IP., M.KP	*196302261988101001 , *198606012015041003,		Muhammad Arfi Rayyan, Lengking Fajar Asroka,	*071611133050, *071611133074,	Penelitian Unggulan Fakultas	Ilmu Sosial dan Ilmu Politik / Centre for public policy, Governance and Development (CPPGD)	Pengembangan Model Whole of Government Dalam Upaya Penanganan Kasus Stunting di Kota Malang	Rp 40.000.000
204	Prof. Dr. Muslich Anshori SE., M.Sc., Ak., CA. (ketua), Prof.Dr. Sri Iswati, SE.,M.Si.,Ak., Dra. Iswajuni, M.Si.,Ak.,	*195203211986011001 , *196311211991032001, *196803261994032002,		Gaung Perwira Yustika, Dimas Agung Trisliatanto, Ian Firstian Aldhi,	*091917067303, *091817067301, *091814253004,	Penelitian Unggulan Fakultas	Sekolah Pascasarjana / Pembangunan Sumber Daya Manusia	PERAN SUSTAINABILITY REPORT, CARBON EMISSION DISCLOSURE, PENGALAMAN MILITER PADA NILAI PERUSAHAAN. STUDI EMPIRIS PADA PERUSAHAAN GO PUBLIC DI INDONESIA	Rp 35.000.000
205	Dr. Abu Bakar M.Kep., Ns.Sp.Kep.M.B. (ketua), Dr. Ika Yuni Widyawati, S.Kep., Ns., M.Kep., Ns.Sp.Kep.MB.	*198004272009121002 , *197806052008122001,		Sabila Nisak, Konita Shafira,	*131611133071, *131611133073,	Penelitian Unggulan Fakultas	Keperawatan / Chronics Illnes	Perilaku Caring Islami Perawat Meningkatkan Imunitas Perawat	Rp 25.000.000
<b>TOTAL</b>									<b>Rp 7.321.435.400</b>

Salinan sesuai dengan aslinya  
Sekretaris Universitas,

**KOKO SRIMULYO**  
NIP 196602281990021001

Ditetapkan di Surabaya  
REKTOR,

TTD

**MOHAMMAD NASIH**  
NIP 196508061992031002

**LAPORAN AKHIR**

**PENELITIAN UNGGULAN FAKULTAS**

**PENGEMBANGAN PRODUK BIOINSEKTISIDA LOKAL:  
Deteksi Struktur Toksin Parasporal Entomopatogen Lokal *Bacillus* sp.  
dan Uji Patogenitasnya terhadap Organisme Non-target**



**Salamun, Drs., M.Kes. (Ketua)**  
**Prof. Dr. Ir. Tini Surtiningsih, DEA (Anggota 1)**  
**Agus Supriyanto, S.Si., M.Kes. (Anggota 2)**

**Dibiayai oleh:**

**Dana Penelitian Internal Universitas Airlangga: Penelitian Unggulan Fakultas,  
sesuai dengan surat Keputusan Rektor Universitas Airlangga tentang Pelaksanaan  
Hibah Penelitian Unggulan Fakultas Tahun Anggaran 2020, Nomor 346/UN3/2020**

**UNIVERSITAS AIRLANGGA  
DESEMBER 2020**



**HALAMAN PENGESAHAN  
PENELITIAN UNGGULAN FAKULTAS**

1. Judul Penelitian : PENGEMBANGAN PRODUK BIOINSEKTISIDA  
LOKAL: Deteksi Struktur Toksin Parasporal  
Entomopatogen Lokal *Bacillus* sp. dan Uji  
Patogenitasnya terhadap Organisme Non-target
2. Kode>Nama Rumpun Ilmu : 113/ Biologi (dan Bioteknologi Umum)
3. Bidang Unggulan PT : Produk Mikroorganisme
4. Topik Unggulan : Pengendalian Hayati Vektor (Mikrobiologi Terapan)
5. Peneliti
- Ketua Peneliti
- a) Nama lengkap : Drs. Salamun, M. Kes.
- b) NIDN : 0010116120
- c) Jabatan fungsional : Lektor Kepala
- d) Program Studi : Biologi
- e) Nomor HP : 081332198122
- f) Alamat surel (e-mail) : [salamun@fst.unair.ac.id](mailto:salamun@fst.unair.ac.id)
- Anggota Peneliti (1)
- a) Nama lengkap : Prof. Dr. Ir. Tini Surtiningsih, DEA
- b) NIDN :
- c) Perguruan Tinggi : Universitas Airlangga
- Anggota Peneliti (2)
- a) Nama lengkap : Agus Supriyanto, S.Si., M. Kes.
- b) NIDN :
- c) Perguruan Tinggi : Universitas Airlangga
- Lama Penelitian Keseluruhan : 1 (satu) Tahun
- Biaya Penelitian Keseluruhan : Rp. 40.000.000,00 (Empat Puluh Juta Rupiah)

Surabaya, 10 Desember 2020

Mengetahui  
Dekan Fakultas Sains dan Teknologi  
Universitas Airlangga



Moh. Yasin, M.Si.  
NIP. 196703121991021001

Ketua Peneliti

Drs. Salamun, M.Kes.  
NIP. 196111101987031003



# LEMBAGA PENELITIAN DAN INOVASI UNIVERSITAS AIRLANGGA

Gedung Kahuripan Lantai 2, Kampus C Universitas Airlangga, Mulyorejo - Surabaya  
Telp. 5923584, 5995246-48 Fax. 031-5923584, 5962066 Email : adm@lpi.unair.ac.id

## PROTEKSI ISI PROPOSAL

Dilarang menyalin, menyimpan, memperbanyak sebagian atau seluruh isi proposal ini dalam bentuk apapun kecuali oleh pengusul dan pengelola administrasi penelitian

### PROPOSAL PENELITIAN 2020

#### 1. JUDUL PENELITIAN

PENGEMBANGAN PRODUK BIOINSEKTISIDA LOKAL : Deteksi Struktur Toksin Inklusi Parasporal Entomopatogen Lokal Bacillus sp. dan Patogenitasnya terhadap Organisme Non-target

Skema Penelitian	Bidang Fokus/ Bidang Unggulan pada Rencana Induk Penelitian (RIP)	Topik (jika ada)	Rumpun Bidang Ilmu
Penelitian Unggulan Fakultas	Kesehatan - obat	Penanggulangan penyakit tropis	MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM (MIPA)

#### 2. IDENTITAS PENGUSUL

Nama, Peran	Fakultas / Institusi	Program Studi	Bidang Tugas	Id Shinta
SALAMUN Ketua Penelitian	Universitas Airlangga	S1 - BIOLOGI	-	5979865
TINI SURTINGSIH	UNIVERSITAS AIRLANGGA	S2 - BIOLOGI	Koordinasi Uji Patogenitas	5986622
AGUS SUPRIYANTO	UNIVERSITAS AIRLANGGA	S1 - BIOLOGI	Kordinasi Uji Respon inflamasi	6658142
Seling Nur Praduwana	UNIVERSITAS AIRLANGGA	S1 - BIOLOGI	Pelaksana TEM & SEM Isolat Baluran	
HABIBAH LAILATUL MAGHFIRAH	UNIVERSITAS AIRLANGGA	S1 - BIOLOGI	Pelaksana TEM & SEM Isolat Endapan	
HUSNAH HANIFAH	UNIVERSITAS AIRLANGGA	S1 - BIOLOGI	TEM dan SEM isolat Larva	
Imro Atul Kasanah	UNIVERSITAS AIRLANGGA	S1 - BIOLOGI	Pelaksana Uji Patogenitas	
ILLIYUN FIRAS ILMA	UNIVERSITAS AIRLANGGA	S1 - BIOLOGI	Pelaksana Uji Respon Imunitas	

#### 3. IDENTITAS PENELITIAN

Ringkasan	:	Demam Berdarah Dengue (DBD) adalah penyakit viral yang ditularkan oleh nyamuk vektor dan masih merupakan masalah kesehatan masyarakat serius di Indonesia. Usaha mengatasi masalah DBD telah banyak dilakukan, tetapi hasilnya masih belum memuaskan. Alternatif mengatasi penyakit ini adalah mengendalikan populasi vector utama, yaitu nyamuk <i>Aedes aegypti</i> . Penggunaan insektisida kimia masih menjadi andalan, namun terbukti menimbulkan dampak negatif terhadap kualitas lingkungan hidup. Para ahli pengendalian hayati menyarankan untuk mengembangkan bioinsektisida dan terus dicari pengendali hayati sebagai alternatif untuk pengendalian hayati vektor penyakit. Salah satu agensia pengendali hayati yang dikembangkan adalah bakteri entomopatogenik dari marga <i>Bacillus</i> . Penelitian direncanakan bertahap untuk mendukung Rencana Induk Penelitian (RIP) fakultas dan universitas, yaitu dalam bidang Produk Mikroorganisme dan Kedokteran Tropis, khususnya pengembangan Bioinsektisida berbahan bakungRINGKASA Demam Berdarah Dengue (DBD) adalah penyakit viral yang ditularkan oleh nyamuk vektor dan masih merupakan masalah kesehatan masyarakat serius di Indonesia. Usaha mengatasi masalah DBD telah banyak dilakukan, tetapi hasilnya masih belum memuaskan. Alternatif mengatasi penyakit ini adalah mengendalikan populasi vector utama, yaitu nyamuk <i>Aedes aegypti</i> . Penggunaan insektisida kimia masih menjadi andalan, namun terbukti menimbulkan dampak negatif terhadap kualitas lingkungan hidup. Para ahli pengendalian hayati menyarankan untuk mengembangkan bioinsektisida dan terus dicari pengendali hayati sebagai alternatif untuk pengendalian hayati vektor penyakit. Salah satu agensia pengendali hayati yang dikembangkan adalah bakteri entomopatogenik dari marga <i>Bacillus</i> . Penelitian direncanakan bertahap untuk mendukung Rencana Induk Penelitian (RIP) fakultas dan universitas, yaitu dalam bidang Produk Mikroorganisme dan Kedokteran Tropis, khususnya pengembangan Bioinsektisida berbahan baks sp. yang potensial membunuh larva <i>Ae. aegypti</i> telah berhasil diisolasi dari lingkungan alamiah, dari tempat perindukan dan dari larva nyamuk <i>Ae. aegypti</i> . Pada penelitian tahap II melalui dana PUF tahun 2019, telah dilakukan penelitian untuk karakteristik genetik isolat lokal <i>Bacillus</i> sp. yang terbukti potensial, tujuannya untuk mengetahui nama spesies dan menentukan kekerabatan filogenetik dengan spesies dari <i>Bacillus</i> lainnya. Setelah itu dilakukan uji hayati untuk menentukan kekuatan toksisitasnya terhadap larva <i>Ae. aegypti</i> . Tiga isolat entomopatogen <i>Bacillus</i> sp. lokal yang sangat potensial untuk dikembangkan sebagai bioinsektisida adalah <i>Bacillus</i> sp. LS9.1, EG6.4, dan BK5.2. Penelitian berikutnya (tahap III) ini akan dilakukan penelitian untuk mendeteksi ultrastruktur sel dan toksin parasporal entomopatogen lokal <i>Bacillus</i> sp. LS9.1, EG6.4, BK5.2 dan respon patologiknya terhadap organisme non-target sebelum diaplikasikan di lapangan. Penelitian pada tahap ini bersifat deskriptif untuk mendeteksi sel dan toksin parasporal entomopatogen dan secara eksperimental untuk menentukan patogenitas dan respon inflamasi terhadap organisme non-target. Data penelitian akan dianalisis secara statistik deskriptif maupun statistik analitik. Penelitian ini diharapkan menambah objek material dan formal di laboratorium Mikrobiologi, yaitu koleksi Isolat lokal <i>Bacillus</i> sp. yang berpotensi sebagai biolarvasida, dan sebagai Produk Paten Bioinsektisida Lokal untuk pengendalian hayati vektor penyakit, serta menambah publikasi jurnal ilmiah internasional bereputasi dari topik-topik potensi entomopatogen lokal <i>Bacillus</i> sp. sebagai biolarvasida vektor penyakit.
Kata Kunci 1	:	Entomopatogen
Kata Kunci 2	:	<i>Bacillus</i> sp. lokal
Kata Kunci 3	:	Bioinsektisida
Kata Kunci 4	:	<i>Aedes aegypti</i>
Kata Kunci 5	:	Patogenitas
Sub Rumpun Ilmu	:	ILMU IPA
Bidang Ilmu	:	Biologi (dan Bioteknologi Umum)
Bidang Unggulan	:	Kesehatan - obat
Topik Unggulan	:	Penanggulangan penyakit tropis

#### 4. TARGET LUARAN

Jenis Luaran	Tipe Luaran	Jumlah
Luaran Wajib	Jurnal Internasional Terindex Scopus	1
Luaran Tambahan	Jurnal Nasional Terakreditasi	1

#### 5. ANGGARAN

Total Rencana Anggaran Biaya (RAB) Rp. Rp 40.000.000

Komponen	Sub Komponen Biaya	Item	Satuan	Vol.	Biaya @	Total @
Sewa Peralatan	Peralatan Penelitian (Peralatan penelitian yang tidak dimiliki institusi peneliti)	Pemeriksaan TEM	Micrograph (ultrastruktur)	12	Rp. 1.000.000	Rp. 12.000.000
Sewa Peralatan	Peralatan Penelitian (Peralatan penelitian yang tidak dimiliki institusi peneliti)	Pemeriksaan SEM	Micrograph (ultrastruktur)	12	Rp. 600.000	Rp. 7.200.000
Bahan	Bahan Penelitian/Habis Pakai (Bahan penelitian lab, bahan penelitian lapangan, cinderamata untuk responden dsb.)	Nutrien Broth	500g	1	Rp. 2.800.000	Rp. 2.800.000
Bahan	Bahan Penelitian/Habis Pakai (Bahan penelitian lab, bahan penelitian lapangan, cinderamata untuk responden dsb.)	Blood Agar Base	250g	2	Rp. 850.000	Rp. 1.700.000
Bahan	Bahan Penelitian/Habis Pakai (Bahan penelitian lab, bahan penelitian lapangan, cinderamata untuk responden dsb.)	Nutrien Agar (NA)	500g	1	Rp. 1.455.300	Rp. 1.455.300
Bahan	Bahan Penelitian/Habis Pakai (Bahan penelitian lab, bahan penelitian lapangan, cinderamata untuk responden dsb.)	Hewan Coba (Tikus Putih)	Ekor	54	Rp. 9.000	Rp. 486.000
Pengumpulan Data	Transport (Transport lokal pengumpul data)	Pengumpulan Data	Dalam Kota	12	Rp. 60.000	Rp. 720.000
Bahan	ATK (Pembuatan laporan, proposal, kuesioner dan ATK lainnya untuk keperluan penelitian)	Pembuatan Laporan	Tinta Printer (Warna)	1	Rp. 115.000	Rp. 115.000
Pengumpulan Data	Tiket (Tiket angkutan darat, laut, atau udara)	Tiket Kereta Api Surabaya-Yogyakarta	Lembar	6	Rp. 300.000	Rp. 1.800.000
Analisis Data	Biaya Analisis Sampel (Biaya untuk analisis sampel termasuk biaya uji produk)	Analisis Struktur	Struktur Micrograph TEM	12	Rp. 60.000	Rp. 720.000
Analisis Data	Biaya Analisis Sampel (Biaya untuk analisis sampel termasuk biaya uji produk)	Analisis Struktur	Struktur Micrograph SEM	12	Rp. 60.000	Rp. 720.000
Pengumpulan Data	Honor Pembantu Peneliti (Laboran, teknisi da sejenisnya)	Peremajaan Isolat	Isolat Murni	6	Rp. 100.000	Rp. 600.000
Pengumpulan Data	Honor Pembantu Peneliti (Laboran, teknisi da sejenisnya)	Honor Laboran	Lembur Laboran (hari)	6	Rp. 150.000	Rp. 900.000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Biaya Publikasi Artikel di Jurnal Nasional (Biaya publikasi)	Publikasi Nasional	Artikel Ilmiah	1	Rp. 2.000.000	Rp. 2.000.000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Biaya Publikasi Artikel di Jurnal Internasional (Biaya penterjemah, proofreading, biaya publikasi)	Publikasi Internasional	Artikel Ilmiah	1	Rp. 6.000.000	Rp. 6.000.000

		Pembuatan Laporan	Kertas A4 (RIM)	2	Rp. 41.850	Rp. 83.700
Pengumpulan Data		Perbanyak Isolat Bacillus sp.	Kultur Isolat	6	Rp. 100.000	Rp. 600.000
Bahan		Pembuatan Laporan	Tinta Printer (Black)	1	Rp. 100.000	Rp. 100.000
<b>Jumlah Total</b>						Rp. 40.000.000

## 6. Jadwal Penelitian

<b>Nama Kegiatan</b>	<b>Tanggal Mulai</b>	<b>Tanggal Selesai</b>
Persiapan Bahan dan Alat	01-03-2020	31-03-2020
Pemurnian dan Perbanyak Kultur Isolat	01-04-2020	30-04-2020
Deteksi Ultrastruktur Sel dan Toksin	01-05-2020	31-05-2020
Uji Patogenitas	01-06-2020	30-06-2020
Uji Respon Inflamasi	01-07-2020	31-07-2020
Pengumpulan dan Analisis Data	01-08-2020	31-08-2020
Penyusunan Laporan	01-09-2020	30-09-2020
Pengiriman Artikel Publikasi	01-10-2020	31-10-2020

Latar belakang penelitian tidak lebih dari 500 kata yang berisi latar belakang dan permasalahan yang akan diteliti, tujuan khusus, dan urgensi penelitian

## 1. LATAR BELAKANG

### 1.1. Latar Belakang Masalah

Demam Berdarah Dengue (DBD) adalah penyakit viral yang ditularkan oleh nyamuk vektor dan masih merupakan masalah kesehatan masyarakat serius di Indonesia<sup>(1)</sup>. Usaha mengatasi masalah DBD telah banyak dilakukan, tetapi hasilnya masih belum memuaskan. Alternatif mengatasi penyakit ini adalah mengendalikan populasi vector utama, yaitu nyamuk *Aedes aegypti*. Penggunaan insektisida kimia masih menjadi andalan, namun terbukti menimbulkan dampak negatif terhadap kualitas lingkungan hidup. Para ahli pengendalian hayati menyarankan untuk mengembangkan bioinsektisida dan terus dicari pengendali hayati sebagai alternatif pengendalian hayati vektor penyakit<sup>(2)</sup>. Salah satu agensia pengendali hayati yang dikembangkan adalah bakteri entomopatogenik dari marga *Bacillus*.

Telah dilakukan isolasi dan karakterisasi *Bacillus shpaericus* sebagai bioinsektisida vektor penyakit Malaria *Anopheles aconitus* dari pulau Lombok<sup>(3)</sup> dan juga telah berhasil dilakukan isolasi dan karakterisasi strain lokal *Bacillus thuringiensis* di Syria yang berpotensi sebagai bioinsektisida terhadap serangga hama<sup>(4)</sup>. Thomas, M.B. di tahun 2018 telah melakukan telaah dari berbagai tulisan ilmiah tentang peran agensia hayati dalam pengendalian vektor penyakit dan menyarankan komunitas pengendali vektor memperhatikan perspektif dan peluang peran agensia hayati dalam pengendalian terpadu penyakit yang ditularkan oleh vector<sup>(2)</sup>.

Salamun *et al.* (2018) telah berhasil isolasi dan karakterisasi fenotipik entomopatogen lokal yang potensial membunuh larva *Ae. aegypti* dari tanah di kawasan Taman Nasional Baluran, tanah endapan dan larva di tempat perindukan *Ae. aegypti* di lokasi Surabaya, Gresik, dan Sidoarjo<sup>(5)</sup>. Isolat lokal yang sangat potensial tersebut, masing-masing diberi kode *Bacillus* sp. BK5.2, EG6.4, dan LS9.1. Salamun *et al.* (2019) telah berhasil mengidentifikasi melalui 16SrRNA dan setelah dirunut dengan data di GeneBank menunjukkan bahwa *Bacillus* sp. BK5.2 adalah *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus* sp. EG6.4 adalah *Bacillus mojavenensis*, dan *Bacillus* sp. LS9.1 adalah *Bacillus subtilis*<sup>(6)</sup>.

Penelitian tahap I (2018) telah dilakukan, yaitu isolasi, uji potensi terhadap larva *Ae. aegypti*, dan karakterisasi fenotipik entomopatogen lokal *Bacillus* sp. dari sampel tanah alamiah, endapan TPA, dan larva *Ae. aegypti*. Isolat lokal yang berhasil diisolasi, ada yang mampu membunuh 100% larva uji dalam pengamatan 24 jam, sehingga diteruskan ke penelitian tahap II (2019), yaitu uji hayati dan penelitian tentang beberapa aspek genomik entomopatogen lokal *Bacillus* sp. yang potensial untuk dikembangkan sebagai bioinsektisida terhadap nyamuk *Ae. aegypti*. Pada tahun 2020 ini diusulkan penelitian tahap III.

### 1.2. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian tahap III ini adalah :

1. Mendeteksi struktur sel dan toksin inklusi parasporal pada bentuk sel vegetatif dan endospora entomopatogen lokal *Bacillus* sp. BK5.2, EG6.4, dan LS9.1, melalui struktur hasil SEM (*Scanning Electron Micrograph*) dan TEM (*Transmission Electron micrograph*).
2. Menentukan patogenitas entomopatogen lokal *Bacillus* sp. BK5.2, EG6.4, dan LS9.1 terhadap non target, melalui uji hemolisis sel darah.

3. Menetapkan patogenitas entomopatogen lokal *Bacillus* sp. BK5.2, EG6.4, dan LS9.1, melalui uji respon inflamasi terhadap organisme non-target, jika biolarvasida digunakan di tempat perindukan *Ae. aegypti*.

### 1.3. Urgensi Penelitian

Produk bioinsektisida lokal, berbahan baku *Bacillus* sp. sebagai biolarvasida dan aman digunakan di tempat perindukan nyamuk *Ae. aegypti* di Indonesia belum ada di pasaran, sehingga diperlukan pengembangan formula entomopatogen lokal *Bacillus* sp. sebagai bioinsektisida yang dapat diterapkan dan aman di tempat perindukan nyamuk *Ae. aegypti* vektor penyakit DBD di Indonesia.

Tinjauan pustaka tidak lebih dari 1000 kata dengan mengemukakan *state of the art* dan peta jalan (*road map*) dalam bidang yang diteliti. Bagan dan *roadmap* dibuat dalam bentuk JPG/PNG yang kemudian disisipkan dalam isian ini. Sumber pustaka/referensi primer yang relevan dan dengan mengutamakan hasil penelitian pada jurnal ilmiah dan/atau paten yang terkini. Disarankan penggunaan sumber pustaka 10 tahun terakhir.

## 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1. Nyamuk *Aedes aegypti*

Nyamuk *Ae. aegypti* melakukan metamorfosis sempurna (*holometabola*), dibagi menjadi 4 tahap, yaitu nyamuk dewasa, telur, larva dan pupa<sup>(7)</sup>. Genangan air tempat perindukan adalah genangan air di suatu wadah tempat penampung air (TPA), bukan genangan air di tanah. 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<sup>(8)</sup>. Nyamuk dewasa lebih banyak di dalam rumah pada benda yang bergelantungan, berwarna gelap dan di tempat lain yang terlindung<sup>(1)</sup>. Pada waktu menusuk dan mengisap darah dapat menularkan berbagai penyakit, seperti DBD, *Yellow fever*, *Virus encephalitis*, Filariasis, dan *Zika*<sup>(9)</sup>.

### 2.2. Pengendalian Populasi *Aedes aegypti*

Usaha menekan kepadatan populasi *Ae. aegypti* sampai di bawah ambang kendali, dapat dilakukan dengan berbagai cara. Ada 4 cara dapat dilakukan dalam pengendalian vektor penyakit, yaitu dengan pengendalian kimiawi, lingkungan, hayati, dan genetik<sup>(1)</sup>. Pengendalian kimiawi menggunakan insektisida kimia, baik untuk larva maupun nyamuk dewasa. Pengelolaan lingkungan untuk menghilangkan tempat perindukan yang disukai oleh *Ae. aegypti* atau menghalangi kontak vektor dengan manusia<sup>(10)</sup>. Pengendalian hayati dengan memanfaatkan interaksi antara vektor dengan makhluk hidup lainnya secara alamiah biasa terjadi di alam semesta, baik interaksi vektor dengan golongan mikroorganisme, hewan invertebrata, atau hewan vertebrata<sup>(2)</sup>. Pengendalian genetik telah dilakukan percobaan, misalnya teknik jantan mandul dengan melepas sejumlah besar nyamuk jantan mandul melalui rekayasa genetika<sup>(9)</sup>.

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 dapat dilakukan dengan konsep pengendalian terpadu vektor penyakit, 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<sup>(1)</sup>.

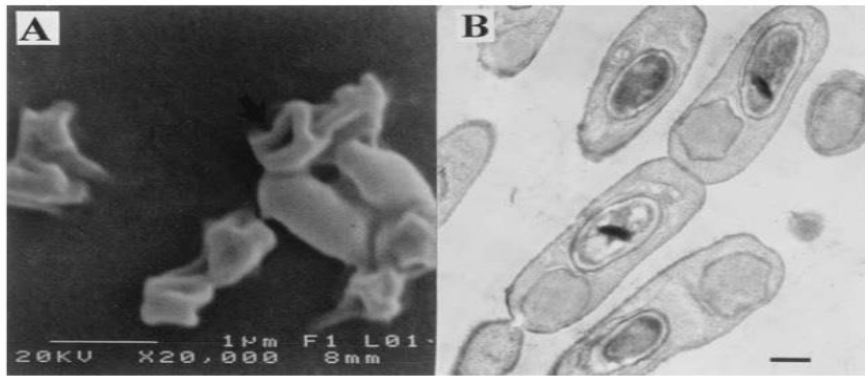
### 2.3. Entomopatogen *Bacillus* sp.

Bakteri *Bacillus* sp. salah satu bakteri tanah yang jumlahnya melimpah, berkisar antara  $10^6$  hingga  $10^7$  sel tiap gram tanah<sup>(11)</sup>. *Bacillus thuringiensis* yang mempunyai aktivitas insektisidal, pertama kali ditemukan oleh Ishiwata tahun 1901, kemudian berikutnya Berliner tahun 1915, dan temuan tersebut mempunyai andil besar di bidang pertanian dalam program pengendalian hama tanaman<sup>(12)</sup>. Pada periode berikutnya Kellen dan kawan-kawan di tahun 1965, melaporkan bahwa *B. sphaericus* yang mempunyai aktivitas bioinsektisidal pertama kali diisolasi dari larva instar IV *Culiceta invidens*, di California USA<sup>(12)</sup>. Sejak ditemukan *B. thuringiensis* var. *israelensis* serotipe H-14 oleh Golberg dan Margalit (1977) di Israel dan terbukti mempunyai aktivitas bioinsektisidal terhadap larva nyamuk<sup>(13)</sup>. Akhir-akhir ini usaha terhadap pencarian bakteri *B. thuringiensis* lokal masih banyak dilakukan di Asia termasuk Indonesia.

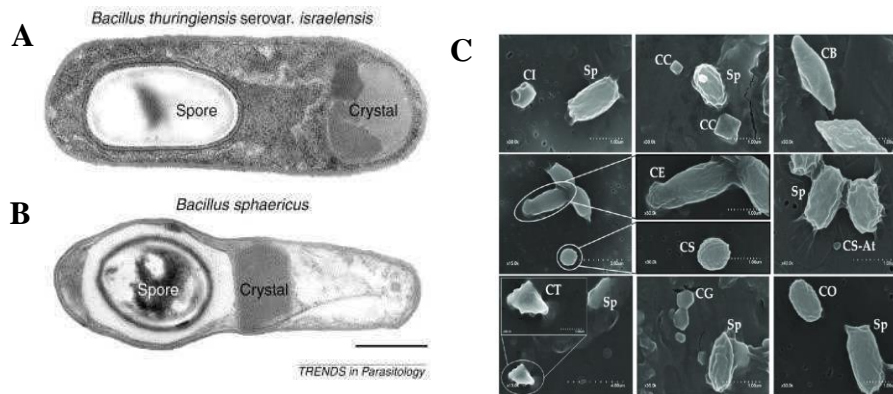
Pusat Penelitian Pengendalian Vektor (VCRC) di India, telah menemukan beberapa isolat lokal yang mempunyai aktivitas insektisidal terhadap larva nyamuk *Culex quinquefasciatus*. Dua isolat yang telah berhasil dikembangkan adalah *B. thuringiensis* H-14 (VCRC B17) dikemas dengan nama dagang *Deltafix*<sup>TM</sup> dan *B. sphaericus* H-5a5b (VCRC B42) dikemas dengan nama dagang *Spherefix*<sup>TM</sup><sup>(12)</sup>. El-kersh, *et al.* (2016), telah mengisolasi dan 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 larvisidal paling tinggi dan potensial dikembangkan sebagai pengendali hayati nyamuk vektor penyakit di masa mendatang<sup>(14)</sup>. Ammouneh *et al.* (2011) juga telah berhasil mengisolasi dan karakterisasi strain lokal *B. thuringiensis* yang berasal dari tanah di Syria yang dapat dikembangkan sebagai bioinsektisida terhadap serangga hama<sup>(6)</sup>. Mardihusodo *et al.* (1991) mengawali penelitian di Indonesia, meneliti 203 sampel yang dikoleksi dari larva nyamuk, tanah, dan air di Jawa Timur, Yogyakarta, Jawa Tengah, namun hanya berhasil menemukan 4 isolat genus *Bacillus* yang mempunyai aktivitas insektisidal<sup>(15)</sup>. 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*<sup>R</sup>)<sup>(15)</sup>.

Toksin *B. thuringiensis* diproduksi selama proses sporulasi, dan berupa endotoksin karena selama sporulasi toksin disimpan di 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<sup>(16)</sup>. 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 permeabilitas membrannya<sup>(16)</sup>. Gangguan terjadi pada transpor ion lintas membran karena adanya ikatan antara protein dengan permukaan mikrofili usus tengah larva, toksin aktif menyebabkan histopatologis pada epitel usus tengah larva, kemudian larva mati beberapa jam setelah pendedahan<sup>(16)</sup>. Gambaran ultrastruktur *Bacillus* sp. dapat dilihat pada gambar 2.1. dan 2.3. berikut<sup>(17; 18)</sup>





Gambar 2.1. Gambaran mikroskop elektron *Bacillus thuringiensis* INTA 51-3. (A) *Scanning electron micrograph* (SEM) spora dan kristal. (B) *Transmission electron micrograph* (TEM) sel sporulasi, menunjukkan spora dan kristal berdinding tebal. (Graciela *et al.*, 2000)<sup>(17)</sup>



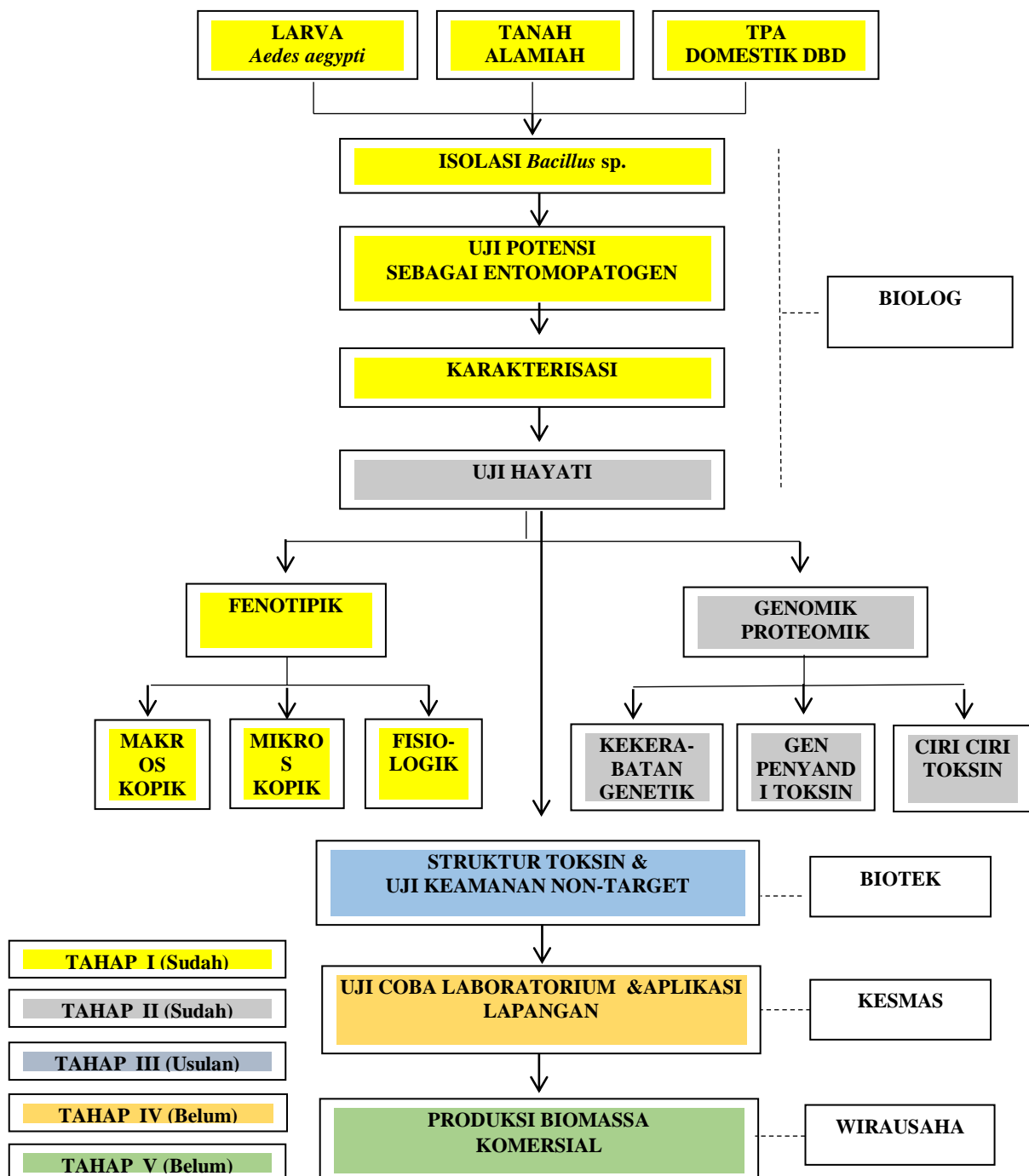
Gambar 2.2. Struktur *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (A), *Bacillus sphaericus* (B) diamati dengan TEM (skala 0.5 $\mu$ m) dan *Bacillus thuringiensis* beserta kristalnya diamati dengan SEM (C) (Regis, L. *et al.*, 2001)<sup>(18)</sup>.

Beberapa bentuk formulasi *B. thuringiensis* H-14 telah berhasil diproduksi, seperti bentuk tepung, tepung lembab, cairan, granula, briket, dan pelet. Bentuk formulasi tersebut mempunyai daya tahan terhadap faktor lingkungan yang berbeda, sehingga dapat dipilih formula yang paling sesuai untuk kondisi lingkungan tertentu<sup>(19)</sup>. *B. sphaericus* H-5a5b (VCRC B-42) bentuk bubuk terbukti patogen terhadap larva *Culex quinquefasciatus* yang ada di Indonesia<sup>(20)</sup>. Larva *Ae. 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<sup>(21)</sup>. Uji coba kemampuan bertahan (residu) toksisitas bakteri *B. thuringiensis* H-14 dan *B. sphaericus* H-5a5b formula bubuk dari VCRC India, baik tunggal maupun kombinasi terhadap larva *Ae. aegypti* di berbagai macam tipe TPA buatan juga pernah dilakukan<sup>(22,23)</sup>. *B. thuringiensis* H-14 bentuk bubuk digunakan di bawah kondisi lapangan, aktivitas larvisidalnya menjadi lebih pendek bila dibandingkan dengan hasil ujinya di laboratorium. Boys *et al.* (2013), telah mengumpulkan hasil penelitian menggunakan berbagai formula bioinsektisida berbahan baku *B. thuringiensis* untuk pengendalian vektor DBD di berbagai negara<sup>(24)</sup>. Berbagai formula telah terbukti dapat menurunkan angka kejadian penyakit DBD setelah bioinsektisida tersebut diterapkan di lapangan<sup>(24)</sup>.

Metode atau cara untuk mencapai tujuan yang telah ditetapkan ditulis tidak melebihi 600 kata. Bagian ini dilengkapi dengan diagram alir penelitian yang menggambarkan apa yang sudah dilaksanakan dan yang akan dikerjakan selama waktu yang diusulkan. Format diagram alir dapat berupa file JPG/PNG. Bagan penelitian harus dibuat secara utuh dengan penahapan yang jelas, mulai dari awal bagaimana proses dan luarannya, dan indikator capaian yang ditargetkan. Dibagian ini harus juga mengisi tugas masing-masing anggota pengusul sesuai tahapan penelitian yang diusulkan.

### 3. METODE

Penelitian yang sudah dilakukan, sedang diusulkan, dan belum dilakukan dapat dilihat pada Diagram Alir Penelitian berikut.



Penelitian tahap III ini dilaksanakan mulai April sampai dengan Nopember 2020, di Lab. Mikrobiologi Fakultas Sains dan Teknologi (FST) Universitas Airlangga Surabaya tempat untuk penyiapan entomopatogen *Bacillus* sp.. Lab. Zoologi FST Universitas Airlangga tempat uji patogenitas dan uji respon inflamasi. Lab. Mikroskop Elektron di ITS dan UGM, untuk mendeteksi gambaran ultrastruktur sel dan toksin inklusi parasporal entomopatogen lokal *Bacillus* sp.

Penelitian ini dilaksanakan secara observasional dan eksperimental. Observasional untuk menentukan gambaran ultrastruktur sel dan toksin inklusi parasporal *Bacillus* sp. lokal dan eksperimental untuk menentukan respon patologik melalui uji patogenitas dan respon inflamasi terhadap organisme non-target. Penelitian observasional melalui SEM dan TEM. Kajian TEM untuk menentukan gambaran sel bakteri fase vegetatif, fase endospora, dan toksin inklusi parasporal, sedangkan SEM untuk menentukan karakter isi dari endospora, yaitu spora dan toksin inklusi parasporal yang ada di endospora. Rancangan penelitian pada Tabel 3.1. Penelitian eksperimental menggunakan Rancangan Faktorial dan rancangan Acak Lengkap untuk uji patogenitas dan respon inflamasi terhadap organisme non-target. Rancangan penelitian Tabel 3.2. adalah untuk uji patogenitas, sedangkan Tabel 3.3. adalah rancangan penelitian untuk uji respon inflamasi. Pengulangan (R) dihitung sesuai rumus  $(n-1)(r-1) > 15$ .

Penelitian tahap III ini, rencana operasional penelitian dilaksanakan 5 sub-tahap, pada gambar 3.2. Data hasil penelitian eksperimental dianalisis secara statistik analitik. Analisis hasil penelitian observasional secara deskriptif dilakukan untuk mendeskripsikan gambaran ultrastruktur sel dan toksin inklusi parasporal.

Tabel 3.1. Rancangan Penelitian Deteksi Ultrastruktur *Bacillus* sp.

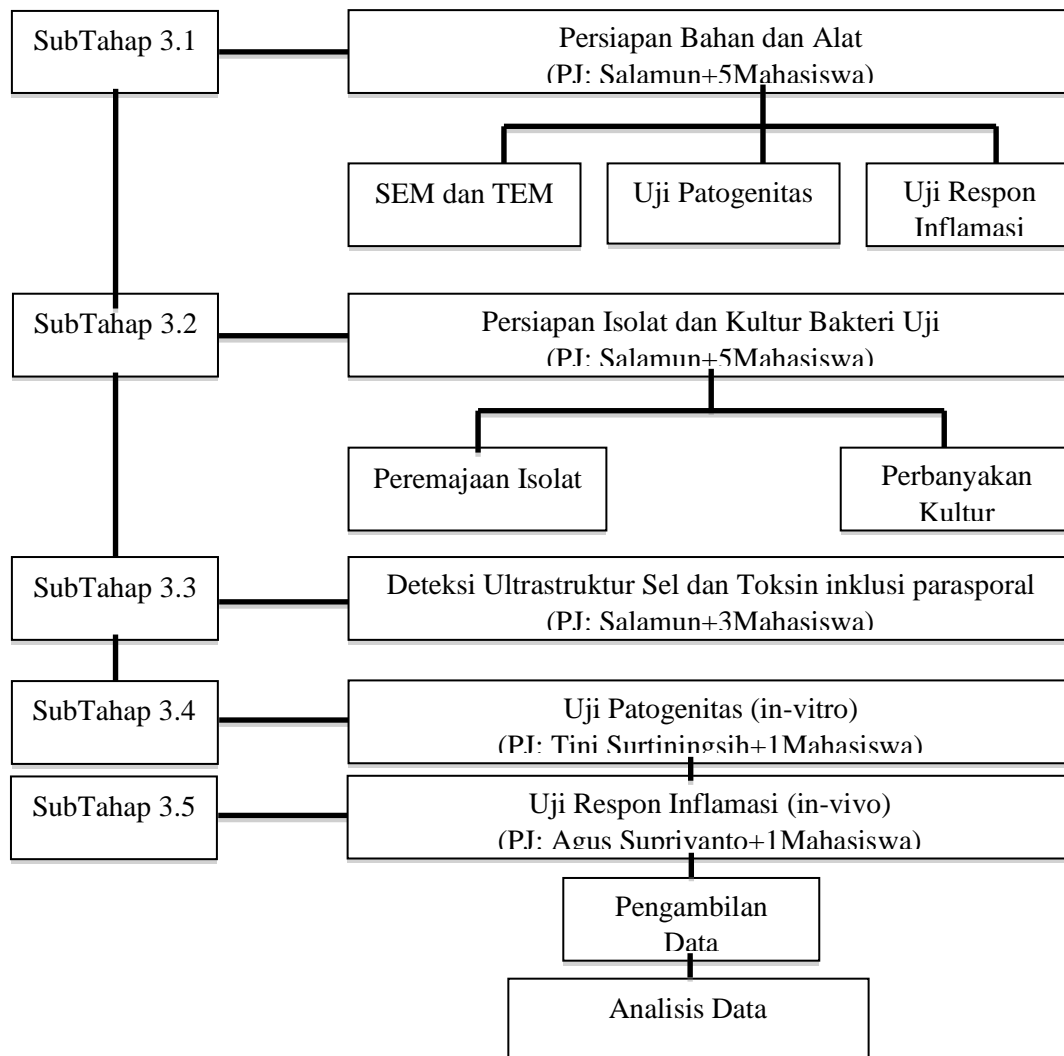
Isolat	TEM		SEM	
	TEM-1	TEM-2	SEM-1	SEM-2
LS9.1	Vegetatif	Endospora	Spora	Toksin
EG6.2	Vegetatif	Endospora	Spora	Toksin
BK5.2	Vegetatif	Endospora	Spora	Toksin

Tabel 3.2. Rancangan Penelitian Uji Patogenitas *Bacillus* sp.

Isolat	Konsentrasi (K)	Uji Patogenitas		
		R1	R2	R3
LS9.1	K(1)			
	K(2)			
	K(3)			
EG6.2	K(1)			
	K(2)			
	K(3)			
BK5.2	K(1)			
	K(2)			
	K(3)			

Tabel 3.3. Rancangan Penelitian Uji Respon Inflamasi *Bacillus* sp.

Isolat	Konsentrasi	Uji Respon Inflamasi		
		R1	R2	R3
LS9.1	K(1)			
EG6.2	K(1)			
BK5.2	K(1)			



**Gambar 3.2. Rencana Operasional Penelitian Tahap III dan Penanggung Jawab (PJ) Penelitian**

## LUARAN

### 1. Jurnal ilmiah

- Indian Journal of Microbiology, Scientific Publisher India, 2021 (Scopus Q3)*
- Ecology, Environment and Conservation, 2020 (Scopus Q4)*

Pengisian poin C sampai dengan poin H mengikuti template berikut dan tidak dibatasi jumlah kata atau halaman namun disarankan ringkas mungkin. Dilarang menghapus/modifikasi template ataupun menghapus penjelasan di setiap poin.

**C. HASIL PELAKSANAAN PENELITIAN:** Tuliskan secara ringkas hasil pelaksanaan penelitian yang telah dicapai sesuai tahun pelaksanaan penelitian. Penyajian meliputi data, hasil analisis, dan capaian luaran (wajib dan atau tambahan). Seluruh hasil atau capaian yang dilaporkan harus berkaitan dengan tahapan pelaksanaan penelitian sebagaimana direncanakan pada proposal. Penyajian data dapat berupa gambar, tabel, grafik, dan sejenisnya, serta analisis didukung dengan sumber pustaka primer yang relevan dan terkini.

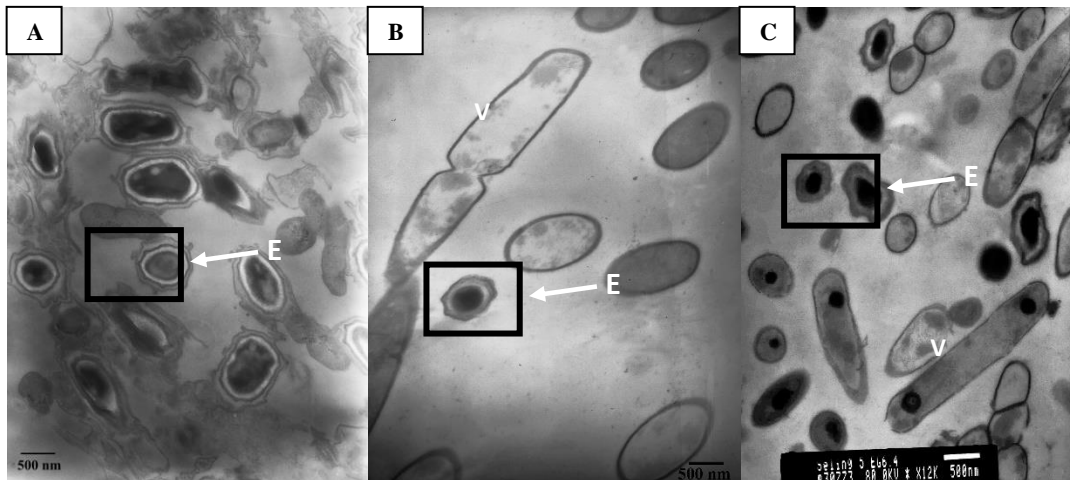
## HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini telah dilakukan sejak April 2020 sampai dengan September 2020. Pada penelitian ini digunakan 3 isolat bakteri *Bacillus* sp. yaitu BK5.2, LS9.1 dan EG6.4 yang telah terbukti berpotensi tinggi sebagai biolarvasida terhadap *Aedes aegypti*. Penelitian dilakukan dengan sub-tahap I yaitu deteksi ultrastruktur sel ber-endospora dan inklusi paraspora, sub-tahap II yaitu uji sensitivitas terhadap organisme non-target, dan sub-tahap III uji aktivitas hemolitik *Bacillus* sp. BK5.2, LS9.1 dan EG6.4.

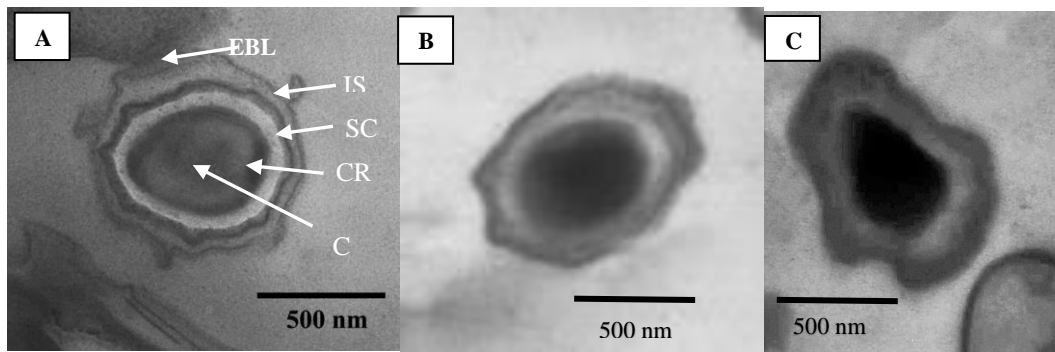
### Hasil Penelitian

#### 1. Deteksi ultrastruktur sel, endospore, dan inklusi paraspora

Sel ber-endospora *Bacillus* sp. BK5.2, LS9.1 dan EG6.4 yang diamati dengan TEM (*Transmission Electron Microscope*) JSM-6510 pada 10 kV ditunjukkan pada gambar 1.1. dan gambar 1.2.

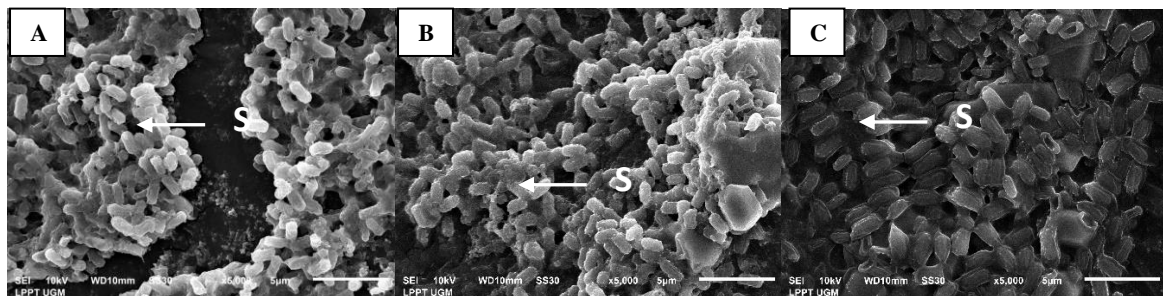


**Gambar 1.1.** Hasil *transmission electron microscope* (TEM) sel vegetatif dan sel ber-endospora *Bacillus* sp. BK5.2 (A), LS9.1 (B) dan EG6.4 (C). Keterangan: endospora (E), sel vegetatif (V)

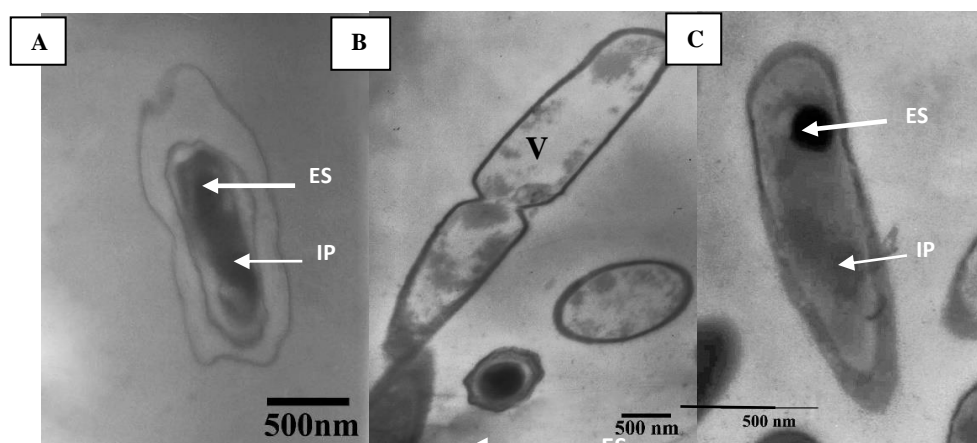


**Gambar 1.2.** *Transmission electron microscope (TEM)* irisan transfersal endospora *Bacillus* sp. BK5.2 (A), LS9.1 (B) dan EG6.4 (C). Keterangan: *exosporium basal layer (EBL)*; *interspace (IS)*; *spore coat (SC)*; *cortex (CR)*; *core (C)*

Hasil deteksi ultrastruktur endospora *Bacillus* sp. BK5.2, LS9.1 dan EG6.4 dengan pengamatan SEM (*Scanning Electron Microscope*) ditunjukkan pada gambar 1.3. Hasil deteksi ultrastruktur inklusi paraspora *Bacillus* sp. BK5.2, dan EG6.4 dengan pengamatan TEM pada gambar 1.4.

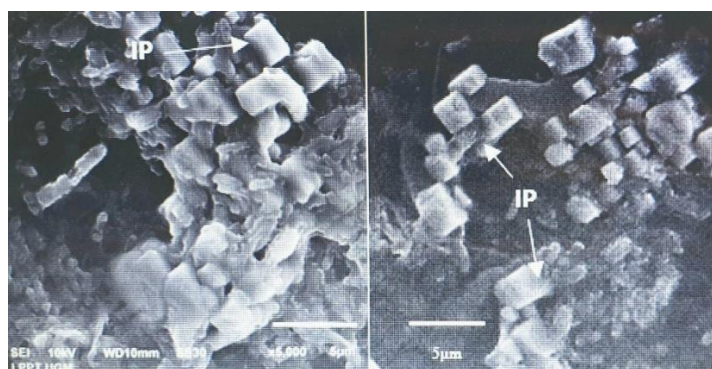


**Gambar 1.3** Hasil *scanning electron microscope (SEM)* endospora *Bacillus* sp. BK5.2, LS9.1 dan EG6.4. Keterangan: Spora (S)



**Gambar 1.4.** *Transmission electron microscope (TEM)* irisan longitudinal endospora *Bacillus* sp. BK5.2, LS9.1 dan EG6.4 (A) endospora yang terletak dalam sel induk. (B) *longitudinal section* isolat *Bacillus* sp. BK5.2. ES (endospora), IP (inklusi paraspora)

Inklusi paraspora *Bacillus* sp. BK5.2, LS9.1 dan EG6.4 yang diamati dengan SEM (*Scanning Electron Microscope*) JSM-6510 pada 10 kV ditunjukkan pada gambar 1.5.



**Gambar 1.5.** Hasil *scanning electrone microscopy* (SEM) inklusi paraspora *Bacillus* sp. BK5.2 berbentuk *cuboidal*. Keterangan: IP (inklusi paraspora)

Gambar 1.1. menunjukkan irisan melintang irisan memanjang baik sel vegetatif maupun sel ber-endospora isolat *Bacillus* sp. BK5.2, LS9.1 dan EG6.4. Pada gambar 2.2. struktur sel vegetatif dan sel ber-endospora isolat *Bacillus* tersebut dapat diamati dengan jelas yang terdiri dari lapisan terluar *exosporium basal layer, interspace, spore cot, cortex,* dan *core*. Pada gambar 1.3. menunjukkan endospore ketiga isolat *Bacillus* itu memiliki bentuk oval dan terlihat *spore coat* yang tebal.

Pada gambar 1.4. irisan memanjang (*longitudinal section*) isolat *Bacillus* sp. BK5.2 menunjukkan adanya endospora dalam sel induk dan inklusi parasporal yang terbentuk. Berdasarkan hasil pengamatan isolat *Bacillus* sp. BK5.2 memiliki endospora yang berbentuk oval hingga silindris dan terletak di subterminal (gambar 1,4,) serta terdapat inklusi paraspora yang berbentuk *cuboidal* (gambar 1.5.)

## 2. Uji sensitivitas organisme non-target

Hasil nilai skoring uji sensitivitas pada kulit punggung mencit disajikan pada tabel 2.1.

**Tabel 2.1.** Nilai skoring berdasarkan tabel *Magnusson* dan *Kligman* pada olesan di kulit punggung. Keterangan: Replikasi=3x; K (-)=Media NYSM; K(+)=Deterjen; Skor 0=tidak ada respon; 1=respon ringan; 2=respon sedang; 3=respon berat.

Isolat	Perlakuan Pengolesan					
	Pengolesan I (1 x Olesan)			Pengolesan II (3 x Olesan)		
	24 jam	48 jam	72 jam	24 jam	48 jam	72 jam
BK5.2	0 ± 0 (a)	0 ± 0 (a)	0 ± 0 (a)	0 ± 0 (a)	0 ± 0 (a)	0 ± 0 (a)
LS9.1	0 ± 0 (a)	0 ± 0 (a)	0 ± 0 (a)	0 ± 0 (a)	0 ± 0 (a)	0 ± 0 (a)
EG6.4	0 ± 0 (a)	0 ± 0 (a)	0 ± 0 (a)	0 ± 0 (a)	0 ± 0 (a)	0 ± 0 (a)
K (-)	0 ± 0 (a)	0 ± 0 (a)	0 ± 0 (a)	0 ± 0 (a)	0 ± 0 (a)	0 ± 0 (a)
K (+)	2,3±0,6 (b)	2,3±0,6 (b)	2,3±0,6 (b)	2,3±0,6 (b)	2,3±0,6 (b)	3,0±0,0(c)

Keterangan: notasi huruf pada nilai tabel *Magnusson* dan *Kligman* variasi pengolesan, menunjukkan ada atau tidak ada beda nyata

Pada penelitian ini uji sensitivitas dilakukan terhadap kulit hewan coba mencit pada bagian punggung dengan perlakuan jenis isolat yang berbeda, yaitu *Bacillus* sp. BK5.2, LS9.1, dan EG6.4, serta bahan kontrol negatif berupa NYSM cair dan kontrol positif menggunakan deterjen. Pengamatan dilakukan dengan tiga tingkatan waktu, yaitu setelah 24 jam, 48 jam, dan 72 jam dengan variasi pengolesan sebanyak dua tipe. Pengolesan I merupakan kelompok hewan coba yang pengolesannya dilakukan hanya sekali, yaitu pada waktu ke-0 kemudian diamati dengan tiga tingkatan waktu yang telah ditentukan. Pengolesan II merupakan kelompok hewan coba yang pengolesannya dilakukan sebanyak tiga kali, yaitu jam ke-0, setelah pengamatan 24 jam dan setelah 48 jam. Hasil pengamatan uji sensitivitas dilakukan dengan mencocokkan dengan Tabel *Magnusson* dan *Kligman* untuk diperoleh hasil berupa data skoring.

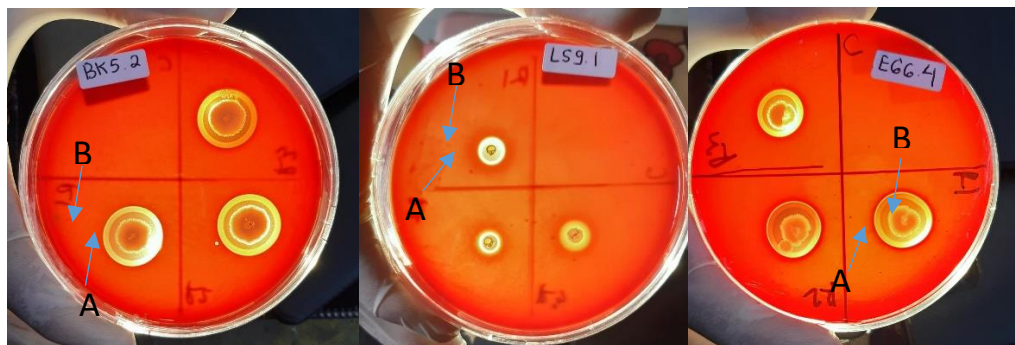
## 3. Uji Aktivitas Hemolitik

Uji aktivitas hemolitik *Bacillus* sp. BK5.2, LS9.1 dan EG6.4 pada media *Blood Agar* dengan metode *paper disk*. Hasil uji aktivitas hemolitik *Bacillus* sp. BK5.2, LS9.1 dan EG6.4 pada media *Blood Agar* dengan *paper disk*, disajikan dalam table 3.2. Sedangkan yang menggunakan metode totol disajikan pada gambar 3.1.

**Tabel 3.2.** Indeks hemolisis dan tipe hemolisis pada media *blood agar*, variasi *Optical Density* (OD) isolat *Bacillus* sp. BK5.2, LS9.1, dan EG6.4.

Jenis Isolat	Variasi OD	Indeks Hemolisis						Tipe Hemolisis			
		C	R1	R2	R3	Rata-rata	Standar deviasi	R1	R2	R3	Kesimpulan
LS9.1	0.8	0	1,03	1,07	0,80	0,96 <sup>(a)</sup>	0,15	β	β	β	β
	0.6	0	0,86	0,78	1,25	0,96 <sup>(a)</sup>	0,25	β	β	β	β
	0.4	0	0,84	0,76	0,67	0,75 <sup>(a)</sup>	0,09	β	β	β	β
EG6.4	0.8	0	0,9	1,07	0,97	0,98 <sup>(b)</sup>	0,09	β	β	β	β
	0.6	0	0,99	1,22	1,24	1,15 <sup>(b)</sup>	0,14	β	β	β	β
	0.4	0	1,15	1,05	0,94	1,04 <sup>(b)</sup>	0,11	β	β	β	β
BK5.2	0.8	0	1,39	2,11	2,04	1,84 <sup>(c)</sup>	0,40	β	β	β	β
	0.6	0	1,64	1,83	1,85	1,76 <sup>(c)</sup>	0,12	β	β	β	β
	0.4	0	1,54	1,70	1,48	1,56 <sup>(c)</sup>	0,11	β	β	β	β

Keterangan: OD<sub>600nm</sub>=*Optical Density* pada 600nm; (a)=notasi hasil uji anova notasi huruf pada nilai indeks hemolisis menunjukkan ada atau tidak ada beda nyata



**Gambar 3.1.** Aktivitas hemolitik isolat *Bacillus* sp. BK5.2, LS9.1, dan EG6.4 pada media *blood agar*. Keterangan: uji menggunakan total; R=Replikasi; A=Koloni; B=Zona bening (hemolisis β)

## Pembahasan

### 1. Deteksi ultrastruktur sel, endospora dan inklusi paraspora

Pada penelitian ini dilakukan pengamatan ultrastruktur sel, endospore, dan inklusi paraspora isolat *Bacillus* sp. BK5.2, LS9.1, dan EG6.4 dengan menggunakan SEM (*Scanning Electrone Microscope*) dan TEM (*Transmission Electrone Microscope*). Pada gambar 1.2. dan 1.3. *transverse section* (iris melintang) struktur endospora terlihat jelas terdiri dari, lapisan *exosporium basal layer*, *interspace*, *spore coat*, *cortex*, dan *core*. Pada gambar 1.4. *longitudinal section* (iris memanjang) menunjukkan isolat *Bacillus* sp. BK5.2 memiliki endospora berbentuk oval dan terletak subterminal serta inklusi paraspora berbentuk *cuboidal*. Pengamatan isolat *Bacillus* sp. BK5.2 menggunakan SEM (gambar 1.5.) didapatkan hasil adanya inklusi paraspora berbentuk *cuboidal*. Dari hasil deteksi ultrastruktur yang diperoleh, dapat dinyatakan bahwa isolat *Bacillus* sp. BK5.2 memiliki kesamaan dengan *B. thuringiensis*. *B. thuringiensis* merupakan bakteri Gram positif, berbentuk batang, bersifat anaerob fakultatif, bentuk endosporanya oval hingga silindris, terletak subterminal<sup>(1)</sup>. Penelitian sebelumnya juga dibuktikan berdasarkan karakteristik fenotipik bahwa isolat *Bacillus* sp. BK5.2 memiliki kesamaan dengan *B. thuringiensis*<sup>(2)</sup>. Ciri khas *B. thuringiensis* adalah mampu membentuk badan inklusi paraspora selama proses sporulasi dan dibuktikan beracun untuk Invertebrata, terutama spesies serangga dalam ordo Coleoptera, Diptera dan Lepidoptera<sup>(3)</sup>. Isolat *Bacillus* sp. BK5.2 memiliki inklusi paraspora berbentuk *cuboidal* yang dapat diamati pada gambar 1.4 dan 1.5. Inklusi paraspora ini terdiri dari protein toksin, yang menunjukkan aktivitas insektisida. Ada hubungan antara aktivitas toksik dan bentuk kristal inklusi paraspora<sup>(4)</sup>. Inklusi paraspora berbentuk *cuboidal* terkait dengan protein *Cry2* dan terkait dengan protein *Cry3*. Protein *Cry2* memiliki kisaran daya bunuh terhadap serangga ordo Lepidoptera dan Diptera. Hal ini diperkuat dengan penelitian bahwa *B. thuringiensis* subsp. *thuringiensis*



strain IS5056 membentuk inklusi paraspora *quasicuboidal* yang memiliki toksisitas terhadap larva Lepidoptera (Noctuidae) <sup>(5)</sup>. Protein *Cry3* yang terkait dalam inklusi paraspora *cuboidal* memiliki kisaran daya bunuh terhadap serangga ordo Coleoptera <sup>(6)</sup>. Hal ini didukung dengan penelitian bahwa *B. thuringiensis* subsp. *tenebrionis* strain Xd3 membentuk inklusi paraspora *flat-square* yang mengandung komponen protein *Cry3* serta dilakukan uji toksisitas terhadap spesies Coleoptera dan didapatkan hasil 100% kematian terhadap larva *Agelastica alni* (Coleoptera: Chrysomelidae), 90% kematian terhadap larva *Amphimallon solstitiale* (Coleoptera: Scarabaeidae) dan *Melolontha melolontha* (Coleoptera: Scarabaeidae) <sup>(7)</sup>.

Pada isolat *Bacillus* sp. EG6.4 yang diamati menggunakan SEM, terlihat spora berbentuk basil. Berbeda halnya dengan hasil pada isolat *Bacillus* sp. BK5.2, isolat *Bacillus* sp. EG6.4 terdeteksi inklusi paraspora yang tidak berbentuk (masif). Pada gambar 1.4. isolat *Bacillus* sp. EG6.4 yang diamati menggunakan TEM dengan magnifikasi 12.000x didapatkan hasil, yaitu terlihat *incipient forespore* yang terletak di subterminal dan membentuk inklusi paraspora. Pada isolat *Bacillus* sp. EG6.4 terbentuk *incipient forespore* yang menunjukkan bahwa isolat *Bacillus* sp. EG6.4 mencapai tahap III sporulasi, dimana mulai terbentuk *incipient forespore* dan inklusi paraspora dengan waktu yang bersamaan. Pada tahap III sporulasi terbentuk *incipient forespore* dan inklusi paraspora yang mendekati membran <sup>(8)</sup>. Berdasarkan hasil pengamatan isolat *Bacillus* sp. EG6.4 memiliki bentuk spora yang khas, yaitu spora bentuk batang seperti gada soliter yang khas seperti spora *B. sphaericus*. Isolat *Bacillus* sp. EG6.4 membentuk inklusi paraspora dengan bentuk *amorf*. Inklusi paraspora *amorf* terkait dengan protein *Cry4* dan *Cyt* <sup>(9)</sup>. Protein *Cry4* memiliki toksisitas terhadap serangga ordo Diptera. Protein *Cyt* memiliki toksisitas terhadap serangga ordo Diptera <sup>(10)</sup>.

Pada isolat *Bacillus* sp. LS9.1 hanya sedikit yang bisa dideteksi dari hasil penelitian ini. Pada gambar 1.2. dan 1.3. *transverse section* struktur endospora yang terlihat jelas terdiri dari, lapisan terluar *exosporium basal layer*, *interspace*, *spore coat*, *cortex*, dan *core*, dan ditemukan fase vegetatif, tetapi tidak terdeteksi adanya inklusi paraspora. Karakteristik endospora dan badan inklusi parasporal yang dihasilkan oleh isolat *Bacillus* sp. BK5.2 dan EG6.4 memiliki perbedaan antara kedua isolat tersebut. *Bacillus* sp. merupakan bakteri yang dapat membentuk endospora. Endospora yang dihasilkan oleh *Bacillus* spp. memiliki kemampuan resistensi terhadap bahan kimia yang terdapat di alam, tahan terhadap panas ekstrem, kondisi kurang air, dan radiasi <sup>(11,12)</sup>. Adanya endospora, letak endospora, dan ukuran endospora dapat dipergunakan untuk mengidentifikasi marga *Bacillus* <sup>(13)</sup>. Tahap sporulasi endospora berpengaruh terhadap perbedaan karakteristik endospora isolat *Bacillus* sp. BK5.2 dan EG6.4. Pada isolat *Bacillus* sp. BK5.2 sudah memasuki tahap VII yang ditandai dengan endospora *mature* dan mengalami lisis dari sel induk, sehingga terlihat jelas struktur, letak dan bentuk endospora. Sedangkan, pada isolat *Bacillus* sp. EG6.4 masih sampai tahap III sporulasi sehingga masih terbentuk *incipient forespore* dan inklusi paraspora. Morfologi inklusi paraspora yang terbentuk pada isolat *Bacillus* sp. BK5.2 dan EG6.4 terdapat perbedaan. Hal itu dikarenakan adanya protein larvasidal yang bertanggung jawab atas pembentuk inklusi paraspora. Inklusi paraspora memiliki beberapa bentuk berdasarkan adanya hubungan nyata antara bentuk kristal dengan kisaran daya bunuhnya <sup>(14)</sup>. Bakteri tersebut memiliki toksin berupa protoksin yang akan bereaksi jika masuk ke dalam usus serangga yang sifatnya alkali sehingga mampu mengubah protoksin menjadi toksin <sup>(15)</sup>

*B. sphaericus* memiliki satu atau dua kombinasi dari tiga jenis protein larvasidal, yaitu protein biner (*BinA*, *BinB*), protein yang dapat larut (*Mtx1*, *Mtx2*, dan *Mtx3*) yang dihasilkan selama pertumbuhan vegetatif, dan toksin kristal dua komponen (*Cry48Aa1* dan *Cry49Aa1*) yang bertanggung jawab atas pembentukan inklusi parasporal <sup>(16)</sup>. *B. sphaericus* memiliki kisaran daya bunuh terhadap serangga ordo Diptera, yaitu larva *Culex*, *Psorophora*, *Culiseta* *mosquitos*, *Aedes* spp. <sup>(17)</sup>. Hal ini diperkuat dengan penelitian yang telah dilakukan bahwa *B. sphaericus* mampu membunuh larva nyamuk *Culex quinquefasciatus*, larva *Aedes aegypti*, dan larva *Anopheles aconitus* <sup>(18)</sup>.

Agen kontrol biologis merupakan alternatif sebagai kontrol vektor penyakit biologis. *Bacillus* sp. merupakan bakteri yang memiliki potensi sebagai agen kontrol biologis dan aman digunakan di lingkungan hidup. *B. thuringiensis* dan *B. sphaericus* memberikan alternatif yang efektif untuk larvasidal spektrum luas dengan memiliki beberapa keunggulan, yaitu mempertimbangkan manfaat lingkungan termasuk keselamatan bagi manusia dan organisme non-target lainnya, pengurangan residu pestisida di perairan, dan meningkatkan keanekaragaman hayati di ekosistem perairan <sup>(19)</sup>.

## 2. Uji sensitivitas non-target

Pengamatan hasil penelitian yang disajikan pada Tabel 2.1 menunjukkan bahwa pada pengolesan I perlakuan isolat LS9.1, EG6.4, dan BK5.2 serta bahan kontrol negatif dengan NYSM cair pada pengamatan 24 jam, 48 jam, dan 72 jam dengan tiga kali pengulangan secara berturut-turut tidak menimbulkan adanya perubahan yang terjadi pada kulit hewan coba mencit (*Mus musculus*) pada badan bagian punggung. Sehingga berdasarkan Tabel Magusson dan Kligman dapat diperoleh skoring sebesar 0. Sedangkan dalam perlakuan bahan kontrol positif dengan deterjen ada pengamatan 24 jam, 48 jam, dan 72 jam dengan tiga kali pengulangan secara berturut-turut menimbulkan adanya variasi perubahan yang terjadi pada kulit hewan coba mencit.

Pada pengolesan II perlakuan isolat LS9.1, EG6.4, dan BK5.2 serta bahan kontrol negatif dengan NYSM cair pada pengamatan 24 jam, 48 jam, dan 72 jam dengan tiga kali pengulangan secara berturut-turut tidak menimbulkan adanya perubahan yang terjadi pada kulit hewan coba mencit (*Mus musculus*) pada badan bagian punggung. Sedangkan dalam perlakuan bahan kontrol positif dengan deterjen ada pengamatan 24 jam, 48 jam, dan 72 jam dengan tiga kali pengulangan secara berturut-turut menimbulkan adanya variasi perubahan yang terjadi pada kulit hewan coba mencit.

Uji keamanan di kulit ini penting dilakukan, karena penggunaan bioinsektisida dimasukkan ke dalam tempat perindukan nyamuk *Ae. aegypti*, baik perindukan alamiah maupun domestik termasuk bak mandi yg sehari hari dapat

kontak dengan kulit manusia. Pestisida adalah semua zat kimia dan bahan lain serta jasad renik dan virus yang dipergunakan antara lain untuk memberantas atau mencegah binatang-binatang dan jasad-jasad renik dalam rumah tangga, bangunan dan dalam alat-alat pengangkutan<sup>(20)</sup>. Bahwa pestisida merupakan bahan beracun yang memiliki potensi menimbulkan dampak negatif terhadap lingkungan dan keanekaragaman hayati, menyebabkan resistensi, resurgensi, timbulnya hama baru, serta gangguan kesehatan manusia dan makhluk hidup lainnya, sehingga harus dikelola dengan penuh kehati-hatian<sup>(20)</sup>.

Pestisida biologi (biopestisida) merupakan pestisida yang berbahan aktif makhluk hidup (mikro organisme) atau virus. Menurut PerKep BPOM (2014), uji toksisitas non-klinik *in vivo*, diantaranya adalah uji sensitisasi kulit<sup>(21)</sup>. Uji toksisitas adalah suatu uji untuk mendeteksi efek toksik suatu zat pada sistem biologi dan untuk memperoleh data dosis-respon yang khas dari sediaan uji<sup>(21)</sup>. Data yang diperoleh dapat digunakan untuk memberi informasi mengenai derajat bahaya sediaan uji tersebut bila terjadi pemaparan pada manusia, sehingga dapat ditentukan dosis penggunaannya demi keamanan manusia. Uji sensitisasi kulit adalah suatu pengujian untuk mengidentifikasi suatu zat yang berpotensi menyebabkan sensitisasi kulit. Prinsip uji sensitisasi kulit adalah hewan uji diinduksi dengan dan tanpa *Freund's Complete Adjuvant* (FCA) secara injeksi intradermal dan topikal untuk membentuk respon imun, kemudian dilakukan uji tantangan (*challenge test*)<sup>(21)</sup>. Tingkat dan derajat reaksi kulit dinilai berdasarkan skala *Magnusson* dan *Kligman*<sup>(21)</sup>. Berdasarkan data hasil penelitian yang dinilai berdasarkan skala *Magnusson* dan *Kligman*, *Bacillus* sp. BK5.2, LS9.1, dan EG6.4 bentuk pelet berisi sel bakteri ber-endospora, dimasukkan dalam kategori aman terhadap kulit hewan coba mencit

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, pada tiga isolat uji tidak menunjukkan adanya perbedaan hasil yang signifikansi, sedangkan jika dibandingkan dengan kontrol positif (deterjen) terdapat perbedaan hasil. Hal ini dikarenakan kontrol positif yang digunakan memiliki daya sensitivitas yang tinggi terhadap kulit hewan coba. Sensitivitas tersebut timbul akibat adanya peningkatan tekanan dan bertambahnya permeabilitas pembuluh darah serta akumulasi volume cairan interstisial yang disebabkan oleh mekanisme fase dilatasi<sup>(22)</sup>. Penyebab tingginya sensitivitas diantaranya karena pH yang jauh dari 7, dapat dikategorikan pH terlalu asam ataupun terlalu basa. Selain itu adanya tambahan zat kimia tertentu juga dapat menyebabkan terjadinya inflamasi terhadap kulit. Salah satu karakteristik dari *Bacillus* sp. yaitu dapat memproduksi protein *Crystal (Cry)* dalam sel bersama dengan spora saat sel mengalami sporulasi<sup>(23)</sup>. Protein *Crystal (Cry)* tersebut bersifat toksis terhadap Diptera baik larva maupun dewasa<sup>(24)</sup>. Sedangkan berdasarkan pengamatan yang telah dilakukan, bahwa pada isolat LS9.1, EG6.4, dan BK5.2 tidak menimbulkan respon inflamasi terhadap kulit, hal itu dikarenakan bakteri *Bacillus* merupakan bakteri yang aman bagi manusia dan organisme non target<sup>(25)</sup>. Berdasarkan data hasil penelitian yang dinilai berdasarkan skala *Magnusson* dan *Kligman*, *Bacillus* sp. BK5.2, LS9.1, dan EG6.4 bentuk pelet berisi sel bakteri ber-endospora, dimasukkan dalam kategori aman terhadap kulit hewan coba mencit.

Uji keamanan di air terhadap hewan non-target ini penting dilakukan, karena penggunaan bioinsektisida ini dapat juga dimasukkan ke dalam tempat perindukan nyamuk, termasuk perindukan nyamuk *Culex*, *Mansonia*, maupun *Anopheles*, di tempat perindukan alamiah maupun domestik termasuk di selokan yang digunakan sebagai tempat hidup ikan dari genus *Poecilia* sebagai predator larva nyamuk tersebut. Telah dilakukan kajian dari hasil penelitian mengenai keamanan agen mikrobial yang digunakan untuk pengendalian lalat hitam dan nyamuk di lingkungan perairan<sup>(25)</sup>. Berdasarkan hasil kajian tersebut disimpulkan bahwa agen mikrobial *B. thuringiensis* var. *israelensis* dan *B. sphaericus* 1593 aman diterapkan di lingkungan perairan, di tempat tersebut terdapat non target dari jenis benthos invertebrata dan jenis jenis ikan<sup>(25)</sup>.

Telah dilakukan kajian mendalam oleh WHO (1999), dan menyimpulkan bahwa kerja inklusi paraspora sangat pesifik, sehingga produk *B. thuringiensis* tidak berbahaya bagi manusia atau vertebrata lain atau sebagian besar non-target invertebrate<sup>(26)</sup>. Produk berbahan baku *B. thuringiensis* aman digunakan untuk pengendalian hama serangga pertanian, hortikultura, dan tanaman hutan<sup>(26)</sup>. Telah dilakukan juga kajian mendalam terhadap *B. thuringiensis* strain Alex-13 isolat dari Mesir sebagai agen pengendali hayati hama tanaman<sup>(27)</sup>. Produk *B. thuringiensis* juga aman untuk digunakan di lingkungan perairan, termasuk waduk air minum untuk pengendalian nyamuk, lalat hitam dan larva serangga pengganggu. Perlu diketahui bahwa *B. thuringiensis* bentuk vegetatif juga memiliki potensi untuk memproduksi toksin yang mirip dengan toksin yang diproduksi oleh *B. cereus*, namun tidak toksik terhadap manusia<sup>(26)</sup>. Agen kontrol biologis merupakan alternatif sebagai kontrol vektor penyakit biologis. *Bacillus* sp. merupakan bakteri yang memiliki potensi sebagai agen kontrol biologis dan aman digunakan di lingkungan hidup. Menurut Lacey *et al.*, (2001) *B. thuringiensis* dan *B. sphaericus* memberikan alternatif yang efektif untuk larvasidal spektrum luas dengan memiliki beberapa keunggulan, yaitu mempertimbangkan manfaat lingkungan termasuk keselamatan bagi manusia dan organisme non-target lainnya, pengurangan residu pestisida di perairan, dan meningkatkan keanekaragaman hayati di ekosistem perairan<sup>(25)</sup>.

### 3. Uji aktivitas hemolitik

Pengamatan hasil penelitian yang menunjukan bahwa pada uji hemolisis *Bacillus* sp. BK5.2, LS9.1, dan EG6.4 pada media *Blood Agar* dengan metode *paper disk* pada pengamatan 24 jam pada media control negatif tidak terjadi perubahan apapun, sedangkan tipe hemolisis isolat LS9.1 dengan variasi OD 0,8; 0,6 dan 0,4 dan dilakukan tiga kali pengulangan pada setiap OD mendapatkan hasil  $\beta$ -hemolisis. Pada isolat EG6.4 dengan variasi OD 0,8; 0,6 dan 0,4 dan dilakukan tiga kali pengulangan pada setiap OD mendapatkan hasil  $\beta$ -hemolisis. Pada isolat BK5.2 dengan variasi OD 0,8; 0,6 dan 0,4 dan dilakukan tiga kali pengulangan pada setiap OD mendapatkan hasil  $\beta$ -hemolisis.

Bakteri jenis *Bacillus* dalam siklus hidupnya mengalami fase vegetatif dan fase sporulasi. Pada fase vegetatif, bakteri tumbuh kembang dan memperbanyak diri serta menghasilkan metabolit sekunder seperti biosurfaktan, enzim, atau eksotoksin untuk keperluan hidupnya. Carrillo *et al.* (1996) menemukan adanya hubungan antara aktivitas hemolitik dengan produksi biosurfaktan, dan merekomendasikan uji aktivitas hemolitik sebagai metode primer untuk mengetahui adanya aktivitas biosurfaktan<sup>(28)</sup>. Beberapa studi menunjukkan bahwa bakteri penghasil biosurfaktan cocok untuk mengendalikan patogen tanaman dan mengendalikan serangga<sup>(29)</sup>. Untuk itu pada penelitian ini perlu juga dilakukan uji aktivitas hemolitik.

*B. subtilis* juga telah dilaporkan memiliki kemampuan untuk menghasilkan toksin *mosquitosidal*<sup>(30,31)</sup>. Biosurfaktan telah diperkenalkan juga sebagai alternatif bahan kimia sintetik untuk mengendalikan serangga. Aktivitas *mosquitosidal* biosurfaktan pada nyamuk dewasa yang diproduksi oleh strain dari marga *Bacillus* telah dilaporkan dapat membunuh nyamuk dewasa<sup>(32)</sup>. Mekanisme kerja biosurfaktan sebagai insektisidal juga telah dilaporkan sebagai metode primer untuk mengetahui adanya aktivitas biosurfaktan. Beberapa studi menunjukkan bahwa bakteri penghasil biosurfaktan cocok untuk mengendalikan patogen tanaman dan mengendalikan serangga<sup>(29)</sup>. *B. subtilis* telah dilaporkan memiliki kemampuan untuk menghasilkan toksin *mosquitosidal*<sup>(30,31)</sup>. Biosurfaktan telah diperkenalkan sebagai alternatif bahan kimia sintetik untuk mengendalikan serangga. Aktivitas *mosquitosidal* biosurfaktan pada nyamuk dewasa yang diproduksi oleh strain *Bacillus* telah dilaporkan dapat membunuh nyamuk dewasa<sup>(32)</sup>. Mekanisme kerja biosurfaktan sebagai insektisida juga telah dilaporkan. Biosurfaktan yang dihasilkan strain *B. subtilis* dilaporkan tersusun oleh campuran molekul seperti asam lemak, peptida, polisakarida serta dapat berupa lipopeptida, lipoprotein, glikolipid, fosfolipid, dan lipopolisakarida. Beberapa senyawa tersebut beracun bagi vektor dan hama artropoda<sup>(30,33)</sup>. Aksi biosurfaktan sebagai toksin *mosquitocidal* terhadap larva dan pupa dimungkinkan karena biosurfaktan memicu penurunan tegangan permukaan air, sehingga menyebabkan kekurangan oksigen di bawah air. Konsentrasi O<sub>2</sub> rendah menyebabkan spirakel serangga terus membuka dan dapat menyebabkan serangga tersebut mati.

Penelitian lain telah menunjukkan bahwa bakteri penghasil biosurfaktan dapat digunakan untuk mengendalikan patogen pada tanaman dan serangga. Dari studi tersebut, biosurfaktan diketahui mampu mempengaruhi kutikula serangga, karena sifat amfifilik dari molekul hidrofobik dan hidrofilik. Melo *et al.* (2016) melaporkan bahwa strain *B. thuringiensis*, selain menghasilkan toksin paraspora yang bersifat sebagai larvasida, juga menghasilkan enzim khitinase yang penting dikembangkan di industri pertanian, serta toksin parasporin yang mempunyai efek sitotoksik terhadap sel kanker<sup>(34)</sup>. Perlu diketahui bahwa *B. thuringiensis* bentuk sel vegetatif juga memiliki potensi untuk memproduksi toksin yang mirip dengan toksin yang diproduksi oleh *B. cereus*, namun tidak toksik terhadap manusia<sup>(50)</sup>. *B. thuringiensis* strain asli yang diisolasi dari Arab Saudi, toksin inklusi paraspora menunjukkan efek sitotoksik terhadap sel-sel kanker serviks<sup>(35)</sup>. Toksin inklusi paraspora *B. thuringiensis* dapat menstimulasi produksi sitokin IL-2 dan IL-5<sup>(36)</sup>. Dari hasil-hasil penelitian tersebut di atas selain sebagai bioinsektisida, bakteri ini juga potensial untuk dikembangkan di berbagai bidang di masa depan.

Karakteristik endospora *B. thuringiensis* dan *B. sphaericus* sangat bervariasi dan terdapat perbedaan antara ketiga spesies tersebut. Kristal protein memiliki beberapa bentuk berdasarkan adanya hubungan nyata antara bentuk kristal dengan kisaran daya bunuhnya terhadap sasaran. Protein larvasidal *Cry* dan *Cyt* yang bertanggung jawab atas pembentukan inklusi paraspora *B. thuringiensis* dibentuk bersama-sama saat sporulasi berlangsung. Protein *Crystal (Cry)* memiliki efek toksik terhadap organisme sasaran dan protein *Cytolitic (Cyt)* memiliki efek hemolitik terhadap serangga sasaran. Sedangkan, *B. sphaericus* menghasilkan satu atau dua kombinasi dari tiga jenis toksin, yaitu toksin biner (BinA, BinB) dan toksin yang dapat larut (Mtx1, Mtx2, dan Mtx3) yang dihasilkan selama pertumbuhan vegetatif.

Hasil TEM dan SEM menunjukkan bahwa di dalam endospore khusus untuk isolat *Bacillus* sp. BK5.2 terdapat gambaran spora beserta bagiannya dan adanya kristal inklusi paraspora berbentuk *cuboidal (flatcuboidal)*. Hasil uji aktivitas hemolitik menunjukkan bahwa *Bacillus* sp. BK5.2 dapat menghemolisis sel darah atau hemolisis positif, sehingga direkomendasikan bahwa *Bacillus* sp. BK5.2 dapat dikembangkan sebagai biolarvasida terhadap *Ae. aegypti*.

Berdasarkan data dari penelitian sub-tahap I, sub-tahap II, dan sub-tahap III, pada penelitian ini telah dilakukan pengamatan dengan TEM dan SEM pada sel-sel bakteri setelah mengalami sporulasi, dan menunjukkan adanya ultrastruktur protein inklusi paraspora berbentuk *flatcuboidal* pada *Bacillus* sp. BK5.2 dan pada *Bacillus* sp. EG6.4 inklusi paraspora bentuk masif. Hasil uji aktivitas hemolitik pada kultur sel vegetatif berumur 24 jam *Bacillus* sp. BK5.2, LS9.1, dan EG6.4, menunjukkan uji aktivitas hemolitik positif. Hasil uji sensitivitas pada kulit, dengan melihat respon inflamasi pada kulit mencit (*Mus musculus*) menunjukkan bahwa *Bacillus* sp. BK5.2, LS9.1, dan EG6.4 aman terhadap non target jika digunakan di TPA perindukan *Ae. aegypti*. Sehingga, temuan temuan pada penelitian ini perlu tindak lanjut dimasa mendatang, baik penelitian yang bersifat pengembangan skala laboratorium maupun penelitian menuju penerapannya sebagai agen hayati ramah lingkungan, baik di bidang pengendalian vektor penyakit, hama tanaman, maupun penyakit tanaman.

## KESIMPULAN DAN SARAN

### Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Berdasarkan deteksi melalui *Transmission Electron Microscopy* (TEM), toksin *Cry* entomopatogen lokal *B. thuringiensis* BK5.2 berada di dalam sel setelah sporulasi dan terletak di bagian inklusi paraspora. Berdasarkan deteksi melalui *Scanning Electron Microscopy* (SEM), toksin berbentuk *flatcuboidal*. Berdasarkan pengamatan melalui *Transmission Electron Microscopy* (TEM), *Bacillus* sp. EG6.4 terdeteksi adanya inklusi paraspora bentuk massif, sedangkan *Bacillus* sp. LS9.1 tidak terdeteksi adanya inklusi paraspora.
2. Hasil uji keamanan biologis terhadap hewan non-target, dengan melakukan observasi respon inflamasi pada kulit hewan uji mencit (*Mus musculus*), membuktikan bahwa entomopatogen lokal *Bacillus* sp. BK5.2, LS9.1, dan EG6.4 aman jika kontak dengan kulit, dengan demikian aman digunakan sebagai bioinsektisida di TPA tempat perindukan nyamuk *Ae. aegypti*.
3. Ada lisis (zona bening) pengaruh dari tiga isolat *Bacillus* sp. LS9.1, EG6.4 dan BK5.2 melalui uji aktivitas hemolitik sel darah merah. Isolat *Bacillus* sp. BK5.2, LS9.1, dan EG6.4 mampu menghemolisis sel darah merah pada masa inkubasi 24 jam, sehingga isolat isolat tersebut juga mempunyai potensi tinggi untuk dikembangkan sebagai bioinsektisida di bidang pertanian.

#### Saran

*Bacillus* sp. LS9.1, EG6.4 dan BK5.2 pada saat proses sporulasi menuju bentuk dorman sel ber-endospora menghasilkan toksin inklusi paraspora, sedangkan pada saat memperbanyak diri dalam bentuk sel vegetatif menghasilkan metabolit sekunder yang terbukti dari uji aktivitas hemolitik positif pada kultur biakan umur 24 jam, sehingga disarankan penelitian lebih lanjut masih perlu dilakukan baik dari aspek biokimiawi untuk mengidentifikasi metabolit sekunder, enzim, atau senyawa lain maupun dari sisi biomolekuler untuk mendeteksi keberadaan struktur toksin lain atau gen penyandi toksin inklusi paraspora yang belum terdeteksi dari hasil penelitian ini.

D. **STATUS LUARAN:** Tuliskan jenis, identitas dan status ketercapaian setiap luaran wajib dan luaran tambahan (jika ada) yang dijanjikan. Jenis luaran dapat berupa publikasi, perolehan kekayaan intelektual, hasil pengujian atau luaran lainnya yang telah dijanjikan pada proposal. Uraian status luaran harus didukung dengan bukti kemajuan ketercapaian luaran sesuai dengan luaran yang dijanjikan. Lengkapi isian jenis luaran yang dijanjikan serta mengunggah bukti dokumen ketercapaian luaran wajib dan luaran tambahan melalui [uacc.unair.ac.id](http://uacc.unair.ac.id).

#### LUARAN PENELITIAN

Luaran Wajib	: Submitted (Program re-working Universitas Airlangga, 2020)
Jurnal dituju	: Ecology, Environment & Conservation, Copyright@ EM International, ISSN 0971-765X (Scopus Q4)
Judul	: Characteristics of native entomopathogenic <i>Bacillus</i> sp. BK5.2 as an environmentally friendly potential agent for disease vectors and plant diseases control
Paper Lengkap	: Terlampir
Luaran Tambahan	: Submitted
Jurnal dituju	: Indonesian Journal of Tropical and Infectious Disease (Sinta 2)
Judul	: Potency of Local Entomopathogenic <i>Bacillus</i> sp. Isolated from <i>Aedes aegypti</i> Larvae as Biolarvicides of Dengue Hemorrhagic Fever Vector
Paper Lengkap	: Terlampir

E. **PERAN MITRA:** Tuliskan realisasi kerjasama dan kontribusi Mitra baik *in-kind* maupun *in-cash*. Bukti pendukung realisasi kerjasama dan realisasi kontribusi mitra dilaporkan sesuai dengan kondisi yang sebenarnya. Bukti dokumen realisasi kerjasama dengan Mitra diunggah melalui [uacc.unair.ac.id](http://uacc.unair.ac.id). **(WAJIB DIISI UNTUK SKEMA HIBAH RISET MANDAT, HIBAH RESEARCH GROUP DAN MITRA KOLABORASI MITRA LUAR NEGERI)**

(Tidak ada)

.....  
 .....  
 .....  
 .....

**F. KENDALA PELAKSANAAN PENELITIAN:** Tuliskan kesulitan atau hambatan yang dihadapi selama melakukan penelitian dan mencapai luaran yang dijanjikan, termasuk penjelasan jika pelaksanaan penelitian dan luaran penelitian tidak sesuai dengan yang direncanakan atau dijanjikan.

(Tidak ada kendala)

**G. RENCANA TAHAPAN SELANJUTNYA:** Tuliskan dan uraikan rencana penelitian di tahun berikutnya berdasarkan indikator luaran yang telah dicapai, rencana realisasi luaran wajib yang dijanjikan dan tambahan (jika ada) di tahun berikutnya serta *roadmap* penelitian keseluruhan. Pada bagian ini diperbolehkan untuk melengkapi penjelasan dari setiap tahapan dalam metoda yang akan direncanakan termasuk jadwal berkaitan dengan strategi untuk mencapai luaran seperti yang telah dijanjikan dalam proposal. Jika diperlukan, penjelasan dapat juga dilengkapi dengan gambar, tabel, diagram, serta pustaka yang relevan. Jika laporan kemajuan merupakan laporan pelaksanaan tahun terakhir, pada bagian ini dapat dituliskan rencana penyelesaian target yang belum tercapai.

Penelitian PUF 2020 ini bagian dari penelitian tahap III yang telah berhasil dilaksanakan, yaitu deteksi struktur toksin paraspora dan kemanannya terhadap non-target. Penelitian direncanakan secara bertahap untuk mendukung Rencana Induk Penelitian (RIP) fakultas dan universitas, bidang Produk Mikroorganisme dan Kedokteran Tropis, khususnya pengembangan bioinsektisida berbahan baku bakteri *Bacillus* sp.

Penelitian pengembangan bioinsektisida lokal ini direncanakan secara bertahap meliputi aspek biologis, yaitu isolasi, uji potensi, dan karakterisasi fenotipik entomopatogen lokal *Bacillus* sp. (tahap I, sudah dilaksanakan dengan dana PUF 2018), penelitian aspek genomic dna proteomik (tahap II, sudah dilaksanakan dengan dana PUF 2019), penelitian uji toksisitas, struktur toksin dan optimalisasi di laboratorium, pengembangan formula, dan uji keamanan terhadap non target (tahap III, sebagian telah dilaksanakan dengan dana PUF 2020 ini, dan rencana diteruskan dilaksanakan tahun berikutnya). Penelitian berikutnya di tahun-tahun mendatang (2021) lebih diarahkan ke mendalami karakteristik genomik-proteomik, optimisasi, formulasi, peran dan cara kerja isolat-isolat potensial, baik sebagai bioinsektisida vektor penyakit maupun sebagai pengendali hayati di bidang pertanian.

**H. DAFTAR PUSTAKA:** Penyusunan Daftar Pustaka berdasarkan sistem nomor sesuai dengan urutan pengutipan. Hanya pustaka yang disitasi pada laporan kemajuan yang dicantumkan dalam Daftar Pustaka.

1. Bravo, A., Sarabia, S., Lopez, L., Ontiveros, H., Abarca, C., 1998. Characterization of *cry* genes in a Mexican *Bacillus thuringiensis* strain collection. *Appl. Environ. Microbiol.* 164, 4965-4972
2. Salamun, Ni'matuzahroh, Fatimah, Findawati, V., Susetyo, R.D., Nurhariyati, T., dan Supriyanto, A. 2020. Prospect of Native Entomopathogenic Bacilli from Baluran National Park as Biological Control of Dengue Fever Vector. *Annals of Biology*, **36** (2):232-237.
3. Andrews, R.E., Faust, R.M., Wabiko, H., Raymond, K.C., dan Bulla, L.A. 1987. The biotechnology of *Bacillus thuringiensis*. *CRC Critical Rev. Biotechnol.* **6**:163-232
4. Maeda, M. E., Y. Mizuki, T. Nakamura, Hatano, M. Ohba, (2000). Recovery of *Bacillus thuringiensis* from Marine Sediments of Japan. *Current Microbiology*, 40:418-442.
5. Swiecicka, I., D.K. Bideshi, B.A. Federici, 2008. Novel isolate of *Bacillus thuringiensis* subsp. *thuringiensis* That Produces a Quasicuboidal Crystal of Cry1Ab21 Toxic to Larvae of Trichoplusiani. *Applied and Environmental Microbiology*, 74(4):923-930
6. Berry, C., O'Neil, S., Ben-Dov, E., Jones, A. F., Murphy, L., Quail, M., Holden, T.G., Harris, D., Zaritsky, A., & Parkhill, J. 2002. Complete sequence and organization of pBtoxis, the toxin-coding plasmid of *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis*. *Appl. Environ. Microbiol.* **68**, 5082-5095.
7. Sezen, K., H. Muratoglu, R. Nalcacioglu, D. Mert, Z. Demirbag, H. Kati, 2008. Highly pathogenic *Bacillus thuringiensis* subsp. *tenebrionis* from European shot-hole borer, *Xyleborus dispar* (Coleoptera: Scolytidae). *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 36(1):77-84
8. Yousten, A.A., Davidson, W. Elizabeth, 1982. Ultrastructural Analysis of Spores and Paraspora Crystals Formed by *Bacillus sphaericus* 2297. *Applied and Environmental Microbiology*, 44 (6):1449-1455.

9. Federici, B.A., H.W. Park, D.K. Bideshi, 2010. Overview of the Basic Biology of *Bacillus thuringiensis* with Emphasis on Genetic Engineering of Bacterial Larvicides for Mosquito Control. *The Open Toxinology Journal*, 3:154-171
10. Zeigler, D.R. 1999. *Bacillus Genetic Stock Center Catalog of Strains, 7th edn, Part 2: Bacillus thuringiensis and Bacillus cereus*. Department of Microbiology. The Ohio State University, Columbus
11. Astuti, R. 2008. Rhizobakteria *Bacillus sp.* asal tanah rizosfer kedelai yang berpotensi memicu pertumbuhan tanaman. *Thesis*.
12. Pratiwi, E.K., S. Samino, Z.P. Gama, N. Nakagoshi, 2013. Uji Toksisitas *Bacillus thuringiensis* Asal Kota Nganjuk Terhadap Larva *Aedes aegypti*. *Jurnal Biotropika*, 1(4):171-176
13. Pelczar, M. J., & dan Chan, E. C. 2005. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jakarta: UI Press.
14. Trizelia. 2001. Pemanfaatan *Bacillus thuringiensis* untuk Pengendalian Hama *Crociodolomia binotalis*, Zell (Lepidoptera: Pyrlidae). *Jurnal Agrikultura*, 19(3):184-190
15. Broderick, N.A., Raffa, K.F., Handelsman, J. 2006. Midgut bacteria required for *Bacillus thuringiensis* insecticidal activity. *PNAS*, 103, 15196-15199.
16. Park, H-W., D.K. Bideshi, B.A. Federici, 2010. Properties and Applied Use of the Mosquitocidal Bacterium, *Bacillus sphaericus*. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 13:159-168
17. Usta, C. 2013. Microorganism in Biological Pest Control - A Review (Bacterial Toxin Application and Effect of Environmental Factors). *Current Progress in Biological Research*, 13:287-317
18. 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
19. Lacey, L.A., R. Frutos, H.K. Kaya, P. Vail, 2001. Insect Pathogens as Biological Control Agents: Do They Have Future? *Biological Control*., 21:230-248
20. Kementan RI, 2015. Pendaftaran Pestisida. *Peraturan Menteri Pertanian* No. 39/Permentan/SR.330/7/2015, Kementerian Pertanian, Jakarta, Indonesia
21. BPOM RI, 2014. Pedoman Uji Toksisitas Non Klinik In Vitro. *Peraturam Kepala BPOM RI Nomor 7 Tahun 2014*, Badan Pengawas Obat dan Makanan RI, Jakarta, Indonesia
22. Hafizi I. dan Marsetyawan H. N. E. S. 2016. *Penentuan konsentrasi stainless steel 316L dan kobalt kromium remanium GM-800 pada uji GPMT*. *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia*, 2(3):121-27.
23. 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
24. Soesanto. 1992. *Bacillus thuringiensis Sebagai Bioinsektisida*. UGM: Yogyakarta
25. Lacey, L.A. & R.W. Merritt, 2014. The Safety of Bacterial Microbial Agents Used for Black Fly and Mosquito Control in Aquatic Environments. *Article ResearchGate*: DOI: 10.1007/978-94-017-1441-9\_8
26. WHO, 1999. Effects on Animals. *Microbial Pest Control Agent Bacillus thuringiensis*. World Health Organization, Geneva
27. Ahmed, A. H., G.S. Ali., M.U. Abdul-Rouf, 2015. Isolation, Characterization and Molecular Identification of *Bacillus thuringiensis* Alex-13 Isolated from Egypt Against *Spodoptera littoralis*. *International Journal of Microbiology and Applied Science*, 2(20):34-44.
28. Carrillo, P.G., C. Mardaraz, S.I. Pitta-Alvarez, A.M. Giulietti, 1996. Isolation and Selection of Biosurfactant-Producing Bacteria. *World J Microbiol Biotechnol.*, 12(1):82-84.
29. Bais, H.P., R. Fall, J.M. Vivanco, 2004. Biocontrol of *Bacillus subtilis* against Infection of Arabidopsis Roots by *Pseudomonas syringae* is Facilitated by Biofilm Formation and Surfactin Production. *Plant Physiol.*, 134:307-319
30. Das, A., and A.K. Mukherjee, 2006. Assessment of Mosquito Larvicidal Potency of Cyclic Lipopeptides Produced by *Bacillus subtilis* Strains. *Acta Tropica*, 97(2):168-173
31. Manonmani, A.M., I. Geetha, S. Bhuvaneshwari, 2011. Enhanced Production of Mosquitocidal Cyclic Lipopeptide from *Bacillus subtilis* subsp. subtilis. *Ind. J. Med. Res.*, 134:476-482.
32. Geetha, I., K.P. Paily, A.M. Manonmani, 2012. Mosquito Adulticidal Activity of A Biosurfactant Produced By *Bacillus subtilis* subsp. subtilis. *Pest Manag. Sci.*, 68:1447-1450.
33. Geetha, I., and A.M. Manonmani, 2010. Surfactin: a Novel Mosquitocidal Biosurfactant Produced by *Bacillus subtilis* subsp. subtilis (VCRC B471) and Influence of Abiotic Factors on Its Pupicidal Efficacy. *Lett. Appl. Microbiol.*, 51:406-412.
34. Melo, A.L.A., V.T. Soccol, C.R. Soccol, 2016. *Bacillus thuringiensis* : Mechanism of Action, Resitance, and New Applications : a Review. *Critical Reviews in Biotechnology*, 36-Issue 2:317-326
35. Aboul-Soud, M.A.M., M. Z. Al-Amri, A. Kumar, Y.A. Al-Sheikh, A.E. Ashour, T.A. El-Kersh, 2019. Specific Cytotoxic Effects of Paraspora Crystal Proteins Isolated from Native Saudi Arabian *Bacillus thuringiensis* Strains against Cervical Cancer Cells. *Molecules*, 24,506:1-16
36. Soleimany, M., E. Moazamian, M. Rasouli, 2018. Effect of *Bacillus thuringiensis* Paraspora Toxin on Stimulating of IL-2 and IL-5 Cytokines Production. *Biological Journal of Microorganism*, 7(25):100-109