

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pengendalian serangga menggunakan musuh alaminya merupakan hal yang banyak dianjurkan dibandingkan pengendalian dengan insektisida berbahan aktif kimia. Musuh alami berupa entomopatogen jamur, bakteri, virus, maupun tumbuhan, dapat menghasilkan suatu metabolit yang bersifat toksin terhadap serangga. Keunggulan entomopatogen adalah kekhususan atau selektivitas inangnya relatif tinggi, sehingga tidak menimbulkan polusi dan kontaminasi pada lingkungan hidup (Jumiarti, 2012).

Perkembangan pemanfaatan bakteri entomopatogen dalam mengendalikan vektor virus salah satunya virus *dengue* sudah cukup berkembang. Pengendalian secara biologis untuk mengontrol vektor virus *dengue* dapat dilakukan dengan memanfaatkan organisme hidup, salah satunya adalah dengan menggunakan mikroorganisme kelompok bakteri. Beberapa bakteri yang diketahui mampu membunuh vektor nyamuk adalah kelompok bakteri *Bacillus*. Sebagai contohnya penggunaan bakteri *Bacillus thuringiensis israeliensis* (Bti) sebagai senyawa bakteri dilaporkan efektif mengendalikan larva (Lutz, 2000). Bakteri ini mampu memproduksi inklusi protein *Cry* pada saat sporulasi yang dapat menyebabkan racun bagi banyak organisme terutama serangga (Soares-da-Silva *et al.*, 2015).

B. thuringiensis dapat mematikan berbagai larva nyamuk baik *Aedes*, *Culex* maupun *Anopheles*, tetapi tidak mematikan bagi organisme yang bukan sasarannya. Studi untuk mengisolasi dan mengidentifikasi *B. thuringiensis* masih terus dilakukan, karena masih banyak vektor penyakit yang disebabkan oleh nyamuk (Purnawati *et al.*, 2015).

Protein toksin *B. thuringiensis* dihasilkan dalam bentuk protoksin jika bakteri berada dalam kondisi yang tidak menguntungkan seperti nutrisi makanan yang berkurang. Toksin *B. thuringiensis* akan bereaksi di dalam usus serangga dan mengubah protoksin menjadi toksin (Broderick *et al.*, 2006). Protein toksin kristal (*Cry*) yang dihasilkan *B. thuringiensis* dapat diklasifikasikan berdasarkan spesifikasinya terhadap kelompok hama tertentu (Margino dan Mangundihardjo, 2002).

Selain *B. thuringiensis*, beberapa kelompok *Bacillus* yang telah diketahui memiliki kemampuan sebagai biolarvasida maupun bioinsektisida adalah *B. subtilis*. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Geetha *et al.* (2007) *Bacillus subtilis* diketahui mampu membentuk spora yang senyawa metabolitnya mampu membunuh nyamuk pada tahap pupa dan dewasa. Kemudian menurut Aronson *et al.* (1986) *B. sphaericus* juga mampu menghasilkan toksin mosquitocidal yang diproduksi saat bersporulasi.

Penelitian ini adalah bagian dari payung penelitian yang dilakukan dalam upaya pengembangan bioinsektisida lokal sebagai pengendali DBD di Indonesia. Hasil isolasi dari tanah Taman Nasional Baluran yang telah dilakukan oleh Susetyo (2018) berhasil mendapatkan bakteri potensial kelompok *Bacillus* sp. sebanyak tiga isolat yang

berpotensi membunuh larva *Aedes aegypti* diatas 50%, yaitu isolat BK 5.2, BK 7.1, dan BK 7.2. Pada penelitian tersebut isolat BK 7.2 dan BK 5.2 memiliki indeks kesamaan dengan *Bacillus thuringiensis* sebesar 63,15%, dan BK 7.1 memiliki indeks kesamaan dengan *Bacillus sphaericus* sebesar 63,15%. Indeks kesamaan ini didapatkan melalui analisis mikroskopis, makroskopis serta biokimia. Oleh karena itu, pada penelitian ini perlu dilakukan analisis molekuler melalui identifikasi sekuens gen 16S rRNA, mendeteksi keberadaan gen penyandi toksin *cry* pada isolat *Bacillus* sp. BK 7.2, serta mengetahui mekanisme apa yang dilakukan isolat bakteri ini sehingga memiliki sifat patogen dan berpotensi dikembangkan sebagai biolarvasida maupun bioinsektisida. Kemudian dari hasil sekuens gen 16S rRNA diharapkan dapat mengetahui nama spesies isolat potensial dari bakteri *Bacillus* sp. BK 7.2. Gen penyandi 16S rRNA dapat digunakan sebagai penanda molekuler, karena sekuens tersebut bersifat universal dengan fungsi yang identik pada seluruh organisme prokariot (Pangastuti, 2006).

Penelitian mengenai potensi isolat lokal bakteri *Bacillus* sp. dari Taman Nasional Baluran sebagai entomopatogen terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* masih belum diketahui informasinya. Selain itu, informasi mengenai karakteristik genetik dan protein *Cry* pada bakteri *Bacillus* sp. dari Taman Nasional Baluran juga dilakukan untuk melengkapi data profil yang telah ada seperti karakter makroskopis, mikroskopis dan fisiologis yang telah dilakukan pada penelitian yang telah dilakukan oleh Susetyo (2018). Pentingnya mengetahui nama jenis isolat *Bacillus* sp. BK 7.2 serta mendeteksi adanya gen *cry* pada isolat ini yaitu agar dapat menentukan senyawa apa yang dihasilkan oleh isolat tersebut dan mengetahui bagaimana mekanismenya sehingga

menyebabkan bakteri ini bersifat entomopatogen. Dengan mengetahui hal tersebut maka dapat dilakukan upaya optimasi untuk menghasilkan biolarvasida dan bioinsektisida yang efektif dan ramah lingkungan.

Oleh karena itu, penelitian ini perlu dilakukan agar dapat mengetahui informasi mengenai karakterisasi molekuler dan untuk mengeksplorasi galur-galur lokal *Bacillus* sp. penghasil toksin yang berpotensi sebagai anti serangga dari Taman Nasional Baluran terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*. Kemudian mengidentifikasi keberadaan protein toksin yang dihasilkan bakteri ini yang diidentifikasi dan dianalisis dengan SDS-PAGE, serta mengetahui mekanisme entomopatogen apa yang dilakukan oleh isolat *Bacillus* sp. BK 7.2.

Mekanisme *Bacillus* yang menyebabkan kematian pada larva nyamuk *Aedes aegypti* dapat disebabkan oleh adanya aktivitas biosurfaktan yang dihasilkan oleh kelompok *Bacillus*. Dimana biosurfaktan merupakan makromolekul ekstraseluler yang dapat diproduksi oleh bakteri *Bacillus subtilis*. Sama halnya dengan surfaktan sintetik, biosurfaktan juga memiliki kemampuan menurunkan tegangan permukaan suatu fase zat (Raza *et al.*, 2005). Penurunan tegangan permukaan dapat menyebabkan penurunan kadar oksigen dalam fase zat tersebut. Larva dan pupa nyamuk membutuhkan oksigen atmosfer untuk respirasi mereka. Karena penurunan tegangan permukaan air akibat aktifitas biosurfaktan, larva dan kepompong tidak mampu mendapatkan oksigen, sehingga menyebabkan kematian (Piper dan Maxwell, 1971).

1.2 Rumusan Masalah

1. Apa nama spesies isolat *Bacillus* sp. BK 7.2 entomopatogen dari Taman Nasional Baluran berdasarkan analisis gen penyandi 16S rRNA?
2. Apakah isolat *Bacillus* sp. BK 7.2 entomopatogen dari Taman Nasional Baluran memiliki gen penyandi toksin *cry*?
3. Bagaimana mekanisme entomopatogen yang dilakukan isolat *Bacillus* sp. BK 7.2 dari Taman Nasional Baluran?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui nama spesies isolat *Bacillus* sp. BK 7.2 entomopatogen dari Taman Nasional Baluran berdasarkan analisis gen penyandi 16S rRNA.
2. Mengetahui keberadaan gen penyandi toksin pada isolat *Bacillus* sp. BK 7.2 entomopatogen dari Taman Nasional Baluran.
3. Mengetahui mekanisme entomopatogen yang dilakukan isolat *Bacillus* sp. BK 7.2 dari Taman Nasional Baluran.

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi terkait bakteri entomopatogen dan nama spesies isolat dari Taman Nasional Baluran dan mengetahui keberadaan gen penyandi toksin *cry* serta mengetahui mekanisme entomopatogen yang dilakukan bakteri ini dan dapat dimanfaatkan sebagai biolarvasida dan bioinsektisida.