PERBANDINGAN TINGKAT TOKSISITAS *Bacillus thuringiensis* HASIL ISOLASI DI KOTA DAN KABUPATEN SEMARANG DENGAN BACTIVEC TERHADAP LARVA *Culex quinquefasciatus* INSTAR III

SKRIPSI

Diajukan Untuk Memenuhi Sebagian Syarat Guna Memperoleh
Gelar Sarjana Sains (S. Si) dalam Ilmu Biologi

DISUSUN OLEH:

WIWID WIDIA YULHENDRIK

NIM 2108016021

PROGRAM STUDI S-1 BIOLOGI

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI WALISONGO

SEMARANG

2025

PERBANDINGAN TINGKAT TOKSISITAS *Bacillus thuringiensis* HASIL ISOLASI DI KOTA DAN KABUPATEN SEMARANG DENGAN BACTIVEC TERHADAP LARVA *Culex quinquefasciatus* INSTAR III

SKRIPSI

Diajukan Untuk Memenuhi Sebagian Syarat Guna Memperoleh

Gelar Sarjana Sains (S. Si) dalam Ilmu Biologi

DISUSUN OLEH:

WIWID WIDIA YULHENDRIK

NIM 2108016021

PROGRAM STUDI S-1 BIOLOGI

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI WALISONGO

SEMARANG

2025

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Wiwid Widia Yulhendrik

NIM : 2108016021

Program Studi : Biologi

Menyatakan bahwa Skripsi yang berjudul:

PERBANDINGAN TINGKAT TOKSISITAS *Bacillus thuringiensis* HASIL ISOLASI DI KOTA DAN KABUPATEN SEMARANG DENGAN BACTIVEC TERHADAP LARVA *Culex quinquefasciatus* INSTAR III

Secara keseluruhan merupakan hasil penelitian/karya sendiri, kecuali bagian tertentu yang dirujuk sumbernya.

Semarang, 29 Juli 2025

Pembuat Pernyataan,



Wiwid Widia Yulhendrik

NIM 2108016021

KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI WALISONGO
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
Jl. Prof. Dr. Hamka Ngaliyan Semarang
Telp.024-7601295 Fax.7615387

LEMBAR PENGESAHAN

Naskah skripsi berikut:

Judul : Perbandingan Tingkat Toksisitas *Bacillus thuringiensis* Hasil Isolasi di Kota dan Kabupaten Semarang dengan *Bactivec* Terhadap Larva *Culex quinquefasciatus* Instar III

Penulis : Wiwid Widia Yulhendrik

NIM : 2108016021

Program Studi : S1 Biologi

Telah diujikan dalam sidang tugas akhir oleh Dewan Penguji Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo dan dapat diterima sebagai salah satu syarat memperoleh gelar sarjana dalam ilmu Biologi.

Semarang, 22 Agustus 2025

DEWAN PENGUJI

Penguji I

Andang Syaifudin, M.Sc.
NIP. 198907192019031010

Penguji II

Galih Kholifatun Nisa', M.Sc.
NIP. 199006132019032018

Penguji III

Dr. Siti Mukhlisoh Setyawati, M.Si.
NIP.197611172009122001

Penguji IV

Asri Febriana, M.Si.
NIP. 198902012019032015

Pembimbing I

Andang Syaifudin, M.Sc.
NIP. 198907192019031010

Pembimbing II

Galih Kholifatun Nisa', M.Sc.
NIP. 199006132019032018

NOTA DINAS

Semarang, 04 Agustus 2025

Yth. Ketua Program Studi Biologi
Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Walisongo Semarang

Assalamu'alaikum wr.wb.

Dengan ini diberitahukan bahwa saya telah melakukan bimbingan, arahan dan koreksi naskah skripsi dengan:

Judul	: Perbandingan Tingkat Toksisitas *Bacillus thuringiensis* Hasil Isolasi di Kota dan Kabupaten Semarang dengan *Bactivec* Terhadap Larva *Culex quinquefasciatus* Instar III
Nama	: Wiwid Widia Yulhendrik
NIM	: 2108016021
Program Studi	: S1 Biologi

Saya memandang bahwa naskah skripsi tersebut sudah dapat diajukan kepada Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo Semarang untuk diujikan dalam Sidang Munaqosyah.

Wassalamualaikum wr.wb.

Pembimbing I

Andang Syaifudin, M.Sc.
NIP.19890719201903101

NOTA DINAS

Semarang, 04 Agustus 2025

Yth. Ketua Program Studi Biologi
Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Walisongo Semarang

Assalamu'alaikum wr.wb.

Dengan ini diberitahukan bahwa saya telah melakukan bimbingan, arahan dan koreksi naskah skripsi dengan:

Judul	: Perbandingan Tingkat Toksisitas *Bacillus thuringiensis* Hasil Isolasi di Kota dan Kabupaten Semarang dengan *Bactivec* Terhadap Larva *Culex quinquefasciatus* Instar III
Nama	: Wiwid Widia Yulhendrik
NIM	: 2108016021
Program Studi	: S1 Biologi

Saya memandang bahwa naskah skripsi tersebut sudah dapat diajukan kepada Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo Semarang untuk diujikan dalam Sidang Munaqosyah.

Wassalamualaikum wr.wb.

Pembimbing II

Galih Kholifatun Nisa', M.Sc.
NIP. 199006132019032018

ABSTRAK

Culex quinquefasciatus merupakan vektor utama penyakit filariasis yang masih menjadi masalah kesehatan di daerah tropis. Penyakit ini dapat menyebabkan kecacatan permanen seperti pembengkakan jaringan (lymphedema) yang berdampak signifikan terhadap kualitas hidup penderitanya. Penggunaan *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) sebagai larvasida hayati menjadi alternatif ramah lingkungan dibandingkan insektisida kimia. Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan toksisitas dua isolat *Bt* lokal asal Semarang yaitu BTS1 (asal wilayah perkotaan) dan BTS2 (asal wilayah kabupaten dengan larvasida komersial Bactivec (BAC) terhadap larva *Culex quinquefasciatus* instar III. Uji toksisitas dilakukan pada dua waktu pengamatan yakni 20 jam dan 24 jam. Isolat *Bt* lokal diuji dengan variasi dosis 0,1 ml; 0,3 ml; 0,5 ml; 0,7 ml; 1 ml; dan 3 ml, sedangkan Bactivec diuji dengan dosis lebih rendah, yaitu 0,0001 ml; 0,0005 ml; 0,0007 ml; 0,001 ml; 0,003 ml; dan 0,01 ml. Nilai LC_{50} dan LC_{90} dianalisis menggunakan regresi probit. Hasil menunjukkan bahwa pada pengamatan 20 jam, nilai LC_{50} berturut-turut adalah Bactivec = 0,000624 ml; BTS1 = 00,816 ml; dan BTS2 = 1,210 ml. Adapun nilai LC_{90}-nya adalah Bactivec = 0,00171 ml; BTS1 = 1,161 ml; dan BTS2 = 2,692 ml. Sementara pada 24 jam, nilai LC_{50} adalah Bactivec = 0,000612 ml; BTS1 = 0,788 ml; dan BTS2 = 1,007 ml. Nilai LC_{90}-nya adalah Bactivec = 0,00142 ml; BTS1 = 1,148 ml; dan BTS2 = 1,907 ml. Urutan efektivitas dari yang paling toksik adalah Bactivec > BTS1 > BTS2. Selain itu, perlakuan *Bt* juga menyebabkan perubahan morfologi larva seperti warna tubuh yang lebih gelap, kerusakan pada abdomen, dan pembengkakan, terutama setelah 24 jam. Isolat lokal BTS1 menunjukkan potensi sebagai biolarvasida alternatif meskipun masih di bawah efektivitas Bactivec.

Kata Kunci*: Bacillus thuringiensis*, Bactivec*,* Biolarvasida, *Culex quinquefasciatus*, Isolat lokal, LC_{50}, LC_{90}

ABSTRACT

Culex quinquefasciatus is the primary vector of filariasis, a disease that remains a significant public health problem in tropical regions. This disease can cause permanent disabilities such as tissue swelling (lymphedema), which severely impacts the quality of life of affected individuals. The use of *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) as a biological larvicide offers an environmentally friendly alternative to chemical insecticides. This study aims to compare the toxicity of two local isolates *Bt* from Semarang BTS1 (from urban areas) and BTS2 (from rural areas) with the commercial larvicide Bactivec (BAC) against third instar *Culex quinquefasciatus* larvae. Toxicity tests were conducted at two observation periods 20 hours and 24 hours. The local isolates *Bt* were tested at doses of 0,1 ml; 0,3 ml; 0,5 ml; 0,7 ml; 1 ml; and 3 ml, while Bactivec was tested at lower doses: 0,0001 ml; 0,0005 ml; 0,0007 ml; 0,001 ml; 0,003 ml; and 0,01 ml. LC_{50} and LC_{90} values were analyzed using probit regression. The results showed that at the 20-hour observation, the LC_{50} values were: Bactivec = 0,000624 ml; BTS1 = 0,816 ml; and BTS2 = 1,210 ml. The corresponding LC_{90} values were: Bactivec = 0,00171 ml; BTS1 = 1,161 ml; and BTS2 = 2,692 ml. At 24 hours, the LC_{50} values were: Bactivec = 0,000612 ml; BTS1 = 0,788 ml; and BTS2 = 1,007 ml, while the LC_{90} values were: Bactivec = 0,00142 ml; BTS1 = 1,148 ml; and BTS2 = 1,907 ml. The order of effectiveness from the most toxic to the least was: Bactivec > BTS1 > BTS2. In addition, *Bt* treatments caused morphological changes in the larvae, including darkened body color, abdominal damage, and swelling, especially after 24 hours. The BTS1 local isolate demonstrated potential as an alternative biolarvicide, although its effectiveness remains lower than that of Bactivec.

Keywords: *Bacillus thuringiensis*, Bactivec, Biolarvicide, *Culex quinquefasciatus*, Local isolate, LC_{50}, LC_{90}

TRANSLITERASI ARAB-LATIN

Pedoman penulisan skripsi ini mengikuti pedoman transliterasi huruf arablatin SKB (Sesuai Keputusan Bersama) Menteri Agama. Menteri Pendidikan, serta Menteri Kebudayaan RI Nomor:158 tahun 1987 dan Nomor: 0543b/U/1987 sebagai berikut:

أ	A	ط	t}
ب	B	ظ	z}
ت	T	ع	‘
ث	s\	غ	G
ج	J	ف	F
ح	h}	ق	Q
خ	Kh	ك	K
د	D	ل	L
ذ	z\	م	M
ر	R	ن	N
ز	Z	و	W
س	S	ه	H
ش	Sy	ء	‘
ص	s}	ي	Y
ض	d}		

Bacaan Madd:

a > = a panjang

I > = i panjang

u >= u panjang

Bacaan Diftong :

au = أو

ai = أ ي

iu = أ ي

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis ucapkan kepada Allah Yang Maha Esa, karena atas rahmat dan nikmat-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **Perbandingan Tingkat Toksisitas *Bacillus thuringiensis* Hasil Isolasi di Kota dan Kabupaten Semarang dengan *Bactivec* Terhadap Larva *Culex quinquefasciatus* Instar III**. Skripsi ini menjadi bukti nyata bahwa penulis telah bersusah payah dan bersungguh-sungguh dalam menjalankan kewajibannya sebagai seorang mahasiswa dan ditujukan sebagai bentuk tanggungjawab penulis sebagai mahasiswa program studi biologi yang diharuskan memiliki kontribusi kepada masyarakat maupun lingkungan atas ilmu yang telah didapatkan di bangku perkuliahan.

Selain mengantarkan skripsi ini secara singkat, pada bagian kata pengantar ini penulis ingin menyampaikan rasa terimakasih yang tidak ternilai untuk semua pihak yang turut serta memberikan bantuan sehingga skripsi ini dapat diselesaikan. Ucapan terimakasih penulis tujukan kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Nizar, M. Ag. selaku Rektor UIN Walisongo Semarang.
2. Bapak Prof Dr. H. Musahadi, M. Ag. selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo Semarang.

3. Ibu Dr. Dian Ayuning Tyas, M. Biotech. selaku Ketua Program Studi Biologi UIN Walisongo Semarang.
4. Bapak Andang Syaifudin, M. Sc., selaku dosen pembimbing I yang telah banyak membantu, meluangkan waktu dan tenaganya untuk mengarahkan dan membimbing penulis selama proses penelitian serta pengerjaan skripsi.
5. Ibu Galih Kholifatun Nisa', M. Sc. selaku dosen pembimbing II yang senantiasa memberikan semangat, arahan, dan bimbingan dengan sabar dan tulus terkait riset dan penulisan dalam skripsi.
6. Bapak Abdul Malik, M. Si. selaku Dosen Wali yang senantiasa membimbing dan memberikan pengarahan, saran, dan nasihat-nasihat yang baik.
7. Bu Dr. Siti Mukhlishoh Setyawati, M. Si. dan Bu Asri Febriana, M. Si., dosen penguji yang telah memberikan saran, masukan, dan koreksi untuk perbaikan penelitian.
8. Nenek (Emak) dan Kakek (Abah) penulis, Almh. Hodijah dan Alm. Omo Watma yang senantiasa merawat, membesarkan penulis dengan mencurahkan kasih sayang, perhatian dan selalu memberikan dukungan dari penulis masih kecil hingga masuk kejenjang perkuliahan.
9. Orangtua penulis, Alm. Ayah Iyen Yulhendrik, Mimih Yayah, Papap Dedin, dan Mama Sinta yang senantiasa sabar dan memberikan do'a yang tulus serta memberi semangat

dan dukungan baik moral maupun material selama kegiatan perkuliahan.

10. Ibu Sumiati dan pak Erwin selaku staff Laboratorium Biologi yang telah banyak membantu penulis dalam peminjaman alat dan bahan selama penelitian.
11. Bapak dan Ibu Dosen, Pegawai, dan Staff akademik UIN Walisongo Semarang yang telah membagi ilmunya selama perkuliahan.
12. Bapak dan Ibu Dokter, Pegawai, dan Staff Balai Besar Laboratorium Kesehatan Lingkungan Salatiga yang telah mengizinkan penulis melanjutkan penelitian di Laboratorium Mikrobiologi kantor, membantu dan mengarahkan penulis, serta membagi ilmu dan pengalamannya selama masa penelitian.
13. Teteh Rian Juliani, Aa Nano Nuryadi, Neng Nina Maulida, dan Neng Natalia Suci, keluarga penulis yang selalu memberikan bahu nya untuk penulis bersandar, tangannya yang memeluk penulis agar selalu dikuatkan, serta memberikan dukungan untuk selalu semangat kuliah dan menjalani kehidupan.
14. Dek Jihan, Dek Risma, dan Dek Oktavia, adik-adik penulis yang sangat penulis sayangi.
15. Teman-teman seperjuangan Biologi angkatan 2021 (*Dendrophile*) dan KKN Mandiri Misi Khusus Biologi 2024

yang membersamai dan menjadi tempat diskusi sekaligus bertukar ilmu.

16. Sahabat dan teman yang telah meluangkan waktunya untuk membantu; Refi Mariska senantiasa menemani penulis berkeliling Semarang, Firsty Detha sahabat dari awal perkuliahan hingga sekarang dan seterusnya, Alya Alifia yang selalu mendengarkan keluh kesah dan memberikan semangat, Alfi yang selalu mau diajak berdiskusi tentang Mikrobiologi, Nia Fitria teman pertama yang menemani penulis di laboratorium kampus saat penelitian sendiri, serta teman-teman riset Mikrobiologi yang tidak bisa penulis sebut satu-persatu dan teman-teman Asisten Laboratorium Biologi yang sangat penulis banggakan.
17. Seseorang yang tidak kalah penting kehadirannya, Fiky Arizal. Terimakasih telah menjadi bagian dari perjalanan kehidupan penulis, yang selalu ada, sabar menemani setiap proses yang penulis lalui, memberikan dukungan tanpa henti, memberikan motivasi, mendengarkan keluh kesah penulis dan selalu meyakinkan penulis bahwa setiap yang berusaha bisa mencapai impian-impiannya. Terimakasih telah menjadi bagian yang menyenangkan, sehingga penyusunan skripsi ini terselesaikan.

18. Eiichiro Oda, selaku penulis dan ilustrator *One Piece*, terimakasih sudah menciptakan sosok Monkey D. Luffy yang sangat penulis sukai. Terimakasih juga, Koyoharu Gotouge, selaku penulis dan ilustrator *Demon Slayer*: *Kimetsu no Yaiba*, yang sudah menghadirkan Kamado Tanjiro, Agatsuma Zenitsu, Hashibira Inosuke dan Muichiro Tokito, karakter-karakter yang menjadi favorit penulis.
19. Terutama kepada diri sendiri, Wiwid Widia Yulhendrik. Terimakasih telah mencapai titik ini, mampu berjalan sendirian untuk menghadapi segala cobaan, berjuang sejauh ini melampaui zona nyaman, berani melawan ketakutan, berani mengambil keputusan, teguh atas pendirian, selalu memiliki keyakinan serta pemikiran positif atas masa depan, ikhlas dan ridho akan apa yang sudah ditakdirkan.

Terimakasih kepada seluruh pihak yang telah membantu, semoga kebaikan bapak/ibu/saudara/i dibalas berkali lipat oleh Allah S.W.T. Penulis menyadari skripsi ini belum sempurna di beberapa bagian, namun semoga hal tersebut tidak menghalangi kebermanfaatan skripsi ini kepada pembaca maupun penulis.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL ..... **i**
PERNYATAAN KEASLIAN ..... **ii**
LEMBAR PENGESAHAN ..... **iii**
NOTA DINAS ..... **iv**
NOTA DINAS ..... **v**
ABSTRAK ..... **vi**
ABSTRACT ..... **vii**
TRANSLITERASI ARAB-LATIN ..... **viii**
KATA PENGANTAR ..... **ix**
DAFTAR ISI ..... **xiv**
DAFTAR TABEL ..... **xix**
DAFTAR GAMBAR ..... **xx**
DAFTAR LAMPIRAN ..... **xxii**
BAB I **1**
PENDAHULUAN **1**
A. Latar Belakang 1
B. Rumusan Masalah 8
C. Tujuan Penelitian 8
D. Manfaat Penelitian 8
BAB II **11**
LANDASAN PUSTAKA **11**
A. Kajian Teori 11
1. Toksisitas 11

2. *Lethal Concentration* 14
3. *Culex quinquefasciatus* 15
   a. Klasifikasi *Culex quinquefasciatus* 15
   b. Siklus Hidup *Culex quinquefasciatus* 15
   c. Morfologi *Culex quinquefasciatus* 17
   d. Habitat *Culex quinquefasciatus* 27
4. *Bacillus thuringiensis* 28
   a. Klasifikasi *Bacillus thuringiensis* 31
   b. Morfologi *Bacillus thuringiensis* 31
   c. Kristal Protein *Bacillus thuringiensis* 35
   d. Siklus Hidup *Bacillus thuringiensis* 37
   e. Habitat *Bacillus thuringiensis* 39
   f. Mekanisme Kerja Kristal Protein *Bacillus thuringiensis* 40
   g. Efek Samping *Bacillus thurigiensis* 42
5. Bactivec Sebagai Biolarvasida Komersial 44
   a. Definisi dan Komposisi 44
   b. Penggunaan dalam Pengendalian Nyamuk 45
   c. Bactivec Digunakan Sebagai Kontrol Positif 45
6. Parameter Lingkungan Sumber Isolat di Kota dan Kabupaten Semarang 46
   a. Suhu 46
   b. Ketinggian Wilayah Kota dan Kabupaten Semarang 47

B. Kajian Penelitian yang Relevan 49
C. Hipotesis 56
D. Kerangka Berpikir 57
BAB III 58
METODE PENELITIAN 58
A. Jenis Penelitian 58
B. Tempat dan Waktu Penelitian 58
C. Alat dan Bahan 62
1. Alat 62
2. Bahan 62
D. Metode 63
1. Preparasi Media 63
a. Preparasi Media Selektif 63
b. Preparasi Media NA 64
c. Preparasi Media TSIA 64
d. Preparasi Media SCA 65
e. Preparasi Media MIO 65
2. Pengukuran Parameter Lingkungan Pengambilan Sampel 65
3. Isolasi Bakteri *Bacillus thuringiensis* 67
4. Uji Karakterisasi *Bacillus thuringiensis* 68
a. Karakterisasi morfologi bakteri 68
b. Bentuk Sel dan Sifat Gram Bakteri 69
c. Uji Katalase 70
d. Uji Fermentasi Gula 71

e. Uji Sitrat 71
f. Uji *Motility Indole Ornithine* 71
g. Endospora 72
h. Kristal Protein 73
5. Preparasi Media Peremajaan *Bacillus thuringiensis* 73
6. Pembuatan Suspensi *Bacillus thuringiensis* 73
7. Uji Toksisitas *Bacillus thuringiensis* 74
E. Alur Penelitian 77
F. Analisis Data 78
BAB IV 79
HASIL DAN PEMBAHASAN 79
A. Hasil Penelitian 79
1. Parameter Lingkungan Pengambilan Sampel Tanah Kota dan Kabupaten Semarang 79
2. Isolasi dan Purifikasi Bakteri 80
3. Karakterisasi Morfologi Koloni dan Sel Bakteri 82
4. Karakterisasi Genus *Bacillus* 86
5. Karakterisasi *Bacillus thuringiensis* 90
6. Pengamatan Endospora dan Kristal Protein 93
7. Uji Toksisitas *Bacillus thuringiensis* Isolat Semarang (BTS1 & BTS2) dengan Bactivec terhadap Larva *Culex quinquefasciatus* Instar III 95
8. Perbandingan Nilai LC_{50} dan LC_{90} antar Isolat *Bacillus thuringiensis* 107
B. Pembahasan Hasil Penelitian 110

1. Parameter Lingkungan Pengambilan Sampel Tanah Kota Semarang dan Kabupaten Semarang..... 110
2. Isolasi dan Purifikasi Bakteri 113
3. Karakterisasi Morfologi Koloni dan Sel Bakteri 116
4. Karakterisasi Genus *Bacillus* 118
5. Karakterisasi *Bacillus thuringiensis* 121
6. Pengamatan Endospora dan Kristal Protein..... 124
7. Uji Toksisitas *Bacillus thuringiensis* Isolat Semarang (BTS1 & BTS2) dengan Bactivec terhadap Larva *Culex quinquefasciatus* Instar III 126
8. Perbandingan Nilai LC_{50} dan LC_{90} antar Isolat *Bacillus thuringiensis* 131

BAB V 135

SIMPULAN DAN SARAN 135

A. Simpulan 135

B. Saran..... 136

DAFTAR PUSTAKA 138

LAMPIRAN.....162

RIWAYAT HIDUP 175

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Kajian penelitian yang relevan.....	49
Tabel 4.1	Parameter Lingkungan Pengambilan Sampel Tanah.....	79
Tabel 4.2	Karakter Morfologi Koloni.....	82
Tabel 4.3	Karakterisasi Genus *Bacillus*.....	86
Tabel 4.4	Uji Biokimia Isolat Bakteri.....	91
Tabel 4.5	Hasil Uji Toksisitas Isolat BTS1 selama 20 jam.....	96
Tabel 4.6	Hasil Uji Toksisitas Isolat BTS2 selama 20 jam.....	96
Tabel 4.7	Hasil Uji Toksisitas Isolat BAC selama 20 jam.....	97
Tabel 4.8	Hasil Uji Toksisitas Isolat BTS1 selama 24 jam.....	100
Tabel 4.9	Hasil Uji Toksisitas Isolat BTS2 selama 24 jam.....	100
Tabel 4.10	Hasil Uji Toksisitas Isolat BAC selama 24 jam.....	101
Tabel 4.11	Nilai LC_{50} dan LC_{90} pada waktu 20 jam.....	108
Tabel 4.12	Nilai LC_{50} dan LC_{90} pada waktu 24 jam.....	108

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Siklus Hidup *C. quinquefasciatus*.....	16
Gambar 2.2	Telur Nyamuk *C. quinquefasciatus*.....	18
Gambar 2.3	Bagian-bagian Larva *C. quinquefasciatus*.....	19
Gambar 2.4	Larva Instar I *C. quinquefasciatus*.....	20
Gambar 2.5	Larva Instar II *C. quinquefasciatus*.....	21
Gambar 2.6	Larva Instar III *C. quinquefasciatus*.....	22
Gambar 2.7	Larva Instar IV *C. quinquefasciatus*.....	22
Gambar 2.8	Pupa *C. quinquefasciatus*.....	23
Gambar 2.9	Nyamuk Dewasa *C. quinquefasciatus*	24
Gambar 2.10	Struktur Tubuh Nyamuk Dewasa *C. quinquefasciatus* Secara Umum	25
Gambar 2.11	Antena Nyamuk *C. quinquefasciatus* Jantan dan Betina.....	26
Gambar 2.12	Morfologi *B. thuringiensis* yang di amati dengan Mikroskop Fase Kontras Perbesaran 1000x.....	32
Gambar 2.13	Morfologi Koloni *B. thuringiensis*.....	34
Gambar 2.14	Hasil *Scanning* Mikroskop Elektron Morfologi Kristal Protein *B. thuringiensis israelensis*.....	36
Gambar 2.15	Pengamatan Spora dan Kristal Protein Strain *B. thuringiensis* pada *Scanning Electron Microscopy* (SEM).....	36
Gambar 2.16	Skema Aksi Toksin *B. thuringiensis*.....	40
Gambar 2.17	Bactivec SL®.....	44
Gambar 2.18	Diagram Kerangka Berpikir.....	57
Gambar 3.1	Peta Lokasi Pengambilan Sampel Tanah Kota dan Kabupaten Semarang.....	61
Gambar 3.2	Bentuk Koloni Bakteri.....	69
Gambar 3.3	Bentuk-bentuk Sel Bakteri.....	70
Gambar 3.4	Diagram Alur Penelitian.....	77
Gambar 4.1	Hasil Purifika Isolat Bakteri 10^{-4}.....	81
Gambar 4.2	Morfologi Sel Isolat Kota dan Kabupaten Semarang.....	85

Gambar 4.3 Pengamatan Endospora BTS1 dan BTS2 pada Perbesaran 400x…… 93
Gambar 4.4 Morfologi Endospora pada Perbesaran 1000x…... 93
Gambar 4.5 Pengamatan Kristal Protein BTS1 dan BTS2 pada Perbesaran 400x…… 94
Gambar 4.6 Morfologi Kristal Protein pada Perbesaran 1000x…… 94
Gambar 4.7 Persentase Mortalitas Larva oleh Isolat BTS1 dan BTS2 selama 20 jam…….. 98
Gambar 4.8 Persentase Mortalitas Larva oleh Isolat BAC selama 20 jam…….. 98
Gambar 4.9 Persentase Mortalitas Larva oleh Isolat BTS1 dan BTS2 selama 24 jam…….. 102
Gambar 4.10 Persentase Mortalitas Larva oleh Isolat BAC selama 24 jam…….. 102
Gambar 4.11 Hasil Pengamatan Larva *C. quinquefasciatus* Pasca Perlakuan 20 jam…….. 104
Gambar 4.12 Hasil Pengamatan Larva *C. quinquefasciatus* Pasca Perlakuan 24 jam…….. 106

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Dokumentasi Kegiatan Penelitian..... 162
Lampiran 2. Hasil Analisis Mann-Whitney U..... 164
Lampiran 3. Hasil Analisis Regresi Probit 20 Jam..... 165
Lampiran 4. Hasil Analisis Regresi Probit 24 Jam..... 170

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Filariasis adalah penyakit kaki gajah yang disebabkan oleh infeksi cacing filaria yang menyerang saluran limfatik dan jaringan subkutan (Saeed *et al*., 2016). Penyakit ini tergolong dalam kategori Penyakit Tropis Terabaikan (*Neglected Tropical Diseases*) dan menjadi salah satu fokus utama dalam Program Pembangunan Kesehatan di Indonesia periode 2015–2019 (Depkes RI, 2018). Meskipun filariasis jarang menyebabkan kematian, penyakit ini berdampak terhadap penurunan produktivitas penderitanya. Pada tahap kronis, infeksi dapat menimbulkan rasa nyeri dan kecacatan berupa lymphedema (pembengkakan jaringan), yang bisa terjadi pada kaki, lengan, payudara, atau skrotum (Fitriyana *et al*., 2018). Siklus hidup parasit ini berlangsung dalam dua inang, yaitu manusia dan nyamuk. Makrofilaria hidup di saluran dan kelenjar getah bening, sedangkan mikrofilaria beredar di aliran darah tepi dan dapat bertahan hidup selama 5–10 tahun (Infodatin Kemenkes, 2018).

Salah satu vektor utama penularan filariasis di wilayah tropis adalah nyamuk *Culex quinquefasciatus*, yang berperan dalam menularkan infeksi *Wuchereria bancrofti* (Arsin, 2016). *Culex* termasuk nyamuk yang aktif menggigit

pada malam hari dan sering dianggap sebagai nyamuk pengganggu. *C. quinquefasciatus*, yang dikenal secara global sebagai *the southern house mosquito*, memiliki tubuh berwarna coklat kemerahan dengan ukuran sedang dan tersebar luas di wilayah tropis (*Centre of Agriculture and Biosciences International*, 2019). Nyamuk ini termasuk ke dalam kelas Insekta, ordo Diptera, famili Culicidae, dan genus *Culex*. Habitat perkembangbiakannya umumnya berada di air kotor, seperti genangan air, rawa-rawa, persawahan, kolam bervegetasi, semak belukar, dan kandang ternak (Nurjazuli & Santjaka, 2020).

Menurut Astuti (2017), *C. quinquefasciatus* adalah vektor utama penyebaran filariasis di Indonesia yang telah teridentifikasi di berbagai wilayah seperti Aceh, Jawa Barat, Jakarta, Jawa Tengah, serta Papua. Berdasarkan data Profil Kesehatan Indonesia tahun 2014, nyamuk ini menjadi vektor filariasis utama di Pulau Jawa, terutama di daerah endemis filariasis di Jawa Tengah. Pada tahun 2015, tercatat 508 kasus filariasis di Provinsi Jawa Tengah. Kota Semarang mengalami peningkatan kasus sejak tahun 2011 hingga 2018, mencapai 33 kasus (Dinkes Kota Semarang, 2018), dan berdasarkan portal data Jawa Tengah tahun 2024, pada tahun 2020 tercatat 4 kasus filariasis di kota Semarang.

Disisi lain, kabupaten Semarang di Provinsi Jawa Tengah ditetapkan sebagai daerah endemis filariasis oleh Kementerian Kesehatan pada tahun 2015, dengan jumlah penderita hingga tahun 2017 sebanyak 9 kasus. Kabupaten Semarang merupakan salah satu dari sembilan kabupaten/kota endemik filariasis di Provinsi Jawa Tengah (Dinkes Provinsi Jateng, 2016). Kondisi lingkungan dan perilaku masyarakat setempat mendukung perkembangan vektor nyamuk, mengingat habitat perkembangannya berada di sekitar permukiman (Rahanyamtel *et al*., 2019; Ramadhani *et al*., 2019).

Kota Semarang dan kabupaten Semarang memiliki kondisi geografis serta lingkungan yang tidak sama, sehingga berpotensi memengaruhi keberadaan maupun perkembangan vektor nyamuk. Kota Semarang terletak di kawasan pesisir utara Jawa Tengah dengan ketinggian rendah sekitar 0–340 meter di atas permukaan laut (mdpl) dan suhu udara relatif lebih panas (Susanto, 2017). Situasi ini membuat beberapa wilayah, khususnya daerah padat penduduk dan rawan banjir, menjadi tempat yang sesuai bagi perkembangbiakan *C. quinquefasciatus* (Pertiwi *et al*., 2019). Sementara itu, kabupaten Semarang berada pada dataran yang lebih tinggi (±318–1.450 mdpl) dengan suhu lebih sejuk serta curah hujan yang cukup tinggi, lingkungan

tersebut menyediakan berbagai habitat potensial bagi nyamuk, seperti sawah, rawa, maupun genangan air di sekitar permukiman (Dewi *et al.*, 2018).

Penanganan populasi nyamuk *C. quinquefasciatus* memiliki urgensi yang tinggi, karena perannya sebagai vektor utama filariasis. Secara umum, pengendalian dilakukan dengan insektisida kimia, namun penggunaannya menunjukkan dampak negatif terhadap lingkungan, kesehatan manusia, serta organisme *non-target* (Handayani, 2016). Meskipun insektisida masih diperlukan, penerapannya harus sesuai dengan regulasi yang berlaku, terutama terkait konsentrasi dan frekuensi penggunaan (Kemenkes, 2012). Demikian, diperlukan insektisida ramah lingkungan serta berpengaruh dalam eliminasi larva nyamuk dengan memanfaatkan organisme hidup, seperti bakteri, yang dikenal sebagai bioinsektisida. Salah satu bakteri yang terbukti mampu mengendalikan larva Ordo Diptera adalah *B. thuringiensis* (Yulian, 2016).

Bacillus thuringiensis (*Bt*) adalah bakteri Gram-positif memiliki bentuk *bacil* yang bisa hidup dalam kondisi aerob maupun anaerob fakultatif. *Bt* mampu memproduksi kristal protein selama fase sporulasi. Kristal protein dari *Bt* berfungsi sebagai racun yang menyerang sistem pencernaan larva (Blondine & Yuniarti, 2001). Saat larva

memakan toksin ini, dinding usus larva mengalami kerusakan, yang menyebabkan kematiannya. *B. thuringiensis* efektif membunuh berbagai jenis larva nyamuk seperti *Aedes, Culex,* dan *Anopheles*, akan tetapi tidak berbahaya bagi organisme *non-target* (WHO, 1999). Oleh karena itu, *B. thuringiensis* diprioritaskan untuk dikembangkan sebagai bioinsektisida (Yunus, 2017). Namun, dalam penelitian ini istilah yang digunakan lebih difokuskan pada biolarvasida, mengingat target utama pengendalian adalah fase larva *C. quinquefasciatus*.

Beberapa penelitian telah membuktikan efektivitas *B. thuringiensis* sebagai agen hayati dalam pengendalian larva *C. quinquefasciatus*, vektor utama penyakit filariasis limfatik. Subekti *et al*., (2024) menyimpulkan bahwa *Bt* merupakan larvasida yang efektif membunuh larva *C. quinquefasciatus*. Meski efektivitasnya masih sedikit di bawah larvasida kimia temephos, *Bt* memiliki keunggulan berupa ramah lingkungan dan risiko resistensi yang lebih rendah, sehingga menjadi alternatif pengendalian yang lebih aman dan berkelanjutan. Meskipun penggunaan temephos selama ini masih dominan dalam pengendalian larva *C. quinquefasciatus*, pemakaian jangka panjang larvasida kimia ini berpotensi menimbulkan dampak negatif pada lingkungan serta meningkatkan risiko

resistensi pada populasi nyamuk. Penelitian Salamun (2021) juga menjelaskan bahwa toksin *Bt* dapat mengganggu sistem pencernaan larva serta merusak struktur abdomen dan toraks, yang menyebabkan kematian larva dalam waktu relatif singkat. *Bt* menghasilkan kristal protein (endotoksin) yang bersifat spesifik dan toksik terhadap larva nyamuk, tetapi aman bagi organisme *non-target*. Oleh karena itu, pengembangan larvasida hayati seperti *Bt* semakin mendapatkan perhatian sebagai solusi alternatif yang lebih berkelanjutan dan ramah lingkungan.

Penelitian mengenai perbandingan tingkat toksisitas *B. thuringiensis* hasil isolasi di kota dan kabupaten Semarang dengan *Bactivec* terhadap larva *C. quinquefasciatus* instar III belum pernah dilakukan sebelumnya. Sebagian besar penelitian sebelumnya hanya menguji isolat tunggal atau produk komersial tanpa membandingkan isolat *Bt* dari wilayah geografis berbeda. Penelitian Subekti *et al*., (2024), Bello *et al*., (2022) dan Elqowiyya (2015) lebih fokus pada uji efikasi isolat tunggal atau produksi komersial secara umum tanpa membandingkan isolat dari berbagai daerah. Hingga saat ini, belum ada studi yang membandingkan tingkat toksisitas isolat *Bt* hasil isolasi dari kota dan kabupaten Semarang dengan produk biolarvasida

komersial seperti Bactivec terhadap larva *C. quinquefasciatus* instar III, karena penggunaan *B. thuringiensis* kurang direkomendasikan untuk larva instar I atau II (Manimegalai, 2014).

Perbedaan karakteristik lingkungan kota dan kabupaten Semarang dapat memengaruhi kemampuan adaptasi sekaligus tingkat toksisitas isolat *B. thuringiensis* dari kedua wilayah, sehingga perbandingan isolat kota dan kabupaten Semarang penting untuk dilakukan dengan produk biolarvasida komersial Bactivec sebagai kontrol positif perbandingan. Penelitian ini diharapkan mampu menggali potensi isolat lokal yang lebih adaptif dan efektif dalam mengendalikan larva nyamuk.

B. Rumusan Masalah

1. Bagaimana tingkat toksisitas *B. thuringiensis* hasil isolasi dari kota dan kabupaten Semarang serta Bactivec terhadap larva *C. quinquefasciatus* instar III?
2. Bagaimana perbandingan tingkat toksisitas *B. thuringiensis* hasil isolasi dari kota dan kabupaten Semarang dengan Bactivec terhadap larva *C. quinquefasciatus* instar III?

C. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui tingkat toksisitas *B. thuringiensis* hasil isolasi dari kota dan kabupaten Semarang serta Bactivec terhadap larva *C. quinquefasciatus* instar III.
2. Mengetahui perbedaan tingkat toksisitas *B. thuringiensis* hasil isolasi dari kota dan kabupaten Semarang dengan Bactivec terhadap larva *C. quinquefasciatus* instar III.

D. Manfaat Penelitian

1. Manfaat Teoritis

   Penelitian ini memberikan pemahaman lebih mendalam terkait toksisitas *B. thuringiensis* terhadap larva *C. quinquefasciatus* instar III, sehingga berkontribusi pada pengembangan teori mengenai efektivitas biolarvasida berbasis mikroorganisme. Dengan membandingkan isolat lokal dari kota dan

kabupaten Semarang dengan produk biolarvasida komersial Bactivec, penelitian ini juga dapat memperkaya pemahaman mengenai perbedaan toksisitas antar isolat dan faktor yang memengaruhinya, serta hasilnya dapat mendukung pengembangan teori mengenai efektivitas biolarvasida berbasis mikroorganisme dalam Pengendalian vektor penyakit.

2. Manfaat Praktis
   a. Bagi Peneliti

      Penelitian ini bermanfaat untuk menambah wawasan terkait *B. thuringiensis* baik tentang toksisitas dan aplikasinya dalam pengendalian vektor nyamuk, terutama *C. quinquefasciatus*. Peneliti juga memperoleh pengalaman praktis dalam isolasi, kultur mikroba, serta pengujian *bioassay* yang merupakan keterampilan penting dalam bidang mikrobiologi, serta menjadi kesempatan secara langsung untuk mempraktekan ilmu yang sudah didapat selama perkuliahan dalam bidang riset mikrobiologi dan fisiologi hewan.

   b. Bagi Masyarakat

      Penelitian ini berpotensi memberikan solusi pengendalian populasi nyamuk *C. quinquefasciatus*, yang merupakan vektor penyakit filariasis, dengan

cara yang lebih ramah lingkungan. Penggunaan *B. thuringiensis* sebagai biolarvasida dapat menjadi alternatif yang efektif dan lebih aman dibandingkan dengan insektisida kimia, sehingga membantu mengurangi risiko penyebaran penyakit tanpa mencemari lingkungan atau membahayakan kesehatan manusia. Selain itu, hasil penelitian ini juga dapat mendukung program pengendalian vektor di masyarakat dengan melakukan pengembangan lebih lanjut dapat difokuskan pada pemanfaatan isolat *Bt* lokal yang paling toksik sebagai kandidat biolarvasida, uji lapangan untuk mengonfirmasi efektivitasnya, serta formulasi produk yang dapat diaplikasikan.

c. Bagi Instansi

Penelitian ini bermanfaat bagi Universitas Islam Negeri Walisongo Semarang dengan meningkatkan reputasi akademik dan ilmiah dalam bidang mikrobiologi, fisiologi hewan serta pengendalian vektor penyakit. Penelitian ini dapat menjadi referensi bagi mahasiswa lain dan mendorong riset serupa yang relevan dengan isu kesehatan dan lingkungan. Penelitian ini juga memperkaya data terkait isolat lokal *Bt*.

BAB II

LANDASAN PUSTAKA

A. Kajian Teori

1. Toksisitas

Toksisitas adalah kemampuan suatu toksikan atau bahan kimia untuk menimbulkan kerusakan atau kelainan terhadap fungsi suatu sistem biologis dimana uji toksisitas ini berguna untuk mendeteksi efek toksik dengan memperoleh data dosis-respon yang khas dari sediaan uji (Wulandari *et al*., 2024). Uji toksisitas adalah pengujian yang bertujuan untuk mengetahui dampak berbahaya suatu bahan terhadap sistem biologis dan memperoleh data mengenai hubungan antara dosis dan respons. Uji ini penting dalam memperkirakan tingkat kerusakan yang mungkin terjadi jika bahan tersebut terpapar pada manusia, sehingga bisa ditentukan dosis aman untuk penggunaannya (Parasuraman, 2011).

Uji toksisitas bertujuan untuk menilai potensi dampak negatif dari bahan terhadap kesehatan manusia, hewan, atau lingkungan. Secara umum, uji toksisitas dilakukan pada berbagai spesies hewan. Hasil dari uji ini diasumsikan bahwa jika dosis tinggi suatu bahan menyebabkan efek merugikan pada hewan, maka efek serupa bisa terjadi pada manusia,

meskipun dalam dosis lebih rendah atau dengan metode pemberian yang berbeda (Worth, 2018). Efek toksik biasanya mempengaruhi karakteristik, organ target, serta mekanisme kerjanya, yang umumnya hanya memengaruhi satu atau beberapa organ saja, tergantung pada sensitivitas organ tersebut dan konsentrasi bahan kimia yang terkandung di dalamnya. Pengujian toksisitas dibagi menjadi dua kategori utama, yaitu pengujian toksisitas umum yang mencakup uji akut, uji subakut, uji subkronis, dan uji kronis. Selain itu, ada pengujian toksisitas khusus yang diantaranya uji mutagenik, teratogenik, dan karsinogenik (Lu, 1994).

Pengujian toksisitas untuk membunuh larva nyamuk biasanya menggunakan uji toksisitas akut oral, uji ini dilakukan untuk mendapatkan informasi tentang pengaruh toksis yang muncul dalam waktu singkat setelah pemberian dosis tunggal atau berulang secara oral dalam 24 jam, dengan interval pengulangan minimal 3 jam. Uji ini dilakukan dengan memberikan bahan uji dalam berbagai dosis kepada hewan percobaan. Parameter yang diamati meliputi efek toksik atau racun serta kematian. Hewan yang menunjukkan gejala sakit atau stres dapat segera

dimatikan, sementara hewan yang mati selama pengujian akan dianalisis untuk mendeteksi tanda-tanda toksisitas. Hewan yang bertahan hidup selama 14 hari setelah pengujian juga akan dimatikan untuk dilakukan pemeriksaan lebih lanjut (Denny *et al.*, 2017).

Pengujian ini bertujuan untuk mengidentifikasi organ target, sensitivitas spesies, serta risiko yang muncul setelah paparan akut. Selain itu, pengujian ini membantu dalam menentukan dosis yang tepat, merencanakan uji toksisitas lanjutan, dan menghitung nilai LD_{50}, yaitu dosis yang diperkirakan membunuh 50% dari hewan percobaan. Semakin kecil nilai LD_{50}, semakin tinggi tingkat toksisitas suatu zat, sementara semakin besar nilai LD_{50}, semakin rendah tingkat toksisitasnya (BPOM, 2020). Pengujian ini dilakukan untuk mengevaluasi efek toksik dalam waktu singkat, biasanya 24 jam hingga beberapa hari setelah paparan tunggal atau berulang dalam waktu singkat. Tujuannya adalah untuk menentukan dosis mematikan (seperti LD_{50}) atau konsentrasi mematikan (seperti LC_{50}) yang membunuh 50% subjek uji. Biasanya digunakan untuk mendeteksi risiko langsung dari paparan suatu agen berbahaya (Chinedu *et al*., 2015).

2. *Lethal Concentration*

Lethal Concentration (LC) adalah konsentrasi senyawa suatu zat di udara atau air yang dapat menyebabkan kematian pada populasi hewan uji. Daya racun (toksisitas) dari bahan uji yang terdapat pada hewan uji dihitung berdasarkan nilai Median *Lethal Concentration* (LC_{50}). Nilai LC diperlukan untuk penelitian guna mengetahui batasan konsentrasi yang aman di lingkungan penelitian (Sprague, 1969). Median LC_{50} merupakan konsentrasi suatu zat uji yang secara statistik diperkirakan dapat menyebabkan kematian 50% dari populasi hewan uji. LC_{50} diterapkan ketika organisme terpapar pada konsentrasi bahan tertentu dalam air, dimana dosis belum diketahui (Priyanto, 2010).

A'kyunin (2008) menyatakan nilai LC_{50} merupakan salah satu parameter penting dalam pengujian toksisitas. LC_{50} diartikan sebagai konsentrasi yang diperlukan untuk membunuh 50% dari populasi yang diuji. Semakin tinggi nilai LC_{50}, semakin rendah toksisitas insektisidanya, sedangkan semakin rendah nilai LC_{50}, semakin tinggi toksisitas insektisidanya. Selain mengetahui nilai LC_{50}, nilai LC_{90} perlu diketahui. LC_{90} adalah konsentrasi insektisida yang dibutuhkan

untuk mematikan 90% dari populasi larva uji setelah jangka waktu tertentu (Tyas *et al.*, 2014).

3. *Culex quinquefasciatus*

a. Klasifikasi *Culex quinquefasciatus*

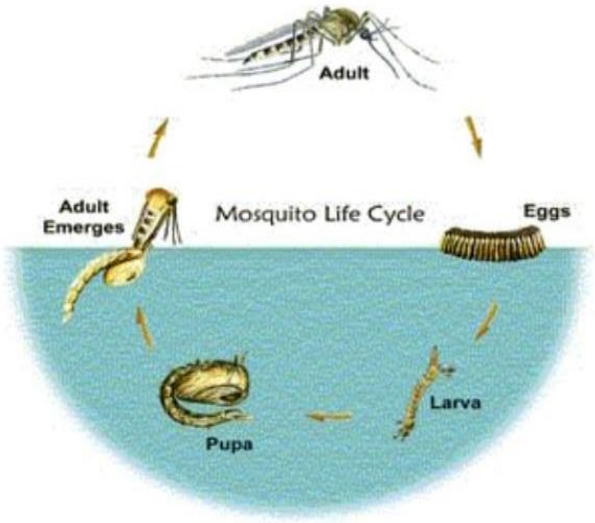
Menurut Myers *et al*, (2024) klasifikasi *C. quinquefasciatus* adalah:

Kingdom	: Animalia
Filum	: Arthropoda
Kelas	: Insecta
Ordo	: Diptera
Famili	: Culicidae
Genus	: *Culex*
Spesies	: *Culex quinquefasciatus*

b. Siklus Hidup *Culex quinquefasciatus*

Nyamuk ini merupakan insekta yang mengalami metamorfosis sempurna dengan siklus yang terdiri dari empat tahap yaitu, telur, larva, pupa dan nyamuk dewasa (Tri *et al.,* 2019). Tahap telur, larva, dan pupa terjadi di lingkungan air, sementara tahap dewasa dapat ditemukan di darat atau udara (Sutanto, 2008). Nyamuk betina mampu menghasilkan hingga 400 telur, yang diletakkan di atas permukaan air kotor dalam bentuk kelompok yang menyerupai rakit. Biasanya, mereka bertelur pada malam hari di genangan air, bukan di aliran

air. Dalam siklus hidupnya, nyamuk betina bisa bertelur setiap tiga hari (Manimegalai & Sukanya, 2014). Telur-telur akan menetas menjadi larva setelah 2-3 hari di dalam air dan kemudian berkembang dari larva instar I hingga IV dalam waktu sekitar 6-8 hari (Sembel, 2009).



Gambar 2. 1 Siklus Hidup *C. quinquefasciatus* (Agoes, 2009)

Setelah larva instar IV mengalami proses ganti kulit (*molting*), ia akan berubah menjadi pupa. Proses transformasi ini berlangsung optimal pada suhu lingkungan antara 27-30°C. Perbedaan utama

larva dan pupa terletak pada fasenya, tetapi larva yang memerlukan asupan makanan dari lokasi perindukannya (*breeding site*). Sebaliknya, pupa tidak memerlukan makanan, membutuhkan oksigen yang diperoleh melalui tabung pernapasan (*respiratory trumpet*). Pupa akan berkembang selama 2-3 hari hingga mencapai tahap sempurna, kemudian kulit pupa akan pecah, dan nyamuk dewasa akan keluar serta mulai terbang (Sembel, 2009).

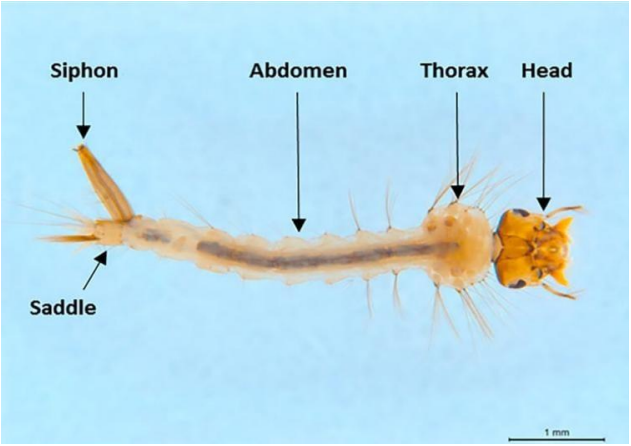
c. Morfologi *Culex quinquefasciatus*

Telur dari *C. quinquefasciatus* memiliki bentuk yang mirip dengan peluru, dengan panjang sekitar 6 mm dan lebar 3 mm (Sutanto, 2008). Nyamuk ini meletakkan telur secara berkelompok di atas permukaan air, membentuk struktur yang disebut rakit (*raft*) agar dapat mengapung. Telur yang baru diletakkan dan berwarna putih, tetapi setelah hitungan jam bersentuhan dengan air, warnanya akan berubah menjadi cokelat kehitaman. Setiap telur mengandung larva yang akan menetas dalam waktu 24 hingga 48 jam (Prianto, Tjahaya, & Darwanto, 2006).



Gambar 2. 2 Telur Nyamuk *C. quinquefasciatus*
(Harrold, 2013)

Larva *C. quinquefasciatus* memiliki struktur tubuh yang terdiri dari tiga bagian utama: kepala, *thoraks*, dan *abdomen*. *Abdomen* larva ini terdiri dari delapan segmen, dengan pita berbentuk M yang terlihat jelas pada segmen IV dan V, serta sifon yang terletak di bagian dorsal *abdomen*. Sementara itu, bagian *saddle* berada di bagian ventral *abdomen*. Sifon pada *C. quinquefasciatus* memiliki panjang empat kali lipat dibandingkan dengan spesies larva lain dan dilengkapi dengan lebih dari sepasang bulu (Hills & Conrelly, 2013).



Gambar 2. 3 Bagian-bagian Larva *C. quinquefasciatus* (Mathews *et al*., 2017)

Larva adalah fase awal dalam siklus hidup nyamuk. Dalam tahap ini, larva mengkonsumsi mikroorganisme yang terdapat dalam air, yang masuk ke mulutnya melalui aliran yang dihasilkan oleh rambut-rambut halus di maksila, dan menyaring air saat dikeluarkan. Untuk bernapas, larva memanfaatkan sifon atau saluran posterior yang membantunya menggantung di permukaan air, serta dilengkapi dengan insang anal. Tubuh larva *C. quinquefasciatus* terdiri dari tiga bagian utama: kepala, *thoraks*, dan *abdomen*. Kepala larva ini pendek dan lebar, dengan rambut halus di bagian bawah yang memiliki lima atau lebih cabang. Sikat mulut larva berwarna kuning dan

dilengkapi dengan filamen panjang yang digunakan untuk menyaring bahan organik. Larva yang baru menetas memiliki panjang sekitar 1,5 mm dan mengalami empat kali pergantian kulit selama proses pertumbuhannya (Cutwa & George, 2008).

Menurut Manimegalai & Sukanya (2014) larva *C. quinquefasciatus* mengalami 4 instar, yaitu:

1) Larva instar I muncul pada hari ke-1 dan 2 setelah telur menetas, dengan ukuran sekitar 1 hingga 2 mm. Pada tahap ini, duri-duri pada *thoraks* belum terlihat jelas dan corong pernapasan pada sifon juga belum terbentuk.



Gambar 2. 4 Larva Instar I *C. quinquefasciatus* (Elqowwiya, 2015)

2) Larva instar II berkembang pada hari ke-2 dan 3 setelah penetasan telur, dengan ukuran 2,5 hingga 3,5 mm. Duri-duri *thoraks* masih belum terlihat, tetapi corong di bagian kepala mulai menunjukkan warna hitam.



Gambar 2. 5 Larva Instar II *C. quinquefasciatus* (Elqowwiya, 2015)

3) Larva instar III muncul pada hari ke-3 dan 4 setelah telur menetas dan memiliki ukuran 4 hingga 5 mm. Duri-duri pada *thoraks* mulai terlihat dengan jelas, dan corong pernapasan berwarna cokelat kehitaman.



Gambar 2. 6 Larva Instar III *C. quinquefasciatus* (Elumalai *et al*., 2015)

4) Larva instar IV muncul pada hari ke-4 dan 6 sesudah telur menetas, berukuran 5 hingga 6 mm, dengan warna kepala yang sedikit lebih gelap.



Gambar 2. 7 Larva Instar IV *C. quinquefasciatus* (Bhujel & Saha, 2023)



Gambar 2. 8 Pupa *C. quinquefasciatus* (Bhujel & Saha, 2023)

Pupa adalah stadium akhir calon nyamuk yang ada di air, instar ini menjadi tahap akhir pemberian pakan karena organ-organ tubuh sudah mulai berkembang (Tri *et al*., 2019). Pada stadium ini, telah terbentuk sayap. Stadium pupa memiliki waktu ±1-2 hari. Pada fase ini, membutuhkan waktu 2-5 hari untuk menjadi nyamuk, selama fase ini tidak akan makan apapun dan akan keluar dari kepompong menjadi nyamuk yang dapat terbang serta keluar dari dalam air (Mulyatno, 2012).

Pupa *C. quinquefasciatus* memiliki bentuk tubuh melengkung dengan kepala besar menyerupai tanda koma, kepala dan dada terintegrasi (*cephalothorax* dan *abdomen*). Warna *cephalothorax*

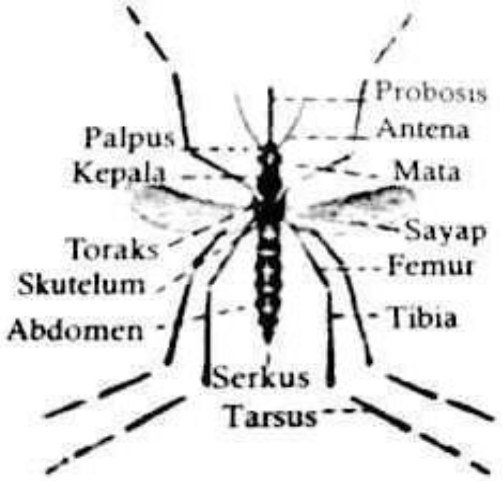
bervariasi sesuai dengan habitatnya, sementara bagian belakang lebih gelap. Terompet berfungsi sebagai organ pernapasan, berbentuk tabung melebar dan warnanya menjadi semakin cerah seiring dengan lebar yang bertambah dari tubuh. *Abdomen* pupa terdiri dari delapan segmen, dimana empat segmen pertama memiliki warna yang lebih gelap, sementara warna semakin terang menuju bagian posterior. Pelana di puncak *abdomen* transparan dan kuat, dengan dua setae kecil di ujung posterior (Sucipto, 2011).



Gambar 2. 9 Nyamuk Dewasa *C. quinquefasciatus*
(Cutwa & O'Meara, 2008)

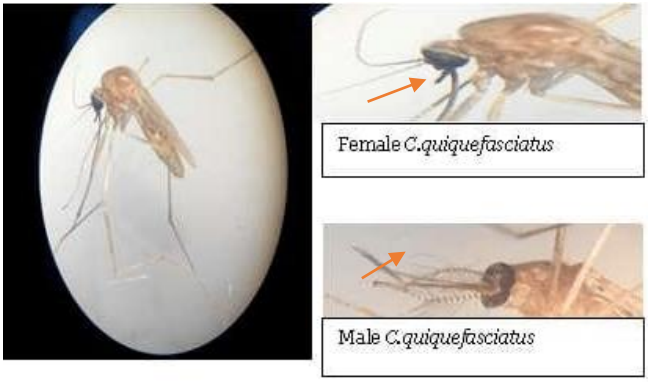
Nyamuk dewasa memiliki organ tubuh yang sudah lengkap, dan proses reproduksinya sangat penting untuk pertumbuhan populasi nyamuk di

lingkungan. Setelah melewati fase kepompong, nyamuk akan berhenti di permukaan air untuk mengeringkan tubuh, terutama bagian sayapnya. Setelah sayap mengembang, mereka mulai terbang mencari makanan (Sembel, 2009). Nyamuk memiliki sepasang antena panjang serta ramping, yang terdiri atas 15 segmen. Antena berfungsi untuk membedakan jenis kelamin nyamuk (Lestari, 2010). Pada jenis *Culex*, antena jantan memiliki bulu lebat dan panjang dikenal sebagai *plumose*, sedangkan antena betina memiliki bulu yang lebih pendek dan jarang, dikenal sebagai *pilose* (Ideham *et al.,* 2014).



Gambar 2. 10 Sruktur Tubuh Nyamuk Dewasa Secara Umum (Soedarto, 2006)

Antena pada nyamuk jantan dan betina memiliki perbedaan yang mencolok. Antena jantan lebih lebat dibandingkan antena betina dan berfungsi untuk mendeteksi keberadaan nyamuk betina melalui aroma yang dihasilkan. Selain itu, terdapat perbedaan lain pada panjang *palpus* dan *proboscis*. *Proboscis* adalah mulut yang dimodifikasi untuk menusuk. Pada nyamuk jantan, *palpus* memiliki panjang yang sama atau lebih panjang dibandingkan *proboscis*, sedangkan pada nyamuk betina, palpus cenderung lebih pendek (Harrold, 2013).



Gambar 2. 11 Antena Nyamuk *C. quinquefasciatus* Jantan dan Betina (Tataro & Tubago, 2015)

d. Habitat *Culex quinquefasciatus*

C. quinquefasciatus berkembangbiak di tempat-tempat yang memiliki air kotor atau keruh, seperti selokan, got, sungai yang tercemar, dan lokasi lainnya dengan tingkat pencemaran tinggi (Molaei *et al*., 2007). Larva dari nyamuk ini lebih suka bersembunyi di area yang ditumbuhi rumput atau tanaman air, yang memberikan perlindungan dari predator seperti ikan. Nyamuk ini bersifat hematofagik, yang berarti mereka menghisap darah sebagai sumber makanan, baik antrofilik maupun zoofilik. *C. quinquefasciatus* lebih aktif mencari darah di malam hari setelah matahari terbenam, dan mereka sering beristirahat di siang hari. Oleh karena itu, nyamuk ini tergolong sebagai nyamuk nokturnal, bersifat endofagik (tinggal di dalam rumah) dan eksofagik (Prianto, 2000).

C. quinquefasciatus paling umum ditemui di daerah pemukiman, di mana lebih dari 98% dari populasi nyamuk ini terperangkap pada malam hari di area tersebut. Ketika tidak aktif mencari makanan, nyamuk ini terbiasa beristirahat di tempat yang gelap dan sejuk, seperti di pakaian yang digantung, dinding rumah, tirai, lemari, dan di

bawah tempat tidur. Nyamuk ini biasanya hinggap beristirahat di lokasi-lokasi tersebut sebelum dan sesudah menggigit, pada ketinggian antara 30 cm hingga 2 meter dari lantai (Maharani *et al*., 2005).

4. *Bacillus thuringiensis*

Bacillus thuringiensis (*Bt*) populer di bidang bioteknologi, dalam bidang bioteknologi modern *Bt* digunakan untuk berbagai aplikasi. Salah satunya pengembangan tanaman transgenik yang memiliki ketahanan terhadap serangga atau hama melalui teknologi rekayasa genetik (Herman, 2002). Banyak tanaman transgenik dapat dikembangkan melalui teknologi *Genetically Modified Organism* (GMO). Salah satu contohnya adalah penggunaan gen *Cry* dari *B. thuringiensis* untuk menghasilkan tanaman yang tahan terhadap serangan hama. Gen *Cry* ini mengkode sifat resistensi terhadap serangga kelompok Lepidoptera, Coleoptera dan Diptera (Bakhsh *et al*., 2015).

Selain perannya dalam rekayasa genetik, *B. thuringiensis* juga dimanfaatkan untuk aplikasi pengendalian vektor penyakit yang dikenal sebagai bioinsektisida. *Bt* memiliki kemampuan menghasilkan kristal insektisida parasporal yang terdiri dari protein *Cry* dan *Cyt*, dikenal sebagai endotoksin (Palma *et al*.,

2014). Spesifisitas *Bt* terhadap inang berkaitan erat dengan bentuk dan jenis δ-endotoksin yang dihasilkan selama sporulasi (Mukhija & Khanna, 2018).

Produk bioinsektisida berbasis *Bt* merupakan 90-95% dari mayoritas bioinsektisida yang dikomersialkan digunakan secara global untuk mengendalikan serangga dalam sektor pertanian dan kesehatan masyarakat. Beberapa subspesies, seperti *kurstaki, aizawai, sotto, entomocidus, berliner* dan *israelensis*, serta strain seperti HD-1 dan HD-5, telah banyak dipelajari dan digunakan untuk pengembangan bioinsektisida yang lebih efektif dalam pengendalian hama secara ramah lingkungan (Wahyuni & Wirawan, 2017; Fernández-chapa *et al.*, 2019).

Unity of Science dari penelitian ini mengambil salah satu ayat suci Al-qur'an pada surah Ali-Imran: 191.

الَّذِيْنَ يَذْكُرُوْنَ اللّٰهَ قِيَامًا وَّقُعُوْدًا وَّعَلٰى جُنُوْبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُوْنَ فِيْ خَلْقِ السَّمٰوٰتِ وَالْاَرْضِ ۚرَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هٰذَا بَاطِلًا ۚسُبْحٰنَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ

" *(yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadaan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): "Ya Tuhan kami, tiadalah*

Engkau menciptakan ini dengan sia sia. Maha Suci Engkau, maka peliharalah kami dari siksa neraka" (Departemen Agama RI, 2008: 75).

Menurut tafsir Ibnu Katsir menjelaskan bahwa ayat tersebut memuji orang-orang yang selalu mengingat Allah dalam berbagai keadaan. Mereka berdzikir dengan hati dan lisan serta merenungkan penciptaan langit dan bumi sebagai tanda keagungan, kebijaksanaan, dan kekuasaan Allah. Mereka meyakini bahwa alam semesta ini diciptakan dengan tujuan yang benar, bukan sia-sia. Mereka menyucikan Allah dari segala kekurangan dan memohon perlindungan-Nya dari siksa neraka, seraya berharap diberikan kekuatan untuk melakukan amal shalih yang membawa mereka ke surga dan menjauhkan dari adzab-Nya (Al-Sheikh, 2003).

Ayat di atas mengingatkan manusia untuk merenungi ciptaan Allah dan memetik hikmah dari alam. Penelitian ini berupaya menjaga ekosistem melalui penggunaan *B. thuringiensis* sebagai biolarvasida ramah lingkungan, sekaligus mengeksplorasi potensi mikroorganisme. Pendekatan agen hayati dianggap penting untuk mengurangi dampak pestisida kimia (Anggraeni, 2020; Handayani,

2019). Hal ini sejalan dengan etika islam yang menekankan tanggung jawab menjaga alam dan memanfaatkan ilmu tanpa merusak (Nasution, 2017).

a. Klasifikasi *Bacillus thuringiensis*

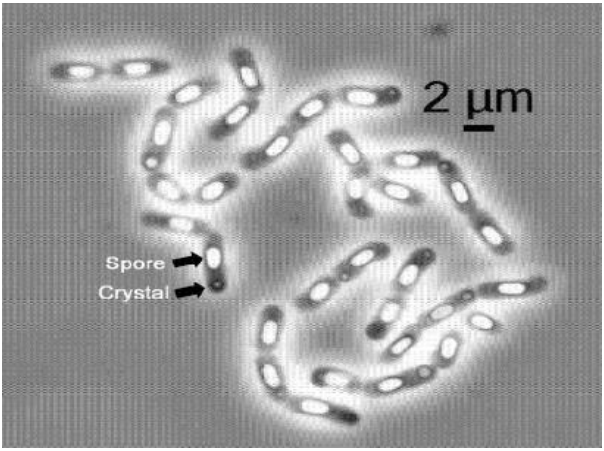
Klasifikasi *B. thuringiensis* menurut Wick (2013) yang dikutip dalam Yulian (2016) sebagai berikut:

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Firmicutes
Kelas	: Bacilli
Ordo	: Bacillales
Famili	: Bacillaceae
Genus	: *Bacillus*
Spesies	: *Bacillus thuringiensis*

b. Morfologi *Bacillus thuringiensis*

Bacillus thuringiensis merupakan bakteri Gram-positif yang memiliki bentuk batang mampu membentuk rantai-rantai yang terdiri dari 5 hingga 6 sel. Bakteri ini bersifat anaerob fakultatif dan dapat ditemukan secara alami di tanah, permukaan tanaman, serta di saluran pencernaan serangga (Pray *et al*., 2002; Madigan *et al.*, 2009). *Bt* termasuk dalam kelompok bakteri patogen bagi serangga. Bakteri ini memiliki sel vegetatif yang

berbentuk batang dengan ukuran panjang antara 3 hingga 5 µm dan lebar 1,0 hingga 1,2 µm, dilengkapi dengan *flagella*. *B. thuringiensis* dapat tumbuh di berbagai media dengan rentang suhu antara 15°C hingga 40°C (Blondine & Susanti, 2013; Putriawati *et al*., 2018). Secara morfologi, sel *B. thuringiensis* berbentuk batang, mampu membentuk endospora subterminal hingga terminal, serta menghasilkan kristal protein paraspora yang khas. Kristal protein inilah yang membedakan *B. thuringiensis* dari spesies lain dalam kelompok *Bacillus* (Rahardianingtyas & Wianto, 2014).



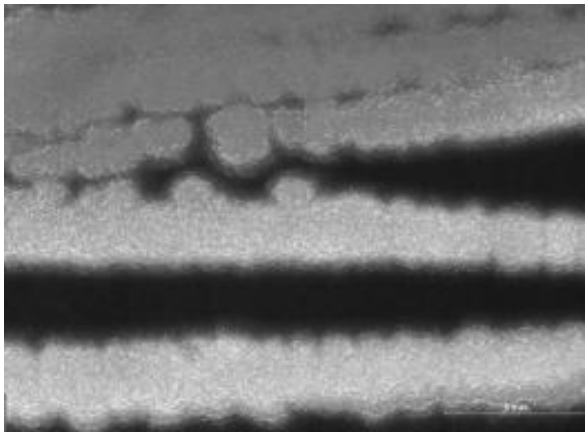
Gambar 2. 12 Morfologi *B. thuringiensis* yang diamati dengan mikroskop fase kontras perbesaran 1000x (Balasubramanian *et al*., 2013)

Bt adalah organisme saprofit yang mendapatkan nutrisi dari bahan organik atau organisme sudah mati. Terdapat 67 subspesies Bt, salah satunya adalah *Bacillus thuringiensis israelensis* (*Bti*). Perbedaan utama antara *Bti* dan subspesies lainnya terletak pada jenis antigen pada flagelnya, yaitu H-14. Dalam hal bentuk, *Bti* mirip dengan subspesies lain (Cetinkaya, 2002). Ketika *B. thuringiensis* tumbuh di media yang kaya nutrisi, ia akan berfokus pada fase vegetatif. Namun, jika pasokan makanan berkurang, bakteri ini akan mulai memproduksi spora yang terdapat satu atau lebih jenis kristal protein. Kristal tersebut mengandung protein yang dikenal sebagai δ-endotoksin, berfungsi untuk mematikan jika dikonsumsi oleh larva yang rentan (Bahagiawati, 2013).

Bt memiliki morfologi serupa dengan *B. cereus*, namun dapat dilihat perbedaan keduanya melalui keberadaan kristal protein yang beracun bagi serangga, khususnya kelompok Lepidoptera, Coleoptera dan Diptera (Rahardianingtyas & Wianto, 2014). Kristal ini terbentuk pada proses sporulasi dan letaknya terpisah dari spora (Yulian,

2016). *Bt* dapat bersifat non-motil (tidak bergerak) atau motil (bergerak) dengan *flagella* peritrik, yaitu *flagella* berjumlah banyak dan terdistribusi di seluruh tubuh (Broderick *et al.*, 2006).

Ketika diinokulasi pada media, bakteri ini membentuk koloni bulat, permukaan datar tampak kasar, tepi halus, dan berwarna krem (Nasution 2018; Rocha *et al*., 2023).

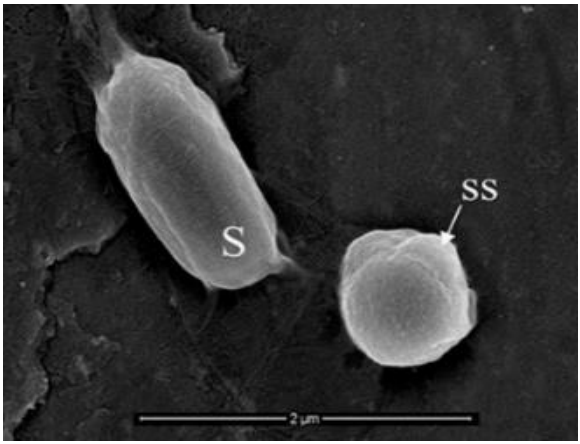


Gambar 2. 13 Morfologi Koloni *B. thuringiensis* (Rocha *et al*., 2023)

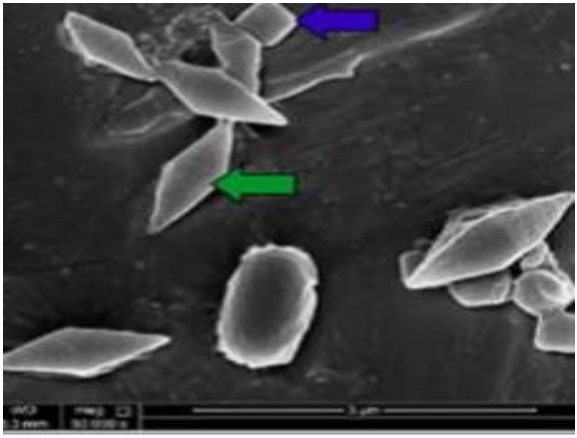
Bt termasuk dalam kategori mesofil dengan suhu pertumbuhan antara 15–45°C, dengan suhu optimal berada pada kisaran 26–37°C. pH pertumbuhan yang sesuai berkisar 5,5 hingga 8,5 dengan pH optimal 6,5 hingga 7,5 (Zeigler, 1999 dalam Jani *et al*., 2023).

c. Kristal Protein *Bacillus thuringiensis*

Ciri khas yang ada pada *Bt* yaitu kemampuannya membentuk kristal protein bersamaan dengan spora selama fase sporulasi. Kristal-kristal protein ini memiliki bentuk berbeda berdasarkan subspesiesnya. Kristal protein dengan bentuk bulat (Gambar 2.14) ditemukan pada subspesies *israelensis* toksik terhadap Diptera, kristal protein bentuk pipih empat persegi panjang (*flat rectangular*) terdapat pada subsp. *tenebriosis* yang toksik terhadap Coleoptera, kristal protein bentuk kuboid (Gambar 2.15) pada subsp. *kurstaki* toksik terhadap Diptera tertentu dan Lepidoptera, sedangkan kristal protein dengan bentuk bipiramidal (Gambar 2.15) pada subsp. *kurstaki* toksik terhadap Lepidoptera (Addiniyah, 2019). Spora *Bacillus thuringiensis* berfungsi sebagai perlindungan terhadap kondisi lingkungan yang tidak mendukung sebab dinding bakteri yang impermeabel, dan proses pembentukan kristal ini terjadi bersamaan dengan endospora dalam proses sporulasi (Sansinenea, 2012).



Gambar 2. 14 Hasil *Scanning* Mikroskop Elektron morfologi kristal protein *B. thuringiensis israelensis*, keterangan: (S) spora yang dihasilkan strain, (ss) kristal bulat halus (Nair *et al.,* 2018)



Gambar 2. 15 Pengamatan spora dan kristal strain *B. thuringiensis* pada *Scanning Electron Microscopy* (SEM), keterangan: Panah hijau menunjukkan bentuk kristal bipiramidal dan panah biru bentuk kristal kuboid (Al-thani *et al*., 2022)

Menurut Wahyuni dan Heni (2019) lebih dari satu jenis kristal protein yang ditemukan pada strain gen pengkode kristal protein yang dihasilkan oleh *Bt* setelah diisolasi dan dikarakterisasi dikenal dengan sebutan gen *cry* yang berasal dari kata *crystal*. Kristal endotoksin *Bt* telah dikelompokkan menjadi delapan kelas utama, yaitu *cry*1A sampai *cry*X berdasarkan homologi sekuen asam amino di terminalnya, berat molekulnya, dan aktivitas insektisidalnya. Delapan kelas tersebut adalah sebagai berikut:

1) *Cry*I toksik pada Lepidoptera
2) *Cry*II beracun bagi Lepidoptera dan Diptera
3) *Cry*III berbahaya bagi Coleoptera
4) *Cry*IV toksik bagi Diptera
5) *Cry*V efektif pada Lepidoptera dan Coleoptera
6) *Cry*VI mempengaruhi Nematoda
7) *Cry*IXF beracun bagi Lepidoptera
8) *Cry*X toksik pada Lepidoptera

d. Siklus Hidup *Bacillus thuringiensis*

B. thuringiensis melalui dua fase hidup utama, yaitu fase germinasi dan fase sporulasi. Fase germinasi berlangsung ketika berada di lingkungan yang kaya nutrisi, di mana sel-selnya berkembang

dengan cara membelah diri. Fase sporulasi dimulai ketika pasokan nutrisi di lingkungan mulai menipis atau saat bakteri mengalami tekanan yang tidak mendukung pertumbuhannya. Selama fase ini, *B. thuringiensis* memproduksi endospora yang mampu bertahan dalam kondisi ekstrem dalam suhu tinggi hingga 80°C (Dini, 2005). Apabila kondisi lingkungan kembali mendukung, seperti suhu optimal 26-37°C, spora akan mengalami germinasi kembali (Khetan, 2000).

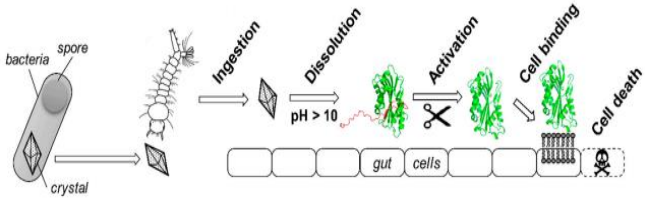
B. thuringiensis memiliki empat tahap pertumbuhan, diantaranya fase lag, fase eksponensial, fase stasioner, dan fase kematian. Pertumbuhan paling cepat terjadi di fase eksponensial, sekitar 16 hingga 18 jam setelah diinokulasi. Selama fase stasioner, bakteri mulai membentuk endospora dan kristal protein, dengan proses sporulasi sempurna terjadi setelah waktu 20 sampai 24 jam. Setelah kultur mencapai usia 32 sampai 42 jam, endospora dan kristal protein mulai keluar. Dengan demikian, fase stasioner dipilih sebagai tahap optimal dalam perbanyakan *B. thuringiensis* melalui kultur fermentasi, karena pada kondisi nutrien terbatas dalam medium yang

difermentasi, sel *B. thuringiensis* akan membentuk endospora dan kristal protein (Gamil *et al*., 2008).

e. Habitat *Bacillus thuringiensis*

B. thuringiensis umumnya berada di tanah, yang adalah habitat alaminya. Rahardianingtyas dan Wianto (2014) menunjukkan *Bt* berhasil diisolasi dari berbagai jenis tanah, seperti yang ada di bawah pohon beringin (*Ficus benjamina*), kebun salak (*Salacca zalacca*), lubang pada pohon rambutan (*Nephelium lappaceum*), dan beberapa jenis pohon lainnya, termasuk jengkol (*Pothecellobium jiringa*) dan suren mati (*Toona sinensis*). Selain itu, *Bt* juga sering diisolasi dari serangga yang sudah mati dari ordo Coleoptera, Diptera, dan Lepidoptera, dimana bangkai serangga seringkali memberikan isolat dalam jumlah yang lebih besar. *Bt* dapat ditemukan di berbagai lokasi di seluruh dunia karena merupakan organisme yang hidup secara alami, terutama di tanah. *B. thuringiensis* dapat diisolasi dari tanah pertanian, perkebunan, sisa-sisa serangga, serta dedaunan. Habitat utama *Bt* tetap berada di dalam tanah, tumbuh secara alami sebagai saprofit (Sudigdoadi *et al*., 2017).

f. Mekanisme Kerja Kristal Protein *Bacillus thuringiensis*



Gambar 2. 16 Skema aksi toksin *B. thuringiensis* (Vachon *et al*., 2012)

Cara kerja toksin *Bt* dimulai dengan *Cry*-protoksin harus diubah menjadi toksin aktif oleh enzim protease yang kemudian mengikat reseptor spesifik di usus serangga, membentuk pori yang mengganggu integritas membran usus serangga dan akhirnya menyebabkan kematian serangga. Spesifisitas toksin untuk serangga tertentu disebabkan oleh fakta bahwa toksin tersebut hanya mengikat reseptor yang ditemukan di usus serangga tersebut, yang membuat toksin ini secara selektif beracun bagi inang (Liao *et al*., 2022). Kristal ini, sering dikenal sebagai δ-endotoksin, memiliki sifat insektisidal. Kristal ini adalah bentuk protoksin saat terlarut dalam usus serangga, akan terurai menjadi polipeptida yang lebih pendek dengan berat molekul antara 27-149 kDa. Proses proteolisis ini memungkinkan *Bt*-protoksin

bertransformasi menjadi bentuk toksik. Setelah aktif, toksin tersebut berinteraksi dengan sel-sel epitel pada usus tengah (midgut) serangga, menyebabkan pembentukan pori-pori kecil pada membran sel di saluran pencernaan. Interaksi ini mengganggu keseimbangan osmotik sel, yang mengakibatkan sel menjadi bengkak hingga akhirnya pecah, sehingga mengakibatkan kematian serangga tersebut (Bahagiawati, 2013).

Toksin yang terdapat dalam larvasida *B. thuringiensis* diambil oleh larva dan kemudian masuk ke sistem pencernaan. Setelah itu, toksin diserap oleh dinding usus menyebar ke seluruh tubuh larva melalui aliran darah, yang menyebabkan gangguan pada metabolisme larva. Akibatnya, larva mengalami kekurangan energi yang dibutuhkan untuk bertahan hidup, yang pada akhirnya dapat menyebabkan kematian. Fragmen toksin ini diakui oleh reseptor khusus yang ada dalam sel epitel usus larva serta terdapat perubahan pada organel dalam sitoplasma, termasuk disintegrasi sitoplasma, pembengkakan mitokondria, dan pelebaran ruang perinuklear. Perubahan tersebut dapat menyebabkan hipertrofi

yang merusak jaringan usus, terutama di bagian sekum dan kolon. Akibatnya, larva mengalami ketidakseimbang yang pada akhirnya mengalami kematian (Utami, 2010).

g. Efek Samping *Bacillus thurigiensis*

B. thuringiensis adalah bakteri tanah Gram-positif yang diketahui dapat menginfeksi invertebrata, khususnya dari filum Arthropoda. Karena memiliki rentang inang yang luas, *Bt* telah menjadi salah satu produsen utama biopestisida yang banyak dimanfaatkan dalam bidang bioteknologi dan pertanian. *Bt* dianggap aman bagi organisme non-target karena memiliki spesifisitas inang yang tinggi, penelitian yang berkembang menunjukkan adanya potensi dampak jangka panjang dari aplikasinya terhadap komunitas alami (Mukhija & Khanna, 2018; Malovichko *et al.*, 2019). Semua protein insektisida *Bt* dilaporkan tidak memiliki efek negatif pada hewan non-target, manusia, tumbuhan, dan bakteri menguntungkan lainnya (Liu *et al*., 2021).

Sebagai contoh, setelah *B. thuringiensis* diaplikasikan di habitat tanah, bakteri ini dapat memengaruhi mikroorganisme setempat, seperti

jamur dan bakteri selain *Bt*, serta menjalin hubungan kompleks dengan tumbuhan di sekitarnya. Hubungan ini dapat bervariasi, mulai dari memberikan manfaat hingga menyerupai kolonisasi patogenik. Selain memberikan dampak langsung pada serangga target, perolehan faktor virulensi yang tidak selalu terkait dengan toksin insektisida utama memungkinkan *Bt* memperluas rentang inangnya, termasuk pada vertebrata seperti mamalia (Ammons *et al.*, 2009; Ghelardi e*t al*., 2007; Hernandez *et al*., 1998). *Bt* dapat memberikan dampak tidak langsung pada organisme lain dalam rantai makanan dengan mengurangi jumlah mangsa dan menurunkan kualitas nutrisinya, sehingga memperlambat pemulihan ekosistem (Belousova *et al.,* 2021).

Potensi dampak samping yang ditimbulkan oleh *B. thuringiensis* terhadap organisme *non-target* dan ekosistem secara keseluruhan masih jarang dibahas secara mendalam. Sebagai sistem yang kompleks dan terdiri atas ratusan spesies yang beragam, ekosistem dapat dikaji pada berbagai tingkatan organisasi dan tahap rantai makanan. Hal ini mencakup tingkat mikroskopis

yang melibatkan komunitas mikroba, tingkat hewan kecil seperti cacing dan serangga, tingkat hewan besar seperti mamalia dan burung, hingga kajian ekosistem secara menyeluruh (van Zyl *et al*., 2014).

5. Bactivec Sebagai Biolarvasida Komersial

a. Definisi dan Komposisi

Bactivec SL® merupakan produk biolarvasida komersial berbasis *B. thuringiensis* var. *israelensis* yang diformulasikan khusus untuk membunuh larva nyamuk dari genus *Culex*, *Aedes*, dan *Anopheles*. Produk ini mengandung spora dan kristal *Bti* 0,6 % serta *Inert ingredient* 99,4% yang telah distandarisasi (Graha Esa Termurah, 2024).



Gambar 2. 17 Bactivec SL® (Graha Esa Termurah, 2024)

b. Penggunaan dalam Pengendalian Nyamuk

Penggunaan Bactivec dirancang agar mudah diaplikasikan di berbagai tempat perindukan nyamuk, baik skala rumah maupun lingkungan. Berdasarkan keterangan PT Graha Esa Termurah (2024), 1 tetes Bactivec direkomendasikan untuk dicampurkan ke dalam 2,5 L air, sedangkan 1 ml Bactivec (setara dengan ±20 tetes) digunakan untuk 50 L air. Contoh penggunaannya dalam kehidupan sehari-hari antara lain adalah 1 tetes untuk vas bunga, 2 ml (sekitar 40 tetes) untuk bak mandi berkapasitas 100 L, serta 3 tetes (sekitar 0,15 ml) untuk wadah penampungan air kecil seperti dispenser atau ember. Dosis ini telah disesuaikan dengan kebutuhan praktis di lapangan dan memperhatikan efektivitas terhadap larva nyamuk dari genus *Culex*, *Aedes*, dan *Anopheles*.

c. Bactivec Digunakan Sebagai Kontrol Positif

Pada penelitian ini, Bactivec digunakan sebagai kontrol positif karena merupakan produk biolarvasida komersial berbasis *B. thuringiensis* var. *israelensis* H-14 yang telah terbukti efektivitas dan kestabilannya dalam membunuh larva nyamuk (Graha Esa Termurah, 2024). Selain itu, terbukti

efektif dan stabil dalam uji dosis Laboratorium maupun lapangan. Menurut Uragayala *et al*., (2018) mencatat bahwa dosis 0,25-2 ml/50 L Bactivec mampu menurunkan populasi larva *Culex quinquefasciatus* lebih dari 80% selama 7-17 hari.

Bactivec dipilih untuk dibandingkan dengan isolat lokal *B. thuringiensis* dari kota dan kabupaten Semarang karena toksisitasnya yang tinggi dan konsisten, serta telah distandarisasi oleh produsen. Penggunaan kontrol positif ini bertujuan memberikan tolak ukur atau pembanding yang jelas untuk menilai potensi toksisitas isolat lokal. Dengan membandingkan nilai LC_{50} dan LC_{90} dari Bactivec dengan isolat lokal, penelitian ini dapat mengevaluasi isolat lokal yang memiliki potensi aplikatif untuk dikembangkan sebagai biolarvasida alternative yang efektif dan ramah lingkungan.

6. Parameter Lingkungan Sumber Isolat di Kota dan Kabupaten Semarang

a. Suhu

Suhu permukaan tanah di Indonesia maksimum 40°C dan suhu minimum 10°C. Suhu harian rata-rata di Jawa Tengah berkisar 22°C-35,2°C. Kota Semarang minimum 24°C dan maksimum 34,1°C-37,8°C, Sedangkan Kabupaten

Semarang memiliki suhu minimum 19,8°C dan suhu maksimum 32,6-35°C (Badan Pusat Statistik, 2023). Suhu tanah biasanya pada lapisan dalam lebih rendah dari suhu permukaan tanah (Pioh *et al*., 2013).

Suhu adalah salah satu parameter yang mempengaruhi terjadinya proses fermentasi pada setiap mikrobia yang mempunyai tingkat fluktuasi yang berbeda. Tingkat fluktuasi yang baik mampu mempengaruhi pertumbuhan dan reproduksi organisme. Pada suhu yang optimal suatu organisme dapat tumbuh dengan baik dan mampu memperbanyak diri dengan cepat, suhu optimal *Bt* 26°C-37°C (Khetan, 2001). *B. thuringiensis* juga dapat tumbuh di berbagai media dengan suhu pertumbuhan sekitar 15^{o}C-40^{o}C (Susanti & Blondine, 2010).

b. Ketinggian Wilayah Kota dan Kabupaten Semarang

Ketinggian suatu wilayah dapat menjadi salah satu faktor lingkungan yang mempengaruhi ekosistem, termasuk distribusi serta aktivitas mikroorganisme seperti *Bt*. Kota Semarang yang terletak pada ketinggian antara 0-340 meter di atas permukaan laut (mdpl), memiliki suhu rata-rata

yang lebih tinggi dibandingkan kabupaten Semarang. Wilayah Semarang yang beriklim dataran rendah dengan kelembaban relatif lebih rendah dapat memengaruhi efektivitas toksisitas *Bt* karena faktor lingkungan dapat berdampak pada metabolisme serta kemampuan patogen dalam menginfeksi inangnya (Susanto, 2017). Sementara itu, kabupaten Semarang berada di ketinggian yang lebih tinggi memiliki ketinggian rata-rata antara 300-1.450 mdpl (Dewi *et al*., 2018).

B. Kajian Penelitian yang Relevan

Tabel 2. 1 Kajian penelitian yang relevan

No.	Penelitian	Hasil	*Research Gap*
1.	Efikasi *Bacillus thuringiensis israelensis* H-14 Isolat Salatiga Sediaan Bubuk dan Cair terhadap Jentik *Culex quinquefasciatus* (Anggraeni *et al*., 2015)	Hasil penelitian menunjukkan bahwa sediaan bubuk lebih efektif dari sediaan cair dilihat dari nilai LC yang diperoleh, isolat salatiga baik dalam bentuk bubuk atau cair keduanya berpotensi membunuh jentik *Culex quinquefasciatus.*	Penelitian ini hanya menggunakan satu jenis *Bt* dengan menunjukkan efektivitas *Bt* isolat Salatiga (bubuk/cair) terhadap kematian jentik, namun tidak dijelaskan jentik *Culex quinquefasciatus* instar berapa yang digunakan.
2.	Efikasi Larvasida *Bacillus thuringiensis israelensis* Terhadap Kematian Larva *Culex quinquefasciatus* Dari Daerah Bekasi (Elqowwiya, 2015)	Hasil penelitian menunjukkan bahwa perbedaan konsentrasi *Bti* memiliki pengaruh yang signifikan pada tingkat kematian larva *Culex quinquefasciatus* instar III/IV. Larvasida *Bti* efektif membunuh larva *Culex quinquefasciatus* instar III/IV dengan konsentrasi yang rendah, nilai LC_{50} 0,012 mg/L dan LC_{90} 0,024 mg/L.	Penelitian ini menunjukkan efektivitas produk komersial *Bti* Vectobac WG terhadap *Culex quinquefasciatus* instar III/IV, menghasilkan nilai LC_{50} dan LC_{90}. Namun penelitian ini terbatas pada satu jenis produk komersial, serta hanya menggunakan satu titik waktu pengamatan, yaitu 24 jam atau tidak melakukan

No.	Penelitian	Hasil	*Research Gap*
			pengamatan dalam beberapa rentang waktu 24 jam.
3.	Efficacy of *Bacillus thuringiensis israelensis* (*Bti*) and four plant extracts on the mortality and development of *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Cullicidae) (Gad & Dakhil, 2018)	Hasil penelitian ini menunjukan efektifitas *Bti* dan empat ekstrak tumbuhan (*Cinnamon*, *Chamomille*, *Sasame*, dan *Black seed*) yang diuji pada larva *Culex quinquefasciatus* instar IV dalam kondisi laboratorium menunjukkan korelasi positif dengan konsentrasi *Bti* dan ekstrak tanaman yang diuji serta durasi paparan. Meskipun ekstrak *Cinnamon* memiliki toksisitas yang lebih rendah daripada *Bti* dan *Black seed*, ekstrak tersebut memberikan efek yang kuat pada periode deperkembangan pupa dan tingkat kemunculan dewasa.	Penelitian ini menggunakan produk komersial Vectobas AS, dan empat ektrak tumbuhan yang mungkin belum sepenuhnya belum mencerminkan aspek keamanan terhadap spesies non-target. Kurang linier karena membandingkan mikrobia dengan tumbuhan dalam mortalitas kematian larva, hanya menghitungan nilai LC_{50} pada masing-masing perlakuan dalam waktu 24-48 jam. Larva yang digunakan adalah larva *Culex quinquefasciatus* instar IV, sehingga *Bti* tidak terlalu memberikan efek yang kuat pada periode diperkembangan pupa dan tingkat kemunculan dewasa.

No.	Penelitian	Hasil	*Research Gap*
4.	The Effect of Coexistence Between Larvae of *Anopheles gambiae* and *Culex quinquefasciatus* on Larvacidal Efficacy of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (Derua *et al.,* 2021)	Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa lava *Culex quinquefasciatus* secara signifikan lebih rentan terhadap *Bacillus thuringiensis israelensis* dariapada *Anopheles gambiae*. Selain itu ketika kedua jenis larva hidup berdampingan terdapat kecenderungan umum peningkatan sensitivitas *Bti* dengan proporsi *Culex quinquefasciatus* yang lebih tinggi.	Penelitian ini menggunakan satu jenis *Bti* Becker Microbial Product (BMP) produk komersial yang dijikan pada larva *Anopheles gambiae* dan *Culex quinquefasciatus* instar III/IV. Penelitian ini memiliki keterbatasan dalam studi yang meneliti bagaimana koeksitensi antara larva *Anopheles gambiae* dan *Culex quinquefasciatus* memengaruhi efektivitas *Bti*. Sebagian besar penelitian sebelumnya hanya berfokus pada satu spesies larva, tanpa mempertimbangkan interaksi antarspesies yang sering terjadi di lingkungan alami. Kompetisi antara dua spesies larva ini berpotensi mengubah respons mereka terhadap *Bti*.

No.	Penelitian	Hasil	*Research Gap*
5.	Assessment of The Larvacidal Potential of *Bacillus thuringiensis* Isolates From Soil Against *Culex quinquefasciatus* (Bello *et al.,* 2022)	Hasil penelitian ini menunjukkan potensi larvasida pada isolat *Bacillus thuringiensis* dengan aktivitas larvasida yang menjanjikan terhadap larva *Culex quinquefasciatus* instar III diperoleh dari sampel tanah kaya organik yang dikumpulkan dari daerah Zaria.	Penelitian hanya menggunakan satu jenis *Bacillus thuringiensis* yang digunakan merupakan hasil isolasi dari tanah daerah Zaria (Nigeria), tidak ada kontrol positif dari produk komersial. Serta hanya menghitung nilai LC_{50}.
6.	Adulticidal and Larvacidal Impacts of the Mixture of *Bacillus thuringiensis israelensis* and Boric Acid Sugar Bait (TSB) Againts *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* (Ballantyne *et al.,* 2023)	Hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan Toxic Sugar Bait (TSB) dengan *Bacillus thuringiensis israelensis* efektif dalam mengendalikan populasi larva dan nyamuk dewasa. Selain itu, menjadi pendekatan aksi ganda larvasida dan adultisida untuk pengendalian nyamuk *Aedes aegypti* dan *Culex quinquefasciatus*.	Penelitian ini hanya menggunakan satu jenis produk komersial Vectobac. Selain itu, penggunaan *Bti* dikombinasikan dengan TSB terhadap *Aedes aegypti* dan *Culex quinquefasciatus*. Umumnya efek lavarsida dan adultisida dipisahkan, akan tetapi pada penelitian ini dikombinasikan sehingga tidak fokus pada

No.	Penelitian	Hasil	*Research Gap*
			larvasida dari *Bti,* tidak dijelaskan instar larva yang digunakan, fokus pada persentase kematian selama 24 – 72 jam tanpa menghitung dosis letal (LC_{50} dan LC_{90}).
7.	Daya Bunuh Larvasida *Bacillus thuringiensis israelensis* dan Temephos Pada Larva *Culex* sp. (Tanjung *et al.,* 2023)	Daya bunuh larvasida temephos lebih tinggi dari larvasida *Bacillus thuringiensis israelensis* karena mampu membunuh 100% larva *Culex* sp. Dalam waktu 24 jam, dengan dosis 2,0 gr/m2 dan 1,6 gr/m2, sedangkan larvasida *Bti* 0,0125 gr/m2 mampu membunuh 91,2% larva *Culex* sp. Dan 0,0100 gr/m2 mampu membunuh 77,6% larva *Culex* sp.	Penelitian ini hanya menggunakan satu jenis *Bti* Vectobac WG (produk komersial), lalu membandingkan efektivitasnya dengan temephos tanpa menghitung dosis letal (LC_{50} dan LC_{90}). Tidak menjelaskan penggunaan instar pada larva secara spesifik dan spesies *Culex* belum diketahui.
8.	New formulation of *Bacillus thuringiensis israelensis* for the control of *Culex*	Hasil menunjukkan evaluasi dari efektivitas formulasi berbasis *Bti* baru untuk mengendalikan	Penelitian ini hanya menggunakan satu jenis *Bti* AquaBac® XT yang digunakan

No.	Penelitian	Hasil	*Research Gap*
	quinquefasciatus Say, 1823 (Diptera, Culicidae) in an effluent treatment pond (Bocaleti *et al.*, 2024)	nyamuk Culex quinquefasciatus dalam kondisi lapangan. Produk BR101 menunjukkan kemanjuran yang memuaskan hingga lima hari, mencapai puncak pengurangan populasi sebesar 94,97% pada hari ketiga pasca-aplikasi, diikuti oleh pemulihan populasi secara bertahap. Produk ini terbukti efektif untuk pengendalian *Culex quinquefasciatus* tanpa memengaruhi faktor abiotik.	sebagai *based* untuk formulasi baru mengontrol *Culex quinquefasciatus* (Spora dan kristal *Bti* BR101 yang dibekukan dikombinasikan dengan eksipien khusus dan air suling). Tidak menghitung nilai LC_{50} dan LC_{90}, hanya menghitung mortalitas.
9.	Efficacy of *Bacillus thuringiensis* Biolarvacide and Temephos Synthetic Larvacide on *Culex quinquefasciatus* Larvae (Subekti *et al.,* 2024)	*Bacillus thuringiensis* efektif membunuh larva *Culex quinquefasciatus,* namun kurang efektif dibandingkan temephos. Meski demikian, *Bacillus thuringiensis* mecapai 100% kematian larva dalam waktu 24 jam. Konsentrasi *Bt* 0,03 mg/L memiliki tingkat toksis lebih cepat	Penelitian ini hanya menggunakan satu jenis *Bacillus thuringiensis* tidak menjelaskan sumber isolat yang digunakan secara spesifik, hanya membandingkan efektivitasnya dengan temephos berfokus pada waktu kematian (LT_{50} dan LT_{90}) tanpa menghitung dosis letal

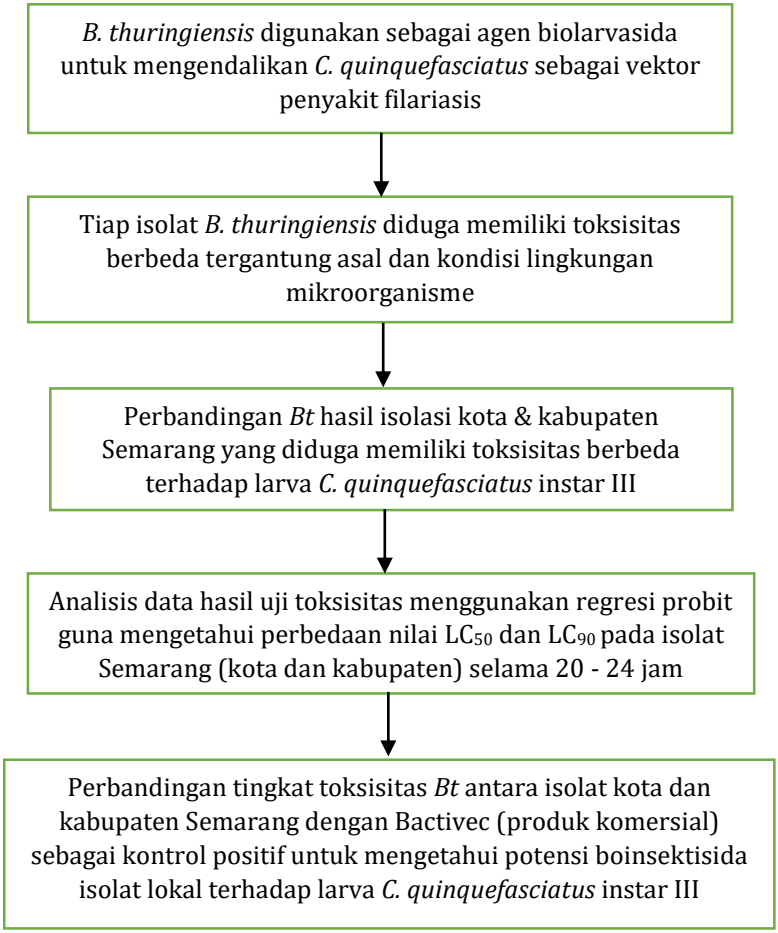
No.	Penelitian	Hasil	*Research Gap*
		dicapai dalam 6 jam pertama dibandingkan konsentrasi 0,01-0,02 mg/L.	(LC_{50} dan LC_{90}).
10.	Larvicidal activities of *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) on larvae of *Culex quinquefasciatus* in lymphatic filariasis vector control in Lokossa district in south-western Republic of Benin, West Africa (Codjia *et al.,* 2025)	Hasil penelitian menunjukkan bahwa *Bacillus thuringiensis* telah bertindak dengan meracuni larva instar IV yang tidak dapat bernapas dan menjadi pupa.	Penelitian ini hanya menggunakan satu jenis *Bacillus thuringiensis* tidak menjelaskan sumber isolat yang digunakan secara spesifik, menggunakan larva instar IV, tidak menghitung dosis letal (LC_{50} dan LC_{90}), hanya melihat persentase kematian (mortalitas) selama 24-72 jam.

C. Hipotesis

H_0: tidak ada perbedaan toksisitas antara *B. thuringiensis* hasil isolasi dari kota dan kabupaten Semarang dengan Bactivec terhadap larva *C. quinquefasciatus* instar III.

H_1: ada perbedaan toksisitas antara *B. thuringiensis* hasil isolasi dari kota dan kabupaten Semarang dengan Bactivec terhadap larva *C. quinquefasciatus* instar III.

D. Kerangka Berpikir



Gambar 2. 18 Diagram Kerangka Berpikir

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan penelitian kuantitatif deskriptif. Penelitian dilakukan menggunakan angka, pengolahan statistik, dan percobaan terkontrol dengan pendekatan eksperimental laboratorium. Metode penelitian yang digunakan pada uji ini berupa RAL (Rancangan Acak Lengkap), dengan rancangan 6 perlakuan konsentrasi dosis yang diberikan berbeda, dimana setiap perlakuan diulang sebanyak 4 kali pengulangan untuk meningkatkan akurasi hasil. Data hasil penelitian akan dianalisis untuk menentukan pengaruh berbagai konsentrasi dosis *B. thuringiensis* terhadap kematian larva nyamuk *C. quinquefasciatus* pada instar III.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

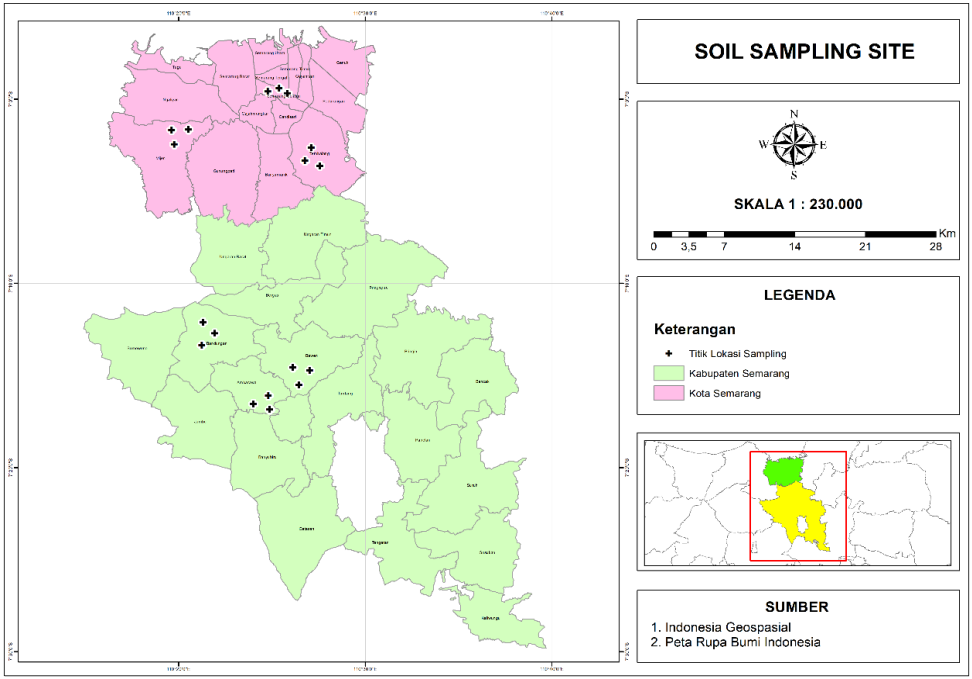
Pengambilan sampel tanah dilakukan dengan metode *stratified random sampling* berdasarkan kategori wilayah administratif, yaitu kota Semarang (BTS1) dan kabupaten Semarang (BTS2). Masing-masing wilayah dianggap sebagai strata yang memiliki karakteristik lingkungan berbeda. Penentuan lokasi sampel pada setiap strata dilakukan secara acak dari daftar alternatif yang telah disusun sebelum melakukan *sampling* lapangan. Sebanyak

tiga lokasi mewakili kota Semarang, yaitu Semarang Barat (BSB *City*), Semarang Timur (Bukit Diponegoro Tembalang), dan Semarang Selatan (Lapangan Pancasila Simpang Lima), serta tiga lokasi lainnya mewakili kabupaten Semarang, yaitu Bawen (Kampoeng Kopi Banaran), Bandungan (Perantunan *Camp*), dan Ambarawa (Kampung Pelangi Bejalen).

Proses pemilihan lokasi dilakukan secara acak menggunakan bantuan aplikasi undian digital (*random picker* Google) untuk menjaga objektivitas dan menghindari bias. Teknik ini mengacu pada prinsip pengambilan sampel tanah secara acak dalam stratifikasi lokasi, seperti yang diterapkan oleh Friska *et al.*, (2015), Dini *et al*., (2020), dan Handayani *et al*., (2023) dalam studi sebelumnya. Pada masing-masing lokasi, sampel tanah diambil dari beberapa titik, kemudian dikompositkan menjadi satu sampel representatif. Sampel tanah tersebut selanjutnya disimpan dalam *ice box* berisi es untuk menjaga kestabilan mikroba dan dibawa ke laboratorium untuk proses isolasi dan analisis lebih lanjut.

Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari – Juni 2025, identifikasi sampel tanah untuk mendapatkan *B. thuringiensis* isolat kota dan kabupaten Semarang dilakukan di laboratorium Mikrobiologi UIN Walisongo

Semarang. Pengujian toksisitas *Bt* isolat Semarang dengan Bactivec terhadap larva nyamuk *C. quinquefasciatus* instar III dilakukan di laboratorium Mikrobiologi Balai Besar Laboratorium Kesehatan Lingkungan (BBLKL) Salatiga.



Gambar 3. 1 Peta lokasi pengambilan sampel tanah Kota dan Kabupaten Semarang (Dokumentasi penelitian, diolah menggunakan ArcGis ver 10)

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan diantaranya *ice box* (Marina), *conical tube* 50 ml, gelas ukur (Iwaki), *cooled incubator* (FOC-120 E), jarum ose, batang spreader, inkubator (INB 400 Memmert), *hot plate magnetic stirrer* (DLAB MS-H280-Pro), kulkas (Samsung RT29K503JBI/SE), gelas beaker (Iwaki), kaca preparat, mikroskop binokuler (CX 23 LEDRFSI Olympus), Optilab Viewer4 (SN: MTN03423 0029), mikroskop stereo (Leica EZ4), cawan petri (Anumbra), tabung reaksi (Iwaki), neraca analitik (OHAUS), spatula, *soil* tester (4 in 1), altimeter digital (Kompas), erlenmeyer (Iwaki), *shaker incubator* (Biosan), autoklaf (Hirayama Hiclave™ HVE 50), *laminar air flow* (LAF) (ESCO LVG-4AG-F8), vortex (Bio-Rad BR-2000), pipet tetes, gelas plastik, mikropipet (Bio-Rad), bunsen, dan refrigerator (ESCO HP2-400S-1).

2. Bahan

Bahan yang digunakan diantaranya sampel tanah, akuades, *Nutrient Agar*, *Trypthose Phosphate Broth*, *lughole iodine*, alkohol 70%, *coomassie brilliant blue*, metanol, asam asetat, safranin, *chrystal violet,* agar *powder*, *Simon Citrate Agar* (SCA), *methylene blue*,

Triple Sugar Iron Agar (TSIA), *Sulfide Indole Motility* (SIM) media, H_2O_2 (3%), reagen kovaks, *malachite green*, *yeast extract*, glukosa, ammonium sulfat ($(NH_4)_2SO_4$), dikalium hydrogen phosphate ($K_2HPO_4.3H_2O$), magnesium sulfate heptahydrate ($MgSO_4.7H_2O$), manganese (II) sulfate tetrahydrate ($MnSO_4.4H_2O$), $CaCl_2.2H_2O$, reagen kovaks, tip (1000 µl, dan 200 µl), *plastic wrap*, *alumunium foil*, kapas, plastik klip, mangkok enamel, mangkok plastik, tisu, kertas saring, kertas Whatman no.1, larva *C. quinquefasciatus* instar III, *B. thuringiensis* isolat Semarang dan Bactivec SL®.

D. Metode

1. Preparasi Media

Media yang digunakan diantaranya, media selektif *Bacillus thuringiensis, Nutrient Agar, Triple Sugar Iron Agar, Simmons Citrat Agar,* dan *Motility Indole Ornithine.*

a. Preparasi Media Selektif

Media selektif *Bt* menggunakan metode Triprisila *et al.*, (2013) dengan modifikasi dari Sudigdoadi *et al*., (2017) menggunakan glukosa 3 gram, $(NH_4)_2SO_4$ 2 gram, *yeast extract* 2 gram, $K_2HPO_4.3H_2O$ 0,08 gram, $MgSO4.7H_2O$ 0,096 gram,

$MnSO_4.4H_2O$ 0,03 gram, $CaCl_2.2H_2O$ 0,08 gram, dan 15 gram agar dengan 1000 ml akuades.

b. Preparasi Media NA

Sebanyak 10 gram bubuk *Nutrient Agar* dilarutkan dalam 500 ml akuades dan dipanaskan hingga mendidih dalam penangas air sampai mencapai konsistensi homogen (ditandai dengan tidak adanya gumpalan) sambil terus diaduk agar agar-agar sepenuhnya larut (perlu diperhatikan agar tidak tumpah karena suhu yang tinggi). Setelah larut, media tersebut dimasukkan ke dalam erlenmeyer, ditutup rapat dengan kapas, kemudian dilapisi *aluminium foil* lalu diikat kencang menggunakan karet. Selanjutnya, media disterilisasi menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C. Setelah itu, biarkan dingin dan simpan di lemari es pada suhu 2-8°C.

c. Preparasi Media TSIA

Sebanyak 13 gram bubuk *Triple Sugar Iron Agar* dilarutkan dalam 200 ml akuades dan dipanaskan di atas *hot plate* hingga mendidih. Setelah itu, media disterilisasi di autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C. Setelah proses steril,

biarkan dingin dan simpan di lemari es pada suhu 2-8°C.

d. Preparasi Media SCA

Sebanyak 4,5 gram bubuk *Simmons Citrat Agar* dilarutkan dalam 200 ml akuades dan dipanaskan di *hot plate* hingga mendidih. Setelah itu, media disterilisasi dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C. Setelah proses steril, didinginkan dan simpan di lemari es pada suhu 2-8°C.

e. Preparasi Media MIO

Sebanyak 6 gram bubuk *Sulfide Indole Motility* (SIM) dan 2,4 gram agar *powder* dilarutkan dalam 200 ml akuades dan dipanaskan di *hot plate* hingga mendidih. Setelah itu, media disterilisasi dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C. Setelah proses steril, didinginkan dan simpan di lemari es pada suhu 2-8°C.

2. Pengukuran Parameter Lingkungan Pengambilan Sampel

Pengukuran parameter lingkungan pengambilan sampel dilakukan langsung di lapangan pada saat pengambilan sampel tanah. Parameter yang diukur meliputi suhu tanah dan pH tanah menggunakan *soil*

tester, serta suhu udara dan ketinggian wilayah menggunakan altimeter digital.

Pengambilan data dilakukan dalam satu hari penuh, dimulai dari pagi hari di lokasi kota hingga malam hari di lokasi kabupaten. Strategi ini dipilih untuk mengurangi bias antar-hari, karena kondisi cuaca bisa sangat berbeda apabila pengukuran dilakukan di hari yang berlainan. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa kondisi tanah dan udara mengalami fluktuasi diurnal (pagi-siang-malam) yang signifikan, pengukuran hanya pada satu periode waktu dapat menghasilkan bias besar terhadap nilai rata-rata harian. Misalnya, pengukuran suhu atau respirasi tanah di siang hari dapat menghasilkan deviasi –29% hingga +40%. Pengambilan data di pagi hari dapat meremehkan emisi CO_2 tanah hingga 25%, sementara sore hari lebih representatif terhadap rata-rata harian (Cueva *et al*., 2017; Li *et al*., 2024).

Dengan demikian, pengambilan data parameter lingkungan dalam satu hari penuh dianggap lebih reliabel dibandingkan pengukuran seragam di jam tertentu tetapi dilakukan pada hari yang berbeda. Meskipun pengukuran dilakukan pada jam berbeda, seluruh parameter lingkungan tetap tercatat pada hari

yang sama, sehingga hasil lebih konsisten dan menggambarkan kondisi nyata di lapangan. Data yang didapat kemudian dianalisis untuk mendukung interpretasi data lingkungan pada masing-masing lokasi penelitian.

3. Isolasi Bakteri *Bacillus thuringiensis*

Sampel tanah diambil di daerah Semarang pada enam lokasi yang berbeda. Pengambilan sampel tanah diambil sebanyak 20 gram dari kedalaman 10-20 cm dari permukaan tanah (Jani *et al*., 2023). Pemilihan lokasi pengambilan sampel tanah didasarkan pada penelitian Rahardianingtyas dan Wianto (2014) serta Adriani (2017). Sampel tanah kemudian disimpan dalam lemari pendingin pada suhu 4°C (Palma, 2015). Proses isolasi bakteri mengikuti metode yang dikembangkan oleh Ohba dan Aizawa (1986) dengan beberapa modifikasi. Sebanyak 1 ml sampel tanah disuspensi pada 10 ml akuades steril secara aseptis pada tabung reaksi, kemudian di vortex selama 4-5 menit. Pengenceran di mulai dari 10^{-1} sampai 10^{-6}, dengan pemanasan selama 15 menit pada suhu 70°C. Selanjutnya, 300 µl suspensi dari masing-masing pengenceran dituang ke dalam cawan petri berisi

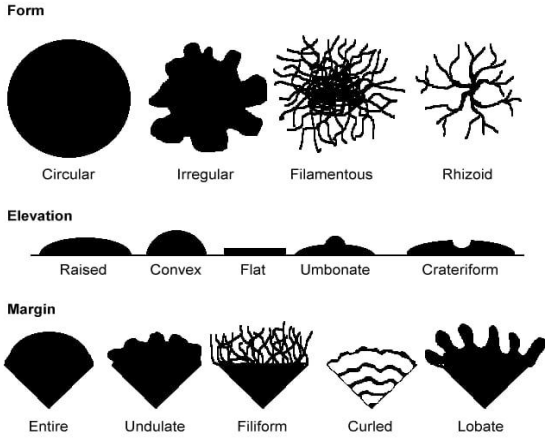
media selektif untuk *Bt*, dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 2-4 hari (Sudigdoadi *et al*., 2017).

4. Uji Karakterisasi *Bacillus thuringiensis*

Pengujian ini didasarkan pada panduan dari *Bergey's Manual of Systematic Bakteorology 2nd Edition Volume 3* (2009):

a. Karakterisasi morfologi bakteri

Setelah isolat diinkubasi selama 48 jam, dilakukan pengamatan terhadap koloni bakteri. Isolat yang diteliti diamati morfologi koloninya setelah dibudidayakan pada medium NA. Pengamatan meliputi tiga karakteristik utama: *form, elevation*, dan *margin*. Kategori *form* meliputi *circular, irregular, filamentous* dan *rhizoid*; *elevation* meliputi *raised, convex, flat, umbonate*, dan *crateriform*; sedangkan *margin* meliputi *entire, undulate, filiform, curled*, serta *lobate* (Lee *et al*., 2020; ScienceBuddies, 2025).



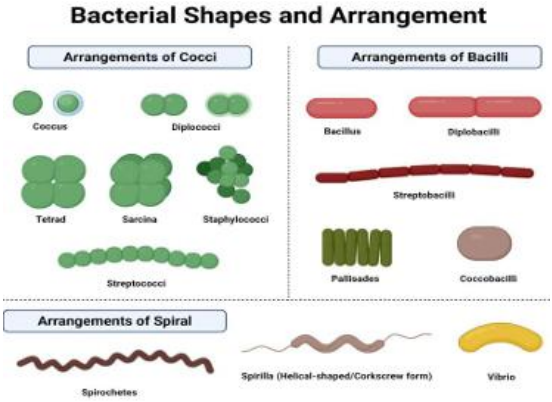
Gambar 3. 2 Bentuk Koloni Bakteri (ScienceBuddies, 2025)

Koloni yang diperkirakan *B. thuringiensis* memiliki karakteristik morfologi koloni bulat (*circular*), permukaan datar (*flat*), tepi halus (*entire*), dan berwarna krem (Nasution, 2018; Rocha *et al*., 2023).

b. Bentuk Sel dan Sifat Gram Bakteri

Bakteri digores pada kaca objek, kemudian difiksasi dengan di atas nyala api. Setelah itu, bakteri ditetesi dengan kristal violet selama 1 menit, dibilas dengan akuades, dan dikeringkan. Selanjutnya, diberi larutan lugol selama 1 menit, kemudian dibilas dengan akuades dan dikeringkan. Alkohol 70% ditambahkan hingga objek menjadi jernih, kemudian dibilas lagi dengan akuades. Pada tahap terakhir, safranin diteteskan selama 45 detik,

dibersihkan dengan akuades, dan dikeringkan. Setelah selesai, pengamatan dilakukan dengan mikroskop. Bakteri *Bt* dianggap positif jika berbentuk batang dan menunjukkan warna ungu (Putri *et al*., 2017; Syaifudin & Sutrisno, 2022).



Gambar 3. 3 Bentuk-bentuk Sel Bakteri (Sapkota, 2022)

c. Uji Katalase

Sebanyak 3% H_2O_2 diteteskan pada kaca preparat yang sudah dibersihkan dengan alkohol. Setelah itu, satu ose isolat bakteri digoreskan pada gelas objek tersebut dan diamati. Jika hasilnya positif, akan terlihat gelembung udara di sekitar goresan bakteri (Murali & Patel, 2017).

d. Uji Fermentasi Gula

Menggunakan media TSIA, inokulasi dilakukan pada isolat murni bakteri dengan metode *streak* menggunakan jarum ose dan tusukan menggunakan jarum inokulasi. Setelah diinkubasi 24 jam, diamati perubahan warna media dari merah menjadi kuning menunjukkan adanya fermentasi gula (glukosa). Amati juga apakah terdapat gas, yang dapat dilihat dari pecahnya media atau terangkatnya media ke atas (Vos *et al.*, 2009).

e. Uji Sitrat

Isolat diinokulasi secara zig-zag dengan ose, dan secara tusuk menggunakan jarum inokulasi pada media SCA miring (Rika *et al*., 2016). Setelah itu, inkubasi di suhu 30°C selama 24 jam. Perubahan warna diamati dari hijau menjadi biru sebagai hasil positif (Vos *et al*., 2009).

f. Uji *Motility Indole Ornithine*

Media ini bersifat semi solid yang diperlukan dalam menguji motilitas dan indol bakteri. 1 ose bakteri diinokulasi ke dalam media motilitas dan indol steril dengan metode tusukan. Setelah inkubasi di suhu 30°C selama 24 jam, dilakukan

pengamatan. Motilitas bakteri terlihat dari keruhnya pada media disekitar area tusukan (Adriani, 2017). Sedangkankan pada uji indol, ditambahkan setetes reagen kovaks ke permukaan media indol. Jika terdapat cincin merah, maka hasilnya dinyatakan positif (Vos *et al*., 2009).

g. Endospora

Kaca preparat ditetesi akuades dan diberi isolat bakteri 1 ose. Seluruh permukaan kaca preparat ditutup kertas saring, kemudian diteteskan *malachite green*. Preparat lalu difiksasi kembali selama 5 menit di atas bunsen. Setelahnya, kertas saring dilepaskan, dan preparat dibersihkan dengan akuades. Pewarnaan dilanjutkan dengan safranin selama sekitar 2 menit, lalu dibilas lagi. Pengamatan di bawah mikroskop menunjukkan endospora berwarna hijau, sedangkan sel bakteri tampak merah muda (Blondine & Susanti, 2010). *B. thuringiensis* memiliki ciri khas berupa kristal protein di luar endospora yang tampak lebih gelap dibandingkan endospora (Lantang & Runtuboi, 2012).

h. Kristal Protein

Diambil sebanyak 1 ose *Bt* diinokulasikan pada gelas objek yang steril kemudian difiksasi diberi pewarna *coomassie brilliant blue* (CBB) dan didiamkan selama 3 menit. Setelah dilakukan pewarnaan, gelas objek dibilas dengan air mengalir lalu dikeringkan dan diamati dibawah mikroskop (Siallagan *et al*., 2020).

5. Preparasi Media Peremajaan *Bacillus thuringiensis*

Media NA disiapkan, selanjutnya disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm. Setelah proses sterilisasi selesai, media diletakkan di dalam LAF hingga memadat. Sterilisasi tambahan dilakukan dengan sinar UV. Setelah media benar-benar memadat, 1 ose bakteri diambil dan dilakukan *streaking* pada media tersebut (Addiniyah, 2019).

6. Pembuatan Suspensi *Bacillus thuringiensis*

Diambil sebanyak 4 ose *Bt* biakan murni, lalu diinokulasikan ke dalam 100 ml media TPB. Setelahnya, campuran tersebut diinkubasi menggunakan *shaker* selama 2x24 jam. Kultur hasil inkubasi tersebut dianggap sebagai larutan stok awal untuk uji toksisitas.

7. Uji Toksisitas *Bacillus thuringiensis*

Uji toksisitas dilakukan dengan uji pendahuluan dan uji efikasi (Anggraeni *et al*., 2015). Larva *C. quinquefasciatus* didapat dari Insektarium Balai Besar Laboratorium Kesehatan Lingkungan Salatiga. Menurut WHO (2005), uji toksisitas dilakukan dengan uji efikasi untuk menentukan toksisitas efektif jika *B. thuringiensis* dapat membunuh larva. Uji efikasi dilakukan terhadap dua isolat *Bt* hasil isolasi dari Semarang, yaitu dari wilayah Kota (BTS1) dan Kabupaten (BTS2), serta produk Bactivec sebagai kontrol positif.

Masing-masing perlakuan diuji pada 6 tingkat konsentrasi berbeda, dengan 4 kali pengulangan dan satu kontrol negatif (0 ml). Setiap ulangan menggunakan 100 ml akuades yang berisi 20 ekor larva *C. quinquefasciatus* instar III. Pengamatan dilakukan terhadap jumlah larva yang mati pada dua titik waktu, yaitu 20 jam dan 24 jam setelah perlakuan (WHO, 2005). Pendekatan penggunaan volume tertentu dalam media uji ini juga telah diterapkan secara luas pada penelitian toksisitas *B. thuringiensis*, misalnya oleh Anggraeni et al., (2015) pada larva *C.*

*quinquefas*ciatus, Addiniyah (2019) pada larva *A. aegypti*, serta Jani *et al*., (2023) pada *S. frugiperda*.

Rentang konsentrasi *Bt* isolat dari kota dan kabupaten Semarang yang digunakan adalah 0 ml, 0,1 ml, 0,3 ml, 0,5 ml, 0,7 ml, 1 ml dan 3 ml per 100 ml akuades. Sementara itu, pada perlakuan dengan Bactivec digunakan konsentrasi yang jauh lebih rendah, yaitu 0 ml, 0,0001 ml, 0,0005 ml, 0,0007 ml, 0,001 ml, 0,003 ml, dan 0,01 ml. Perbedaan ini disesuaikan dari hasil uji pendahuluan, dimana konsentrasi yang setara dengan perlakuan isolat lokal menyebabkan kematian larva secara total, sehingga diperlukan pengenceran lebih lanjut untuk memperoleh rentang respons yang dapat dianalisis secara probit pada kematian larva nyamuk *C. quinquefasciatus* sebanyak 50% (LC_{50}), dan 90% (LC_{90}).

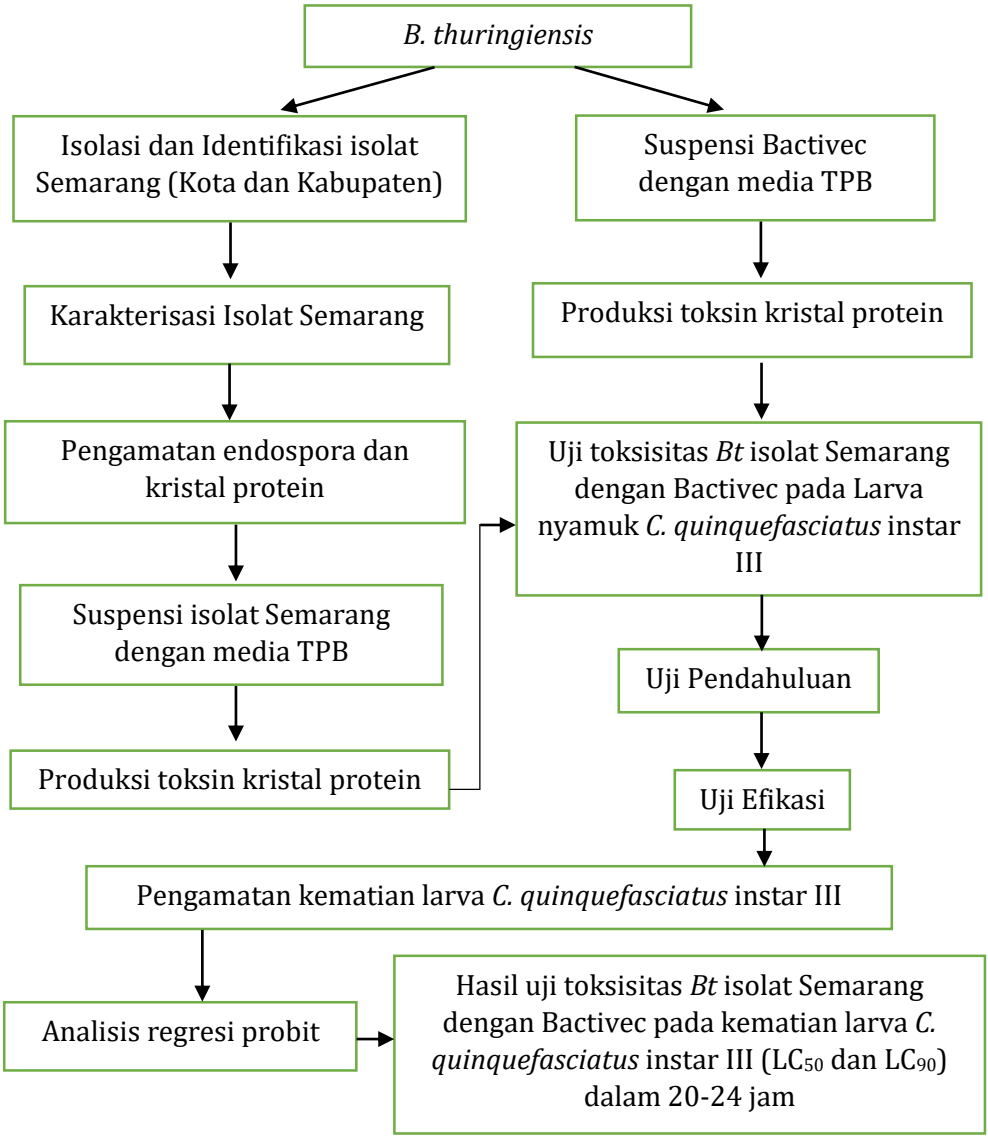
Pengamatan mortalitas dilakukan pada kematian larva nyamuk yang diamati selama 20 jam dan 24 jam. Virulensi setiap isolat ditentukan dengan nilai mortalitas pada larva uji menurut Khaeruni *et al*., (2012) dalam Addiniyah (2019) menggunakan rumus:

$$\%\ kematian\ larva = \frac{Jumlah\ larva\ yang\ mati}{Jumlah\ larva\ uji} \times 100\%$$

Data hasil dianalisis dengan tabulasi data dan tingkat virulensi *B. thuringiensis* yang ditetapkan berdasarkan nilai mortalitas larva uji menurut Manimegalai & Sukanya (2014) dalam Mafaza & Zulaika (2017) yaitu:

1) Virulensi tinggi, nilai mortalitas di atas 50%
2) Virulensi sedang, nilai mortalitas 30% - < 50%
3) Virulensi rendah, nilai mortalitas < 30%
4) Tidak virulen, nilai mortalitas 0%

E. Alur Penelitian



Gambar 3. 4 Diagram Alur Penelitian

F. Analisis Data

Data penelitian dianalisis secara deskriptif dan inferensial dengan bantuan perangkat lunak SPSS versi 26. Parameter lingkungan (suhu udara, suhu tanah, pH tanah, dan ketinggian wilayah) dianalisis menggunakan uji Mann-Whitney U untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan signifikan antara lokasi pengambilan sampel di Semarang kota dan kabupaten. Sementara itu, data mortalitas *larva C. quinquefasciatus* dari hasil uji efikasi *B. thuringiensis* isolat Semarang (kota dan kabupaten) serta Bactivec dihitung dalam bentuk persentase kematian.

Persentase mortalitas tersebut selanjutnya dianalisis dengan regresi probit untuk memperoleh nilai *Lethal Concentration* 50% (LC_{50}) dan *Lethal Concentration* 90% (LC_{90}). Analisis regresi probit digunakan karena sesuai untuk melihat hubungan antara variabel respon berupa mortalitas larva (kategori hidup atau mati) dengan variabel prediktor berupa konsentrasi larutan *Bt* yang bersifat kontinu. Dengan demikian, diperoleh estimasi konsentrasi yang menyebabkan kematian larva sebesar 50% (LC_{50}) maupun 90% (LC_{90}) (Finney, 1971).

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Parameter Lingkungan Pengambilan Sampel Tanah Kota dan Kabupaten Semarang

Parameter lingkungan lokasi pengambilan sampel tanah kota dan kabupaten Semarang diukur berdasarkan empat parameter meliputi suhu tanah, suhu udara, pH tanah dan ketinggian wilayah, hasil pengamatan dan uji statistik dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Tabel 4. 1 Parameter Lingkungan Pengambilan Sampel Tanah

Parameter	Rata-rata Kota	Rata-rata Kabupaten	Mann-Whitney U	Asymp. Sig. (2-tailed)	Keterangan
Suhu Tanah	28^{o}C	24^{o}C	18.500	0.049	Berbeda signifikan
Suhu Udara	30^{o}C	27^{o}C	39.500	0.929	Tidak berbeda signifikan
pH Tanah	6.5	6.5	36.500	0.586	Tidak berbeda signifikan
Ketinggian Wilayah	172 mdpl	838 mdpl	0.000	0.000	Berbeda signifikan

Berdasarkan Tabel 4.1, parameter lingkungan yang telah dianalisis statistik Mann-Whitney U pada hasil pengamatan diketahui bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara wilayah kota dan kabupaten Semarang pada parameter ketinggian wilayah. Hal ini ditunjukkan oleh nilai signifikansi (Asymp. Sig. 2-tailed) < 0,05, yang

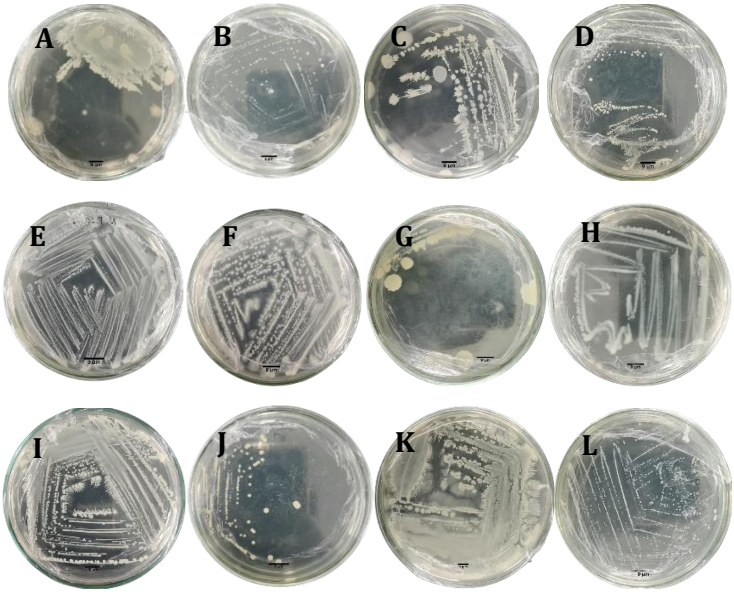
berarti bahwa secara statistik, suhu tanah dan ketinggian wilayah kota-kabupaten berbeda nyata. Sementara itu, untuk suhu udara dan pH tanah, hasil uji Mann-Whitney U menunjukkan nilai signifikansi lebih dari 0,05. Artinya, tidak terdapat perbedaan yang signifikan secara statistik antara suhu udara dan pH tanah. Dengan kata lain, secara umum suhu dan pH lingkungan di kedua wilayah cenderung serupa, meskipun terdapat variasi nilai pada masing-masing lokasi pengambilan sampel.

2. Isolasi dan Purifikasi Bakteri

Isolasi bakteri dilakukan menggunakan media selektif yang dirancang khusus untuk mendukung pertumbuhan *B. thuringiensis*, dengan sumber isolat berasal dari enam sampel tanah komposit. Sampel tanah diambil dari berbagai lokasi, yaitu Simpang Lima (SL), Bukit Undip Tembalang (BUT), dan BSB *City* (BSB) yang mewakili wilayah kota Semarang, serta Ambarawa (AMB), Bawen (BWN), dan Bandungan (BDG) yang mewakili wilayah kabupaten Semarang. Inokulasi sampel dilakukan ke dalam media selektif, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 2 hingga 4 hari (Sudigdoadi *et al*., 2017).

Pertumbuhan koloni diamati pada berbagai tingkat pengenceran, dan hasil terbaik diperoleh pada pengenceran 10^{-4}, di mana koloni tampak tumbuh terpisah

dan memiliki morfologi yang jelas untuk diamati lebih lanjut. Selanjutnya, koloni dari media selektif tersebut dipurifikasi menggunakan teknik gores (*streak plate*) pada media *Nutrient* Agar (NA), kemudian diinkubasi selama 24–48 jam guna memperoleh koloni tunggal yang murni. Isolat hasil purifikasi ini selanjutnya digunakan untuk tahap karakterisasi, baik dari segi morfologi koloni secara makroskopis maupun pengamatan mikroskopis terhadap bentuk sel, endospora, dan kristal protein. Hasil purifikasi dapat dilihat pada Gambar 4.1.

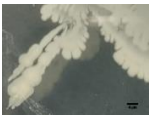
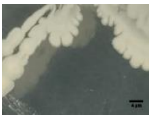
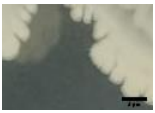
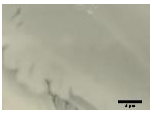
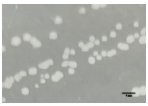
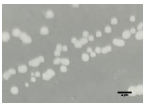
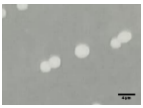
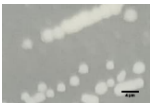
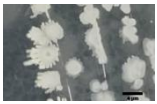
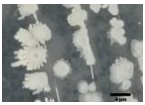
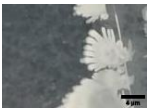


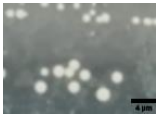
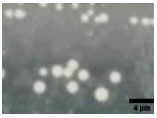
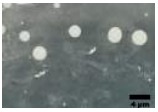
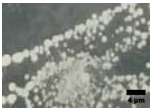
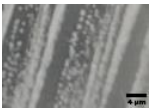
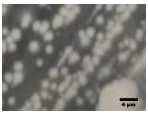
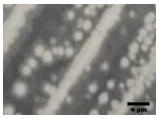
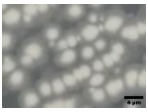
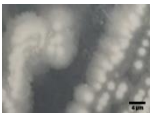
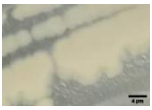
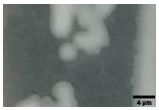
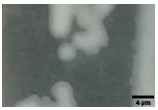
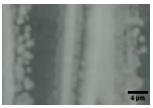
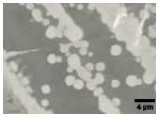
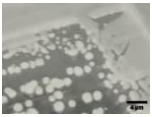
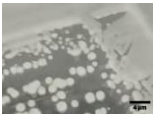
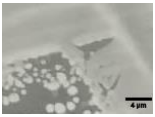
Gambar 4. 1 Hasil Purifikasi Isolat Bakteri 10^{-4} Kota: (A) SL^1, (B) SL^2, (C) BUT^1, (D) BUT^2, (E) BSB^1, (F) BSB^2, Kabupaten: (G) AMB^1, (H) AMB^2, (I) BWN^1, (J) BWN^2, (K) BDG^1, dan (L) BDG^2
(Dokumentasi penelitian, 2025)

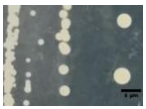
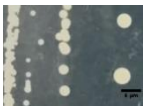
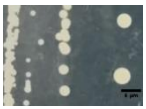
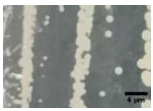
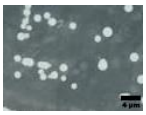
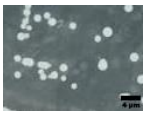
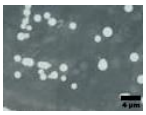
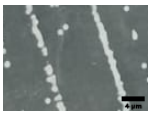
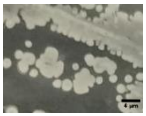
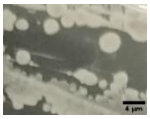
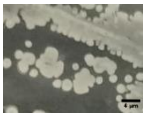
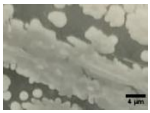
3. Karakterisasi Morfologi Koloni dan Sel Bakteri

Pengamatan morfologi koloni secara makroskopis yaitu dengan melihat bentuk, elevasi, tepian, dan warna koloni. Karakterisasi morfologi koloni bakteri dilakukan dengan penilaian morfologi koloni *B. thuringiensis* yang memiliki bentuk bulat (*circular*), permukaan datar (*flat*), tepi halus (*entire*), dan berwarna krem (Nasution, 2018; Rocha *et al*., 2023). Hasil Identifikasi dapat dilihat pada Tabel 4.2.

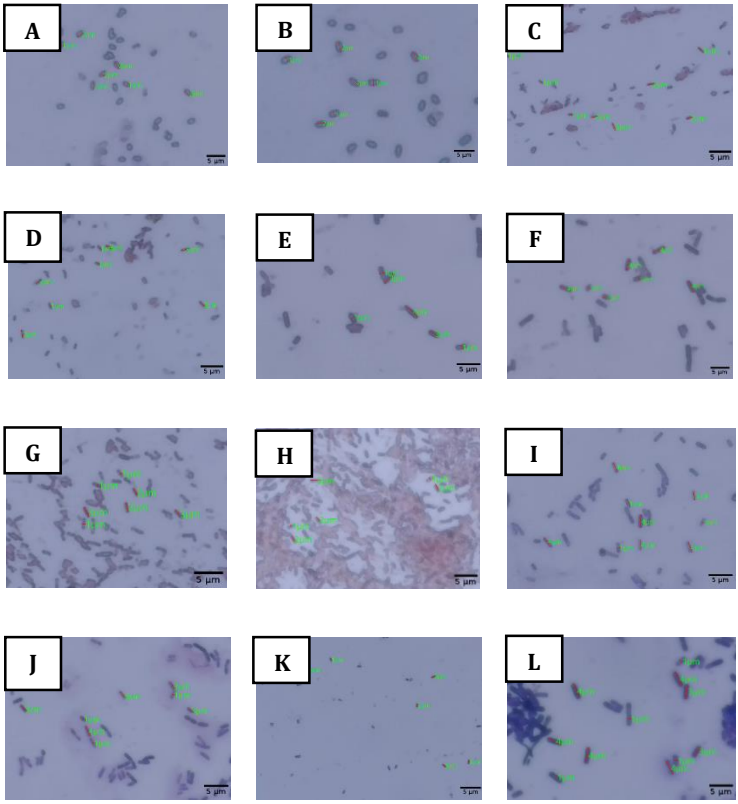
Tabel 4.2 Karakter Morfologi Koloni

Kode Isolat	Morfologi Koloni			
	Bentuk	**Elevasi**	**Tepian**	**Warna**
SL(1)	 *Irregular*	 *Raised*	 *Undulate*	 Krem
SL(2)	 *Circular*	 *Flat*	 *Entire*	 Krem
BUT(1)	 *Irregular*	 *Raised*	 *Lobate*	 Putih

Kode Isolat	Morfologi Koloni			
	Bentuk	**Elevasi**	**Tepian**	**Warna**
BUT(2)	 *Circular*	 *Convex*	 *Entire*	 Putih
BSB(1)	 *Circular*	 *Flat*	 *Entire*	 Krem
BSB(2)	 *Circular*	 *Raised*	 *Undulate*	 Krem
AMB(1)	 *Circular*	 *Raised*	 *Undulate*	 Krem
AMB(2)	 *Circular*	 *Raised*	 *Entire*	 Putih
BWN(1)	 *Circular*	 *Flat*	 *Entire*	 Krem

Kode Isolat	Morfologi Koloni			
	Bentuk	**Elevasi**	**Tepian**	**Warna**
BWN(2)	 *Circular*	 *Convex*	 *Entire*	 Krem
BDG(1)	 *Circular*	 *Raised*	 *Entire*	 Putih
BDG(2)	 *Circular*	 *Flat*	 *Entire*	 Krem

Berdasarkan hasil purifikasi, didapatkan empat isolat yang memiliki morfologi koloni *Bt* yang sesuai yaitu isolat kota SL(2) dan BSB(1), isolat kabupaten BWN(1), dan BDG(2). Sedangkan isolat yang tidak memenuhi kararakter morfologi koloni *Bt* yaitu isolat SL(1), BUT(1), BUT(2), BSB(2), BWN(2), AMB(1), AMB(2) dan BDG(1). Selanjutnya dilakukan pengamatan mikroskopis guna mengetahui bentuk sel isolat, hasil pengamatan mikroskopis terlihat pada Gambar 4.2 dengan perbesaran 400x.



Gambar 4. 2 Morfologi Sel Isolat Kota: (A) SL^1 berbentuk batang, (B) SL^2 berbentuk batang, (C) BUT^1 berbentuk batang, (D) BUT^2 berbentuk batang, (E) BSB^1 berbentuk batang, (F) BSB^2 berbentuk batang, Kabaputen: (G) AMB^1 berbentuk batang, (H) AMB^2 berbentuk batang, (I) BWN^1 berbentuk batang, (J) BWN^2 berbentuk batang, (K) BDG^1 berbentuk batang, dan (L) BDG^2 berbentuk batang (Dokumentasi penelitian, 2025)

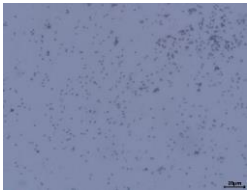
Berdasarkan hasil pengamatan mikroskopis menunjukkan morfologi sel berbentuk batang (basil). Isolat SL(1) dan SL(2) memiliki panjang 2 μm dan lebar 1

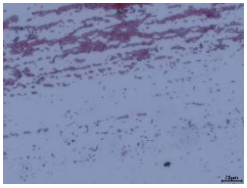
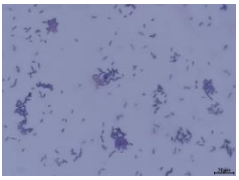
μm, isolat BUT(1) dan BDG(1) memiliki panjang 2-3 μm dan lebar 1 μm, isolat BUT(2) memiliki panjang 3 μm dan lebar 1 μm, isolat BSB(1), BWN(1), BWN (2) dan BDG(2) memiliki panjang 3-4 μm dan lebar 1 μm, isolat BSB(2) emiliki panjang 3 μm dan lebar 1 μm. Sedangkan isolat AMB(1) dan AMB(2) memiliki panjang 2-3 μm dan lebar 1 μm. Ukuran sel isolat BSB(1), BWN(1), dan BDG(2) dengan panjang 3-5 μm dan lebar 1-1,2 μm. Meskipun isolat SL(2) memiliki ukuran yang lebih kecil dan bentuk batang yang belum sepenuhnya berkembang telah memenuhi karakter morfologi koloni *B. thuringiensis*.

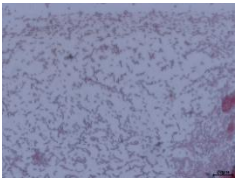
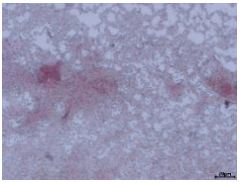
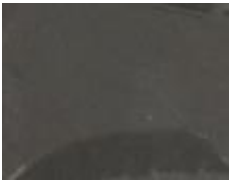
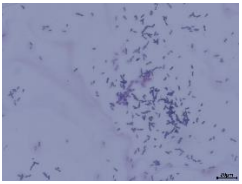
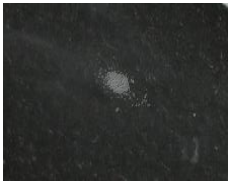
4. Karakterisasi Genus *Bacillus*

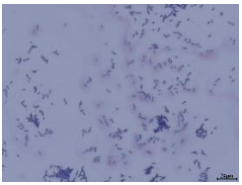
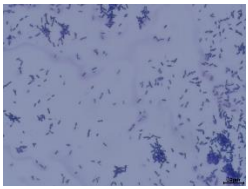
Koloni bakteri dikarakterisasi menggunakan pewarnaan Gram dengan pengamatan warna ungu pada perbesaran 400x dan hasil uji katalase positif berdasarkan *Bergey's Manual.* Hasil dapat dilihat pada Tabel 4.3.

Tabel 4.3 Karakterisasi Genus *Bacillus*

Isolat Bakteri	Sifat Gram	Uji Katalase
SL(1)		
	+	-

Isolat Bakteri	Sifat Gram	Uji Katalase
SL(2)		
	+	+
BUT(1)		
	-	-
BUT(2)		
	-	-
BSB(1)		
	+	+

Isolat Bakteri	Sifat Gram	Uji Katalase
BSB(2)		
	+	-
AMB(1)		
	-	-
AMB(2)		
	-	-
BWN(1)		
	+	+

Isolat Bakteri	Sifat Gram	Uji Katalase
BWN(2)		
	+	-
BDG(1)		
	+	-
BDG(2)		
	+	+

Keterangan: hasil positif (+), hasil negatif (-)

Berdasarkan hasil pengamatan pewarnaan Gram dan uji katalase, isolat yang tergolong ke dalam genus *Bacillus* ditandai dengan sifat Gram positif (terlihat berwarna ungu pada pengecatan Gram) dan menunjukkan reaksi positif pada uji katalase yang ditandai dengan terbentuknya buih.

Mengacu pada Tabel 4.3, isolat yang memiliki karakteristik tersebut adalah SL(2), BSB(1), BWN(1), dan BDG(2). Sedangkan yang tidak tergolong genus *Bacillus* ditandai dengan sifat Gram positif (berwarna ungu) menunjukkan reaksi negatif katalase yang tidak terbentuknya buih adalah isolat SL(1), BSB(2), BWN(2), BDG(1), kemudian sifat Gram negatif (berwarna merah) dengan menunjukkan reaksi negatif katalase yang tidak terbentuknya buih adalah isolat BUT(1), BUT(2), AMB(1), dan AMB(2).

5. Karakterisasi *Bacillus thuringiensis*

Isolat yang memenuhi kesesuaian koloni, Gram, dan uji katalase dikarakterisasi dengan uji biokimia untuk mendapatkan bakteri spesifik. Dalam penelitian ini, uji biokimia dilakukan sebagai langkah identifikasi awal untuk memastikan karakteristik isolat bakteri yang diduga merupakan *B. thuringiensis*. Uji yang digunakan meliputi fermentasi gula, penggunaan sitrat, motilitas, dan pembentukan indol. Keempat uji ini dipilih karena mampu menggambarkan sifat metabolik dan fisiologis bakteri yang relevan untuk identifikasi, serta didasarkan pada acuan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* sebagai rujukan standar dalam penentuan karakteristik bakteri. Hasil uji biokimia dapat dilihat pada Tabel 4.4.

Tabel 4. 4 Uji biokimia isolat bakteri

Uji Biokimia	Isolat			
	SL2	**BSB1**	**BWN1**	**BDG2**
TSIA				
	+	-	-	+
Sitrat				
	-	-	-	+
Motilitas				
	+	+	+	+
Indol				
	-	-	-	-

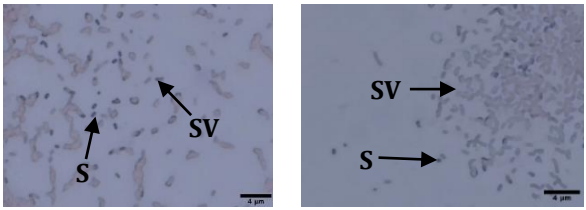
Keterangan: hasil positif (+), hasil negatif (-)

Tabel 4.4 diatas menunjukkan 4 uji biokimia berdasarkan panduan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, dari empat isolat yang diuji menunjukkan hasil yang berbeda. Seluruh isolat bakteri menunjukkan hasil positif (motil) pada uji motilitas (pergerakan bakteri), ditandai dengan keruhnya daerah disekitar tusukan. Pada uji fermentasi gula, isolat SL(2), dan BDG(2) menunjukkan hasil negatif berwarna merah, sedangkan isolat BSB(1), dan BSB(2) menunjukkan hasil positif berwarna kuning. Uji sitrat isolat BDG(2) menunjukkan hasil positif dengan perubahan warna media hijau menjadi biru. Sedangkan isolat SL(2), BSB(1), dan BWN(1) menunjukkan hasil negatif tidak ada perubahan warna media. Kemudian, pada uji indol seluruh isolat menunjukkan hasil negatif.

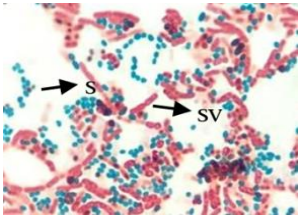
Berdasarkan hasil uji biokimia pada Tabel 4.4. dan panduan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, maka isolat bakteri yang menunjukkan kesamaan karakteristik *Bacillus thuringiensis* adalah isolat BSB(1) dan BWN(1). Isolat BSB(1) yang berasal dari wilayah kota Semarang selanjutnya disebut BTS1, sedangkan isolat BWN(1) yang berasal dari wilayah kabupaten Semarang disebut sebagai BTS2.

6. Pengamatan Endospora dan Kristal Protein

Bt dikenal dengan ciri khasnya yaitu memiliki endospora dan kristal protein, dimana kristal protein biasanya tampak di ujung sel pada fase sporulasi. Hasil pengamatan ini difokuskan pada keberadaan struktur tersebut dan posisinya di dalam sel bakteri. Untuk memperkuat interprestasi hasil, dilakukan perbandingan visual dengan dokumentasi dari literatur perbesaran 1000x pada Gambar 4.4. Hasil pengamatan endospora dengan perbesaran 400x dapat dilihat pada Gambar 4.3.

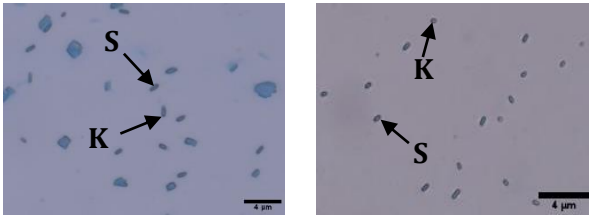


Gambar 4. 3 Pengamatan Endospora pada Perbesaran 400x: (A) BTS1, (B) BTS2. Keterangan: (S) Spora, (SV) Sel Vegetatif (Dokumentasi penelitian, 2025)

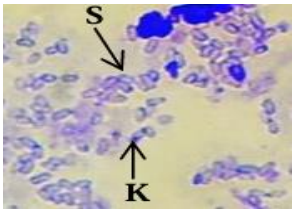


Gambar 4. 4 Morfologi Endospora pada Perbesaran 1000x.
Keterangan: (S) Spora, (SV) Sel Vegetatif
(Addiniyah, 2019)

Berdasarkan Gambar 4.3, isolat BTS1 dan BTS2 memiliki endospora. Untuk mendeteksi adanya endospora dapat menggunakan pewarna *malachite green* dan safranin (Blondine & Susanti, 2010), hasil pewarnaan endospora menunjukkan spora berwana hijau sedangkan sel vegetatif berwarna merah muda. Terbentuknya endospora diiringi dengan terbentuknya kristal protein. Kristal inilah yang bersifat toksik terhadap larva nyamuk (Anggraeni *et al*., 2013). Hasil pengamatan kristal protein dapat dilihat pada Gambar 4.5. dan perbandingan visual dengan dokumentasi dari literatur perbesaran 1000x pada Gambar 4.6.



Gambar 4. 5 Pengamatan Kristal protein pada Perbesaran 400x: (A) BTS1, (B) BTS2. Keterangan: (S) Spora, (K) Kristal protein (Dokumentasi penelitian, 2025)



Gambar 4. 6 Morfologi Kristal Protein pada Perbesaran 1000x. Keterangan: (S) Spora, (K) Kristal protein (Siallagan *et al*., 2020)

Berdasarkan Gambar 4.5, isolat BTS1 dan BTS2 setelah pewarnaan menggunakan CBB (*Coomassie Brilliant Blue*) menunjukkan bahwa kristal protein tampak lebih gelap dan padat daripada endospora, terlihat diujung sel bakteri. Kristal protein berbentuk bulat. Isolat BTS1 dan BTS2 memiliki potensi sebagai biolarvasida. Ciri-ciri yang ditunjukkan oleh isolat BTS1 dan BTS2, seperti bentuk sel batang Gram positif, kemampuan membentuk endospora, serta keberadaan kristal parasporal, memperkuat bahwa isolat tersebut dapat diidentifikasi sebagai *B. thuringiensis*.

7. Uji Toksisitas *Bacillus thuringiensis* Isolat Semarang (BTS1 & BTS2) dengan Bactivec terhadap Larva *Culex quinquefasciatus* Instar III

Larva *C. quinquefasciatus* instar III diperoleh dari Insektarium Balai Besar Laboratorium Kesehatan Lingkungan (BBLKL) Salatiga. *B. thuringiensis* yang digunakan berasal dari Isolat kota Semarang (Kode: BTS1), Isolat kabupaten Semarang (Kode: BTS2) dan produk komersial Bactivec (Kode: BAC). Hasil uji toksisitas isolat BTS1, BTS2 dan BAC pada waktu 20 jam dapat dilihat pada Tabel 4.5, Tabel 4.6. dan Tabel 4.7. Sedangkan hasil uji toksisitas isolat BTS1, BTS2 dan BAC pada waktu 24 jam dapat dilihat pada Tabel 4.8. Tabel 4.9. dan Tabel 4.10.

Tabel 4.5 Hasil Uji Toksisitas Isolat BTS1 terhadap Larva *C. quinquefasciatus* instar III selama 20 Jam

Konsentrasi Isolat (ml)	Total Larva Uji & Ulangan (20x4)	Total Larva Mati	Mortalitas Larva (%)	Tingkat Virulensi
0	80	0	0%	-
0,1	80	2	2,5%	Rendah
0,3	80	5	6,25%	Rendah
0,5	80	7	8,75%	Rendah
0,7	80	18	22,5%	Rendah
1	80	68	85%	Tinggi
3	80	80	100%	Tinggi

Tabel 4.6 Hasil Uji Toksisitas Isolat BTS2 terhadap Larva *C. quinquefasciatus* instar III selama 20 Jam

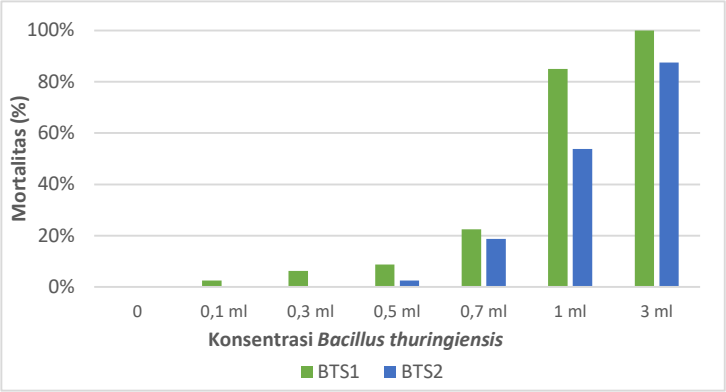
Konsentrasi Isolat (ml)	Total Larva Uji & Ulangan (20x4)	Total Larva Mati	Mortalitas Larva (%)	Tingkat Virulensi
0	80	0	0%	-
0,1	80	0	0%	-
0,3	80	0	0%	-
0,5	80	2	2,5%	Rendah
0,7	80	15	18,75%	Rendah
1	80	43	53,75%	Tinggi
3	80	70	87,5%	Tinggi

Tabel 4.7 Hasil Uji Toksisitas Isolat BAC terhadap Larva *C. quinquefasciatus* instar III selama 20 Jam

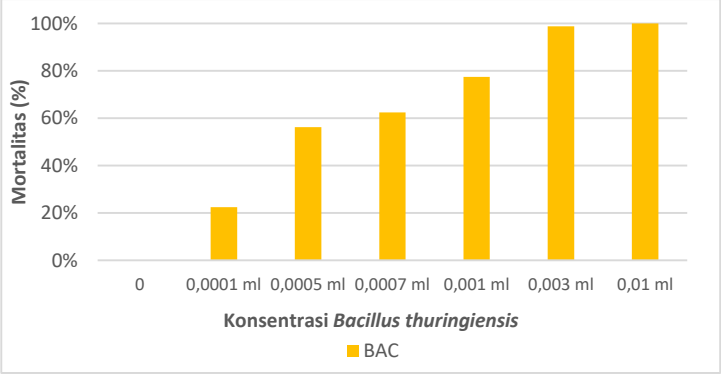
Konsentrasi Isolat (ml)	Total Larva Uji & Ulangan (20x4)	Total Larva Mati	Mortalitas Larva (%)	Tingkat Virulensi
0	80	0	0%	-
0,0001	80	18	22,5%	Rendah
0,0005	80	45	56,25%	Tinggi
0,0007	80	50	62,5%	Tinggi
0,001	80	62	77,5%	Tinggi
0,003	80	79	98,75%	Tinggi
0,01	80	80	100%	Tinggi

Berdasarkan Tabel 4.5, Tabel 4.6, dan Tabel 4.7. Isolat BTS1 dan BTS2 memiliki potensi sebagai biolarvasida karena mampu menyebabkan kematian pada larva *C. quinquefasciatus* instar III selama 20 jam. Sementara itu, Isolat BAC merupakan biolarvasida komersial yang telah diformulasi dan digunakan secara luas sebagai agen pengendali hayati. Dalam penelitian ini, BAC digunakan sebagai kontrol positif karena merupakan produk biolarvasida terstandarisasi dengan bahan aktif *B. thuringiensis* subsp. *israelensis.* Persentase kematian larva yang diberi isolat BTS1, BTS2 dan BAC menunjukkan variasi mortalitas pada setiap konsentrasi dengan tingkat virulensi yang berbeda selama 20 jam pengamatan.

Persentase kematian larva setelah diberi isolat BTS1, dan BTS2, dapat dilihat pada grafik Gambar 4.7. Sedangkan persentase kematian larva setelah diberi isolat BAC dapat dilihat pada grafik Gambar 4.8.



Gambar 4. 7 Persentase Mortalitas Larva *C. quinquefasciatus* oleh Isolat BTS1 dan BTS2 Selama 20 Jam



Gambar 4. 8 Persentase Mortalitas Larva *C. quinquefasciatus* oleh Isolat BAC Selama 20 Jam

Grafik pada Gambar 4.7 dan Gambar 4.8, memperlihatkan persentase kematian larva *C. quinquefasciatus* instar III setelah 20 jam paparan terhadap dua isolat lokal *B. thuringiensis* (BTS1 dan BTS2), serta kontrol positif (standar pembanding) berupa produk komersial Bactivec (BAC). Hasil grafik menunjukkan bahwa mortalitas larva meningkat seiring dengan bertambahnya konsentrasi pada semua perlakuan. Isolat BAC, sebagai kontrol positif menunjukkan toksisitas paling tinggi. Pada konsentrasi 0,0005 ml mortalitas larva sudah melebihi 50% dan mencapai 100% pada konsentrasi 0,01 ml. Hal ini menunjukkan bahwa BAC memiliki tingkat virulensi yang tinggi bahkan pada konsentrasi sangat rendah.

Sementara itu, isolat lokal BTS1 menunjukkan potensi sedang dengan virulensi tinggi baru terlihat pada konsentrasi 1 ml ke atas, yaitu saat mortalitas mencapai 85% pada konsentrasi 1 ml dan 100% pada konsentrasi 3 ml. Hal ini menunjukkan bahwa BTS1 memiliki potensi toksik, namun masih memerlukan konsentrasi tinggi untuk menghasilkan efek maksimal dalam 20 jam. Sedangkan isolat lokal BTS2 menunjukkan toksisitas paling rendah dengan virulensi tinggi baru terlihat pada konsentrasi 3 ml, pada konsentrasi 1 ml kematian larva 53,75% dan belum

mencapai 100% pada konsentrasi 3 ml (87,5%). Berdasarkan kedua grafik di atas, urutan efektivitas toksik terhadap larva *C. quinquefasciatus* adalah: **BAC > BTS1 > BTS2**.

Tabel 4.8 Hasil Uji Toksisitas Isolat BTS1 terhadap Larva *C. quinquefasciatus* instar III selama 24 Jam

Konsentrasi Isolat (ml)	Total Larva Uji & Ulangan (20x4)	Total Larva Mati	Mortalitas Larva (%)	Tingkat Virulensi
0	80	0	0%	-
0,1	80	2	2,5%	Rendah
0,3	80	5	6,25%	Rendah
0,5	80	11	13,75%	Rendah
0,7	80	21	26,25%	Rendah
1	80	69	86,25%	Tinggi
3	80	80	100%	Tinggi

Tabel 4.9 Hasil Uji Toksisitas Isolat BTS2 terhadap Larva *C. quinquefasciatus* instar III selama 24 Jam

Konsentrasi Isolat (ml)	Total Larva Uji & Ulangan (20x4)	Total Larva Mati	Mortalitas Larva (%)	Tingkat Virulensi
0	80	0	0%	-
0,1	80	0	0%	-
0,3	80	1	1,25%	Rendah
0,5	80	4	5%	Rendah

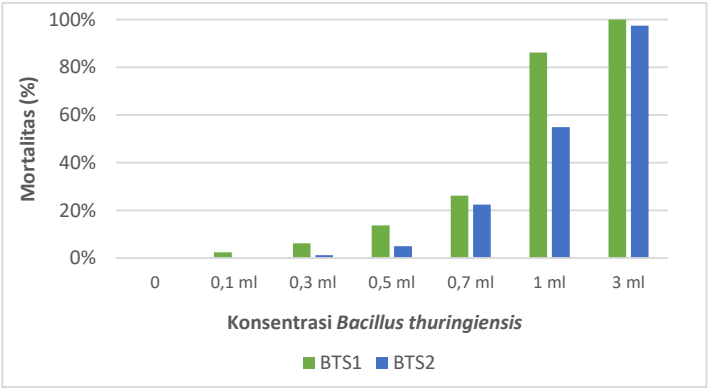
Konsentrasi Isolat (ml)	Total Larva Uji & Ulangan (20x4)	Total Larva Mati	Mortalitas Larva (%)	Tingkat Virulensi
0,7	80	18	22,5%	Rendah
1	80	44	55%	Tinggi
3	80	78	97,5%	Tinggi

Tabel 4.10 Hasil Uji Toksisitas Isolat BAC terhadap Larva *C. quinquefasciatus* instar III selama 24 Jam

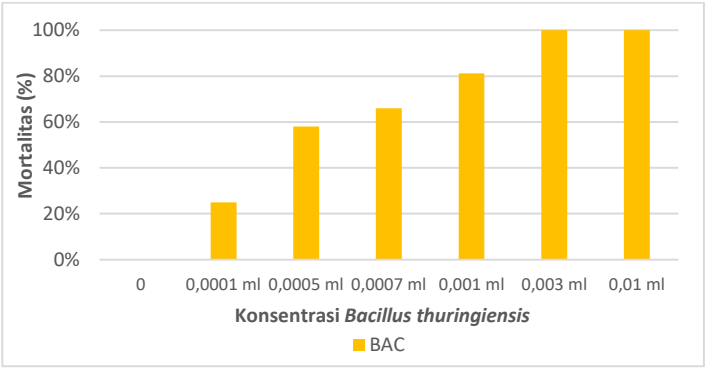
Konsentrasi Isolat (ml)	Total Larva Uji & Ulangan (20x4)	Total Larva Mati	Mortalitas Larva (%)	Tingkat Virulensi
0	80	0	0%	-
0,0001	80	20	25%	Rendah
0,0005	80	46	58%	Tinggi
0,0007	80	53	66%	Tinggi
0,001	80	65	81,25%	Tinggi
0,003	80	80	100%	Tinggi
0,01	80	80	100%	Tinggi

Berdasarkan Tabel 4.8, Tabel 4.9, dan Tabel 4.10. Isolat BTS1 dan BTS2 memiliki potensi sebagai biolarvasida karena mampu menyebabkan kematian pada larva *C. quinquefasciatus* instar III selama 24 jam. Persentase kematian larva yang diberi isolat BTS1, BTS2 dan BAC menunjukkan variasi mortalitas pada setiap konsentrasi

dengan tingkat virulensi yang berbeda selama 24 jam pengamatan. Persentase kematian larva setelah diberi isolat BTS1, dan BTS2, dapat dilihat pada grafik Gambar 4.9. Sedangkan persentase kematian larva setelah diberi isolat BAC dapat dilihat pada grafik Gambar 4.10.



Gambar 4. 9 Persentase Mortalitas Larva *C. quinquefasciatus* oleh Isolat BTS1 dan BTS2 Selama 24 Jam

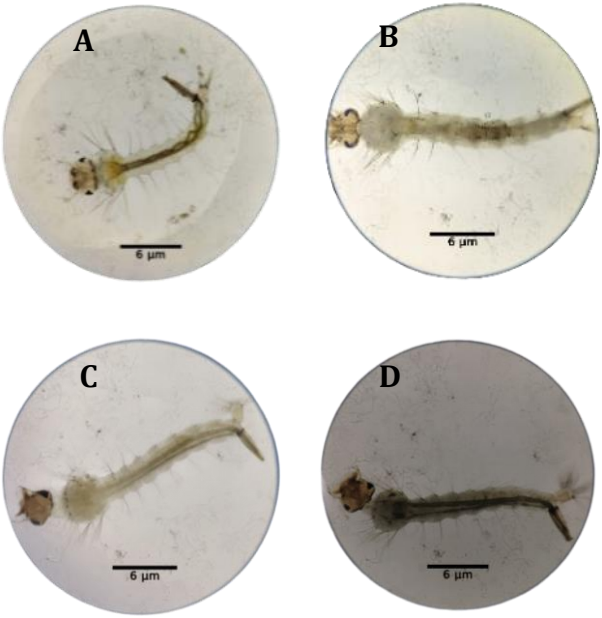


Gambar 4. 10 Persentase Mortalitas Larva *C. quinquefasciatus* oleh Isolat BAC Selama 24 Jam

Grafik pada Gambar 4.9 dan Gambar 4.10, memperlihatkan persentase kematian larva *C. quinquefasciatus* instar III setelah 24 jam paparan. Dibandingkan hasil sebelumnya, terjadi peningkatan mortalitas pada seluruh perlakuan. Isolat BAC tetap menunjukkan toksisitas yang paling tinggi dan virulensi tinggi dalam waktu singkat dan konsentrasi rendah, dengan mortalitas sudah mencapai 100% pada konsentrasi 0,003 ml dan 0,01 ml.

Isolat lokal BTS1 menunjukkan peningkatan toksisitas dibandingkan hasil 20 jam, dengan mortalitas larva sebesar 86,25% pada konsentrasi 1 ml dan 100% pada konsentrasi 3 ml. Hal ini menandakan bahwa virulensi tinggi dari isolat BTS1 mulai tercapai lebih cepat, meskipun membutuhkan konsentrasi tinggi. Isolat BTS2 juga menunjukkan peningkatan toksisitas lebih baik pada waktu 24 jam, dimana mortalitas larva mencapai 55% pada konsentrasi 1 ml dan 97,5% pada konsentrasi 3 ml. Hal ini menandakan bahwa virulensinya tergolong tinggi pada konsentrasi maksimal. Meski demikian, toksisitas BTS2 masih lebih rendah dibandingkan BTS1 dengan jarak perbedaannya menjadi lebih kecil dibandingkan hasil 20 jam. Secara keseluruhan, urutan toksisitas pada 24 jam tetap **BAC > BTS1 > BTS2**.

cPersentase kematian larva yang ditampilkan melalui grafik di atas, baik pada waktu pengamatan selama 20 jam dan 24 jam, tidak hanya ditunjukkan dalam bentuk angka, namun juga terlihat secara morfologis. Oleh karena itu, dilakukan dokumentasi visual terhadap larva *C. quinquefasciatus*, sebagai data pendukung uji toksisitas dengan mikroskop stereo. Hasil pengamatan morfologi larva setelah 20 jam dan 24 jam dapat dilihat pada Gambar 4.11 dan Gambar 4.12.



Gambar 4. 11 Hasil Pengamatan Larva *C. quinquefasciatus* instar III pasca perlakuan selama 20 jam: (A) larva tampak bening, utuh, dan

segar [kontrol negatif], (B) larva pucat dengan sedikit kehitaman di bagian abdomen [BTS1], (C) larva tampak pucat dan sedikit bengkak [BTS2], (D) larva menghitam dan tampak kaku [BAC] (Dokumentasi penelitian, 2025)

Berdasarkan Gambar 4.11 menunjukkan hasil pengamatan morfologi larva *Culex quinquefasciatus* instar III setelah 20 jam paparan terhadap masing-masing perlakuan ditampilkan pada Gambar 4.11. Larva kontrol negatif (Gambar 4.11A) menunjukkan morfologi normal dengan tubuh transparan, utuh, dan aktivitas berenang yang masih tinggi. Sebaliknya, larva yang diberi perlakuan isolat lokal BTS1 (Gambar 4.11B) tampak pucat dan mulai menunjukkan kehitaman pada bagian abdomen, disertai penurunan aktivitas gerak. Larva yang terpapar isolat BTS2 (Gambar 4.11C) menunjukkan perubahan warna menjadi keabu-abuan serta tampak sedikit membengkak, yang mengindikasikan respons awal terhadap paparan toksin. Pada larva yang diberi perlakuan Bactivec (BAC) sebagai kontrol positif (Gambar 4.11D), terlihat kondisi tubuh yang kaku, dengan warna gelap kehitaman yang menyebar di sebagian besar tubuh, menandakan efek toksik yang kuat dalam waktu 20 jam.



Gambar 4. 12 Hasil Pengamatan Larva *C. quinquefasciatus* instar III pasca perlakuan selama 24 jam: (A) larva tampak bening, utuh, dan segar [kontrol negatif], (B) larva tampak sangat pucat dan kehitaman meluas pada bagian abdomen [BTS1], (C) larva tampak lebih membengkak dan lebih pucat [BTS2], (D) larva tampak hitam pekat hampir seluruh tubuh [BAC] (Dokumentasi penelitian, 2025)

Berdasarkan Gambar 4.12 menunjukkan hasil pengamatan morfologi larva *C. quinquefasciatus* instar III setelah 24 jam paparan terhadap masing-masing perlakuan ditampilkan pada Gambar 4.12. Larva kontrol negatif (Gambar 4.12A) masih mempertahankan kondisi tubuh yang jernih, aktif, dan tidak mengalami perubahan

warna yang mencolok. Larva pada perlakuan BTS1 (Gambar 4.12B) tampak lebih pucat dibandingkan sebelumnya, dengan area kehitaman yang menyebar lebih luas di sepanjang bagian abdomen serta tidak menunjukkan gerakan aktif. Sementara itu, larva yang terpapar BTS2 (Gambar 4.12C) mengalami pembengkakan yang lebih nyata dibandingkan waktu 20 jam, disertai warna tubuh yang semakin keruh keabu-abuan. Perlakuan BAC (Gambar 4.12D) menunjukkan efek paling signifikan, ditandai dengan tubuh larva yang menghitam secara intens hampir di seluruh bagian, tampak kaku, dan menunjukkan degradasi jaringan, mengindikasikan tingkat toksisitas yang tinggi dari formulasi tersebut.

8. Perbandingan Nilai LC_{50} dan LC_{90} antar Isolat *Bacillus thuringiensis*

Setelah melihat peningkatan toksisitas yang di tunjukkan melalui grafik mortalitas larva pada berbagai konsentrasi dan waktu pengamatan serta visual toksisitas terhadap larva. Selanjutnya dilakukan analisis regresi probit untuk menentukan nilai LC_{50} dan $LC_{90,}$ yaitu konsentrasi Larvasida yang mampu membunuh 50% dan 90% populasi larva *C. quinquefasciatus* instar III. Nilai ini digunakan sebagai indikator toksisitas dan efektivitas formulasi biolarvasida yang diuji, baik isolat lokal dari

Semarang (BTS1 dan BTS2) maupun kontrol postif berupa Bactivec (BAC). Berdasarkan hasil analisis (Tabel 4.11. dan Tabel 4.12) diperoleh nilai LC_{50} dan LC_{90} sebagai berikut:

Tabel 4. 11 Nilai LC_{50} dan LC_{90} pada waktu 20 Jam

Isolat	LC_{50} (ml)	LC_{90} (ml)
BTS1	0,816	1,161
BTS2	1,210	2,692
BAC	0,000624	0,00171

Tabel 4. 12 Nilai LC_{50} dan LC_{90} pada waktu 24 Jam

Isolat	LC_{50} (ml)	LC_{90} (ml)
BTS1	0,788	1,148
BTS2	1,007	1,907
BAC	0,000612	0,00142

Pada Tabel 4.11 dan Tabel 4.12, hasil analisis regresi probit menunjukkan bahwa toksisitas ketiga isolat terhadap larva *C. quinquefasciatus* instar III berbeda, tergantung pada jenis isolat dan lama waktu paparan. Nilai LC_{50} dan LC_{90} yang diperoleh menggambarkan konsentrasi isolat yang dibutuhkan untuk menyebabkan kematian pada 50% dan 90% populasi larva. Setelah pengamatan 20 jam, isolat lokal BTS1 memiliki nilai LC_{50} sebesar 0,816 ml, sedangkan LC_{90} tercatat sebesar 1,161 ml. Sementara itu, BTS2 memerlukan konsentrasi yang lebih tinggi untuk mencapai efek letal yang sama, yaitu 1,210 ml (LC_{50}) dan 2,692 ml (LC_{90}). Sebaliknya, kontrol positif BAC

menunjukkan potensi toksik yang jauh lebih kuat, dengan nilai LC_{50} yang sangat kecil, yaitu hanya 0,000624 ml, serta LC_{90} sebesar 0,00171 ml. Perbedaan ini menegaskan bahwa kemampuan toksik BAC jauh melampaui isolat lokal.

Pada pengamatan lanjutan setelah 24 jam, semua isolat menunjukkan peningkatan efektivitas toksik yang tercermin dari penurunan nilai LC. Untuk BTS1, LC_{50} turun menjadi 0,788 ml, dan LC_{90} menjadi 1,148 mL. BTS2 juga menunjukkan penurunan, meskipun tetap lebih tinggi dari BTS1, dengan LC_{50} sebesar 1,007 ml dan LC_{90} sebesar 1,907 ml. Adapun BAC, nilai LC-nya juga sedikit menurun menjadi 0,000612 ml (LC_{50}) dan 0,00142 ml (LC_{90}), tetap mempertahankan posisi sebagai yang paling toksik. Jika dibandingkan berdasarkan urutan toksisitas, maka baik pada 20 maupun 24 jam, urutannya konsisten: **BAC > BTS1 > BTS2**. Hal ini menunjukkan bahwa meskipun isolat lokal belum setara dengan kontrol positif, isolat BTS1 memiliki potensi yang lebih tinggi dibandingkan BTS2.

B. Pembahasan Hasil Penelitian

1. Parameter Lingkungan Pengambilan Sampel Tanah Kota Semarang dan Kabupaten Semarang

Parameter lingkungan dari kedua wilayah pengambilan sampel menunjukkan hasil yang bervariasi. Berdasarkan pada Tabel 4.1. hasil analisis statistik Mann-Whitney U, diketahui bahwa suhu tanah dan ketinggian wilayah memiliki perbedaan yang signifikan secara statistik (Asymp. Sig. <0,05) antara wilayah kota dan kabupaten. Wilayah kota seperti Simpang Lima, Tembalang, dan BSB memiliki ketinggian yang lebih rendah (62-245 mdpl) dibandingkan wilayah kabupaten seperti Ambarawa, Bawen, dan Bandungan yang memiliki ketinggian lebih dari 500 mdpl. Menurut Rifai *et al*., (2020), pertumbuhan bakteri dapat dipengaruhi oleh faktor lingkungan. Bakteri mampu bertahan hidup dalam lingkungan yang mendukung pertumbuhannya. Salah satu faktor lingkungan yang berperan adalah pH dan suhu lingkungan. Kondisi geografis ini turut mempengaruhi suhu tanah, dimana wilayah kota cenderung memiliki suhu tanah yang lebih tinggi (26-31^{0}C) sedangkan wilayah kabupaten menunjukkan suhu tanah yang lebih rendah (19-26^{0}C). Suhu yang lebih rendah dan kelembaban yang lebih tinggi di daerah-daerah ini dapat mempengaruhi stabilitas toksin yang dihasilkan oleh *B. thuringiensis*.

Penelitian sebelumnya menemukan bahwa suhu lingkungan dan tekanan oksigen di wilayah yang lebih tinggi dapat menurunkan aktivitas enzimatik bakteri (Widiarti, *et al*., 2020).

Menurut penelitian oleh Tripsila *et al*., (2013), ketinggian wilayah tidak memiliki hubungan langsung dengan tingkat mortalitas larva akibat toksin *B. thuringiensis*. Namun demikian, ketinggian wilayah tetap menjadi faktor penting dalam hal keberadaan dan kelimpahan isolat *Bt*. Sudigdoadi *et al*., (2017) menyatakan bahwa wilayah dataran tinggi cenderung memiliki kelimpahan *B. thuringiensis* yang lebih besar dibandingkan dengan dataran rendah. Hal ini mungkin berkaitan dengan kondisi lingkungan dataran tinggi yang lebih stabil dan mendukung pertumbuhan sporulasi bakteri tanah seperti *Bt*, termasuk faktor kelembaban tanah, suhu yang sejuk, dan rendahnya tekanan persaingan mikrob lain. Meskipun efek toksisitas pada larva tidak secara langsung ditentukan oleh ketinggian, distribusi dan potensi isolat *Bt* lokal tetap dapat dipengaruhi oleh kondisi geografis tersebut.

Perbedaan suhu tanah ini penting karena suhu merupakan salah satu faktor yang memengaruhi pertumbuhan dan sporulasi *B. thuringiensis*. Wilayah kota memiliki suhu tanah yang lebih tinggi dibandingkan

kabupaten. Meskipun suhu tanah bukan merupakan media pertumbuhan langsung, lingkungan tanah yang lebih hangat dapat mengindikasikan adaptasi mikrob, termasuk *B. thuringiensis*, terhadap suhu yang tinggi. Murray *et al*., (2003) dalam Karunia *et al*., (2021), menyatakan bahwa suhu optimum suatu bakteri tergantung pada lingkungan suhu atau temperatur asal bakteri. *B. thuringiensis* termasuk bakteri mesofil, suhu pertumbuhan optimal untuk *B. thuringiensis* berkisar antara 30-45^{0}C (Martin, 2010). Penelitian Adriani (2017), menyatakan bahwa faktor suhu memberikan pengaruh positif terhadap laju pertumbuhan, semakin tinggi suhu pada interval suhu 25^{0}C–40^{0}C menyebabkan semakin cepat laju pertumbuhan *Bt*.

Selanjutnya, suhu udara dan pH tanah menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan secara statistik (Asymp. Sig. > 0,05) antara wilayah kota dan kabupaten. Suhu udara pada saat pengambilan sampel berada pada kisaran 18–32°C. Pengambilan sampel dilakukan pada bulan Januari 2025 yang secara klimatologis tergolong musim hujan, suhu udara di lokasi *sampling* tergolong cukup tinggi. Kondisi ini diduga dipengaruhi oleh anomali iklim berupa fenomena El-Nino ringan yang masih berlangsung hingga awal tahun 2025. Menurut BMKG

(2025), El-Nino menyebabkan peningkatan suhu permukaan dan penurunan kelembapan udara di beberapa wilayah. Suhu udara yang tinggi tersebut masih dalam kisaran yang tidak menghambat aktivitas fisiologis *Bt*, karena *Bt* memiliki rentang toleransi suhu yang cukup luas. Susanti & Blondine (2013) menjelaskan bahwa *Bt* mampu tumbuh dalam kisaran suhu 15-40^{0}C.

Selain itu, nilai pH tanah di kedua wilayah juga berada pada kisaran pH 6,5 - 7 netral hingga sedikit asam, rentang pH ini dapat mendukung pertumbuhan *B. thuringiensis* (Jang *et al*., 2013; Arsinta *et al.,* 2020). *B. thuringiensis* dapat tumbuh pada kisaran pH 5,5-8,5 (pH optimum 6,5-7,5) (Jusuf, 2006). Andini & Nurhasanah (2020), menyatakan bahwa pH tanah lebih banyak dipengaruhi oleh aktivitas antropogenik seperti penggunaan pupuk dan limbah domestik dibandingkan oleh letak geografis atau ketinggian wilayah. Hasil ini memperkuat asumsi bahwa kondisi pH tanah di wilayah kota dan kabupaten tidak memberikan perbedaan yang mencolok terhadap kemampuan adaptasi isolat bakteri.

2. Isolasi dan Purifikasi Bakteri

Isolasi merupakan tahap awal yang penting dalam memperoleh bakteri target dari lingkungan yang diduga mengandung *B. thuringiensis* (Rahman, 2014). Pada

penelitian ini, isolasi dilakukan dari enam wilayah pengambilan sampel tanah, meliputi tiga lokasi di kota dan kabupaten Semarang. Dari masing-masing lokasi diambil tiga titik *sampling*, kemudian dihomogenkan menjadi satu sampel komposit per wilayah, sehingga diperoleh enam sampel tanah.

Tanah yang diisolasi pada penelitian ini merupakan sampel tanah bawah pohon trembesi, rambutan, beringin, serasah daun dan perkebunan. Pemilihan pengambilan sampel tanah didasarkan pada penelitian yang dilakukan Rahardianingtyas & Wianto (2014) dan Adriani (2017) menyatakan bahwa karakter habitat isolat *Bt* memiliki ciri-ciri terdapat banyak serasah dan ternaungi oleh pepohonan dengan struktur tanah yang gembur karena dapat menjadi tempat pertumbuhan bakteri.

Proses isolasi dilakukan berdasarkan metode Ohba dan Aizawa (1986) dengan pengenceran bertingkat (10^{-1} hingga 10^{-6}) dibuat secara duplo menggunakan akuades steril. Sebanyak 300 µl dari setiap pengenceran diinokulasikan ke dalam cawan petri yang berisi media selektif *Bt,* kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 2-4 hari (Sudigdoadi *et al*., 2017). Menurut Bahri *et al*., (2021) media selektif merupakan media yang mampu menumbuhkan bakteri tertentu dan menghambat

pertumbuhan bakteri non-target, sehingga bakteri yang dapat hidup pada media selektif yang digunakan diduga kuat merupakan *B. thuringiensis*. Media selektif formulasi Tripsilla *et al*., (2013) dengan modifikasi Sudigdoadi *et al*., (2017) juga digunakan dalam penelitian Rohmanita *et al*., (2013) dan Addiniyah (2019) untuk mengisolasi *Bt* isolat lokal di Jawa Timur.

Berdasarkan Gambar 4.1, pertumbuhan koloni bakteri hasil isolasi tampak pada sebagian besar cawan petri, dengan pengenceran 10^{-4} menunjukkan sebaran koloni yang paling optimal, karena koloni terlihat terpisah satu sama lain. Koloni terpisah ini menjadi penting untuk memudahkan proses pemurnian. Oleh karena itu, koloni yang tumbuh pada pengenceran ini dipilih untuk tahap purifikasi. Purifikasi bakteri merupakan serangkaian langkah untuk memisahkan bakteri tersebut dari kontaminan mikroorganisme lain guna memperoleh kultur yang bersifat murni. Tahapan dalam proses ini meliputi isolasi awal, dilanjutkan dengan metode pemurnian tertentu, serta diakhiri dengan karakterisasi guna memastikan kemurnian dan mengenali spesies bakteri yang diperoleh (Karunia *et al*., 2021).

Proses purifikasi dilakukan dengan metode gores (*streak plate*) untuk memperoleh koloni bakteri. Koloni

yang terpisah dari hasil isolasi diambil menggunakan ose dan digoreskan pada media NA dalam pola zig-zag. Inkubasi dilakukan pada suhu 37^{o}C selama 24–48 jam hingga terbentuk koloni tunggal yang seragam secara morfologi. Koloni hasil purifikasi kemudian digunakan sebagai isolat murni untuk tahap selanjutnya.

3. Karakterisasi Morfologi Koloni dan Sel Bakteri

Pengamatan morfologi digunakan sebagai langkah awal dalam proses identifikasi bakteri sebelum dilakukan analisis lanjutan seperti uji biokimia. Meskipun bentuk koloni dan sel bakteri tidak memiliki variasi struktural yang cukup untuk menetapkan spesies secara pasti, setiap jenis bakteri tetap menunjukkan ciri morfologi yang khas sehingga dapat dijadikan sebagai informasi pendukung untuk tahap identifikasi berikutnya (Ogodo *et al*., 2022).

Pengamatan morfologi koloni secara makroskopis yaitu dengan melihat bentuk, elevasi, tepian, dan warna koloni. Karakterisasi morfologi koloni bakteri dilakukan dengan penilaian morfologi koloni *B. thuringiensis* yang memiliki bentuk bulat (*circular*), permukaan datar (*flat*), tepi halus (*entire*) dan berwarna krem atau keruh (Nasution, 2018; Rocha *et al*., 2023). Hasil pengamatan morfologi koloni pada Tabel 4.2. menunjukkan 4 isolat yang memiliki morfologi koloni *B. thuringiensis* yang sesuai

yaitu isolat kota SL(2) dan BSB(1), isolat kabupaten BWN(1), dan BDG(2). Sedangkan isolat yang tidak memenuhi karakter morfologi koloni *B. thuringiensis* adalah SL(1), BUT(1), BUT(2), BSB(2), BWN(2), AMB(1), AMB(2) dan BDG(1).

Dalam penelitian ini, pada Gambar 4.2 menunjukkan bahwa hasil pengamatan morfologi sel bakteri berbentuk batang (*bacil*) dengan berbagai ukuran pada Gambar 4.2. Isolat SL(1) dan SL(2) memiliki panjang 2 μm dan lebar 1 μm, isolat BUT(1) dan BDG(1) memiliki panjang 2-3 μm dan lebar 1 μm, isolat BUT(2) memiliki panjang 3 μm dan lebar 1 μm, isolat BSB(1), BWN(1), BWN (2) dan BDG(2) memiliki panjang 3-4 μm dan lebar 1 μm, isolat BSB(2) memiliki panjang 3 μm dan lebar 1 μm. Sedangkan isolat AMB(1) dan AMB(2) memiliki panjang 2-3 μm dan lebar 1 μm. Ukuran sel isolat BSB(1), BWN(1), dan BDG(2) mendekati ukuran referensi *B. thuringiensis* menurut Blondine & Susanti (2013) serta Putriawati *et al*., (2018), yaitu panjang 3-5 μm dan lebar 1-1,2 μm. Meskipun isolat SL(2) memiliki ukuran yang lebih kecil dan bentuk batang yang belum sepenuhnya berkembang telah memenuhi karakter morfologi koloni *B. thuringiensis*. Oleh karena itu, isolat ini tetap diuji lebih lanjut.

Setelah dilakukan karakterisasi morfologi koloni dan sel, pengujian dilanjutkan dengan pengamatan

mikroskopis guna mengkrakterisasi Genus *Bacillus* menggunakan pewarnaan Gram dan uji katalase, karakterisasi uji biokimia, serta pengamatan endospora dan kristal protein untuk memastikan bahwa isolat yang diperoleh dari wilayah kota dan kabupaten Semarang diduga kuat sebagai *B. thuringiensis*.

4. Karakterisasi Genus *Bacillus*

Pewarnaan Gram yang digunakan dengan mengacu pada metode yang dilakukan Putri *et al*., (2017) dengan proses *Gram staining*, pewarnaan Gram salah satu metode yang sederhana, pewarnaan gram mempermudah untuk melihat bakteri secara mikroskopik. Membantu memperjelas ukuran dan bentuk sel bakteri, dan membantu melihat bentuk struktur sel bakteri. Bakteri Gram positif akan berwarna ungu, sedangkan bakteri Gram negatif tidak mempertahankan zat warna kristal violet sewaktu proses pewarnaan Gram sehingga akan berwarna merah muda (Madigan *et al*., 2016).

Genus *Bacillus* dibedakan dengan bakteri Gram positif (Li *et al*., 2020). Hasil pewarnaan Gram pada penelitian ini menunjukkan kesamaan dengan perubahan warna sel ungu yang menandakan bakteri bersifat Gram positif yang merupakan ciri dari *B. thuringiensis.* Berdasarkan Tabel 4.3. Isolat yang memiliki ciri-ciri tersebut adalah isolat SL

(1), SL(2), BSB(1), BSB (2), BWN(1), BWN (2), BDG (1) dan BDG(2). Sedangkan yang tidak memenuhi ciri tersebut adalah isolat BUT(1), BUT (2), AMB(1), dan AMB(2) menunjukkan Gram negatif berwarna merah.

Pewarnaan Gram adalah salah satu tahap identifikasi yang sangat penting untuk membedakan bakteri Gram positif dan Gram negatif. Perbedaan dari Gram positif dan Gram negatif tersebut terletak pada susunan dinding selnya. Bakteri Gram positif setelah pewarnaan akan menghasilkan warna ungu ketika diamati dibawah mikroskop. Hal tersebut dikarenakan dinding sel bakteri Gram positif tersusun atas peptidoglikan yang lebih tebal dibandingkan bakteri Gram negatif. Peptidoglikan yang lebih tebal mampu mempertahankan zat warna kristal violet meskipun telah diberi larutan pemucat (Nuryady *et al*., 2013). Selain itu, bakteri Gram negatif memiliki membran luar dinding sel yang mengandung karbohidrat yang berikatan dengan lipid (lipopolisakarida) yang tebal. Apabila dilakukan pewarnaan Gram maka bakteri Gram positif akan berwarna ungu dan bakteri Gram negatif berwarna merah muda (Campbell, 2003).

Genus *Bacillus* memiliki kemampuan menghasilkan hasil positif pada katalase (Li *et al*., 2020). Berdasarkan Tabel 4.3. Isolat SL(2), BSB(1), BWN(1), dan BDG(2)

menunjukkan hasil positif pada uji katalase, ditandai dengan terbentuknya buih. H_2O_2 bersifat toksik terhadap sel bakteri, dengan adanya enzim katalase maka H_2O_2 akan dipecah menjadi air dan oksigen sebagai komponen yang tidak berbahaya terhadap sel bakteri (Maruli & Patel, 2017). Sedangkan isolat SL (1), BSB (2), BUT(1), BUT(2), AMB(1), AMB(2), BWN(2) dan BDG(1) menunjukkan hasil negatif dengan tidak terbentuknya buih.

Berdasarkan hasil uji Gram dan uji katalase pada isolat yang ditampilkan dalam Tabel 4.3, diketahui bahwa isolat SL(2), BSB(1), BWN(1), dan BDG(2) memiliki karakteristik khas dari Genus *Bacillus*, yaitu bersifat Gram positif (terlihat berwarna ungu pada pengecatan Gram) serta menunjukkan reaksi positif pada uji katalase yang ditandai dengan munculnya gelembung atau buih. Karakteristik ini mengindikasikan bahwa isolat-isolat tersebut memiliki dinding sel tebal yang kaya peptidoglikan dan mampu menghasilkan enzim katalase untuk menguraikan hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen.

Temuan ini sejalan dengan beberapa hasil penelitian sebelumnya. Penelitian oleh Melanie *et al*., (2018), Abo-Bakr *et al*., (2020), dan Hassan *et al*., (2021) menunjukkan bahwa isolat *Bacillus* yang diperoleh dari tanah wilayah Swiss, Mesir, dan Saudi Arabia menunjukkan reaksi Gram

positif dan katalase positif. Hal serupa juga dilaporkan oleh Jani *et al*., (2023) bahwa isolat dari tanah di Kalimantan memiliki karakteristik Gram positif dan katalase positif, yang semakin memperkuat bahwa isolat yang diuji dalam penelitian ini tergolong ke dalam Genus *Bacillus*.

5. Karakterisasi *Bacillus thuringiensis*

Dalam penelitian ini, serangkaian uji biokimia dilakukan untuk mengonfirmasi apakah isolat bakteri yang diperoleh termasuk *Bt*, dengan mengacu pada *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 2nd Edition Volume* 3 (2009). Karakter umum yang menjadi acuan antara lain bakteri bersifat Gram positif, berbentuk basil, menghasilkan reaksi katalase positif, serta memiliki endospora. Menurut Yulvizar (2013), anggota genus *Bacillus* umumnya memiliki ciri khas berupa reaksi indol dan sitrat negatif, katalase positif, serta mampu memfermentasi gula. Hasil ini juga diperkuat oleh temuan Mafazah & Zulaika (2017) dan Karunia *et al*., (2021), yang konsisten dengan deskripsi pada *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt *et al*., 1994). Dari empat isolat yang diuji melalui uji fermentasi gula, sitrat, motilitas, dan indol, diperoleh hasil yang bervariasi.

Pada uji fermentasi gula, isolat SL(2) dan BDG(2) menunjukkan *slant* merah dan *butt* kuning, yang

mengindikasikan fermentasi glukosa saja. Sebaliknya, isolat BSB(1) dan BWN(1) menunjukkan *slant* dan *butt* berwarna kuning, yang menandakan fermentasi terhadap glukosa dan disakarida. Tidak ditemukan perubahan warna hitam maupun pembentukan gas, sehingga isolat diyakini tidak memproduksi H_2S atau gas fermentatif. Uji fermentasi gula sendiri bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam memfermentasi gula menjadi asam, yang ditunjukkan dengan perubahan warna medium menjadi kuning. Hal ini sejalan dengan penelitian Jung *et al*., (1994) dan Addiniyah (2019) yang melaporkan bahwa *B. thuringiensis israelensis* mampu memfermentasi gula dan menghasilkan warna kuning pada medium uji. Kesimpulan ini konsisten dengan prinsip TSIA dan karakteristik umum *B. thuringiensis* yang biasanya hanya memfermentasi glukosa dan tidak menghasilkan H_2S (Rahman, 2014; Putra, 2015).

Uji sitrat isolat BDG(2) menunjukkan hasil positif dengan perubahan warna media hijau menjadi biru. Sedangkan isolat SL(2), BSB(1), dan BWN(1) menunjukkan hasil negatif dengan tidak ada perubahan warna media (hijau). Menurut Jung *et al*., (1994) *Bti* menunjukkan hasil negatif pada uji sitrat. Hal ini didukung oleh penelitian Yulvizar (2013), Addiniyah (2019), dan Karunia *et al.*,

(2021) bahwa bakteri tidak memiliki kemampuan menggunakan sitrat sebagai sumber karbon.

Seluruh isolat menunjukkan hasil positif pada uji motilitas (pergerakan bakteri), ditandai dengan keruhnya daerah disekitar tusukan. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian Dagga *et al*., (2016), dan Bello *et al*., (2022) bahwa *Bacillus thuringiensis* memiliki alat gerak berupa *flagella*. Kemudian, pada uji indol seluruh isolat menunjukkan hasil negatif karena tidak terbentuknya cincin merah pada media saat ditetesi dengan reagen kovaks. Hal ini berarti bahwa isolat tidak memiliki kemampuan untuk memecah amino tryphosphat menjadi senyawa yang mengandung nitrogen. Hal ini sesuai dengan penelitian Adriani (2017) bahwa *B. thuringiensis* menunjukkan hasil negatif pada uji indol.

Berdasarkan Tabel 4.4, isolat bakteri yang menunjukkan kesamaan karakteristik *B. thuringiensis* setelah uji biokimia adalah isolat BSB(1) dan isolat BWN(1). Isolat BSB(1) yang berasal dari wilayah kota Semarang selanjutnya disebut BTS1, sedangkan isolat BWN(1) yang berasal dari wilayah kabupaten Semarang disebut sebagai BTS2.

6. Pengamatan Endospora dan Kristal Protein

Selain pengamatan morfologi koloni dan sel, karakterisasi Genus *Bacillus*, dan karakterisasi *B. thuringiensis* dengan uji biokimia, karakter khas yang menjadi ciri-ciri dari bakteri *B. thuringiensis* adalah sel vegetatif bentuk *bacil*, memiliki endospora terletak pada posisi subterminal, serta kristal protein pada fase sporulasinya yang memiliki sifat insektisidal (Padole *et al*., 2017). Spora dan kristal protein ini akan terlihat jika menggunakan reagen pewarnaan *Coomassie Brilliant Blue* dengan pengamatan di bawah mikroskop perbesaran 1000x (Siallagan *et al*., 2020).

Endospora berfungsi sebagai pertahanan diri bagi bakteri apabila lingkungan sekitarnya tidak mendukung untuk tumbuh, endospora juga tahan terhadap bahan kimia dan *impermeable* sehingga pewarna yang digunakan harus disesuaikan (Muthmainnah, 2018). Untuk mengetahui keberadaan endospora dapat digunakan pewarna *malachite green* dan safranin (Blondine & Susanti, 2010). Hasil pewarnaan endospora pada penelitian ini menunjukkan bahwa spora berwana hijau sedangkan sel vegetatif berbentuk *bacil* berwarna merah muda, terlihat pada Gambar 4.3.

Pewarnaan endospora dalam penelitian ini dilakukan pada kultur isolat yang telah diinkubasi selama ±72 jam. Hal ini sejalan dengan referensi yang menyatakan bahwa endospora umumnya mulai terbentuk ketika bakteri memasuki fase sporulasi, yaitu setelah mengalami pertumbuhan selama kurang lebih tiga hari pada suhu 37^{o}C (Shiddiqi *et al*., 2013; Ayomi *et al*., 2014; Pagare *et al*., 2018). Berdasarkan hasil pengamatan mikroskopis, pada Gambar 4.3, endospora terletak di posisi subterminal. Meskipun struktur endospora dan sel vegetatif masih dapat dikenali, hasil pewarnaan yang diperoleh kurang menunjukkan kontras warna yang kuat sebagaimana ditampilkan dalam literatur Addiniyah (2019) pada Gambar 4.4. Kualitas visual yang kurang tajam ini kemungkinan besar dipengaruhi oleh penurunan efektivitas pewarna yang digunakan, baik karena kualitas awalnya yang kurang baik maupun karena kondisi penyimpanan yang tidak optimal atau telah melewati masa kedaluwarsa.

Terbentuknya endospora diiringi dengan terbentuknya kristal protein (Anggraeni *et al*., 2013). Kristal inilah yang bersifat toksik terhadap larva. Berdasarkan Gambar 4.5, isolat BTS1 dan BTS2 setelah pewarnaan menggunakan CBB (*Coomassie Brilliant Blue*)

menunjukkan bahwa kristal protein tampak lebih gelap dan padat dibanding endospora, terlihat diujung sel bakteri (Gambar 4.5). Hal tersebut sesuai dengan penelitian Siallagan *et al*., (2020) pada Gambar 4.6. Kristal protein memiliki bentuk bulat padat dan gelap setelah diwarnai menggunakan CBB. Kristal protein berbentuk bulat menandakan kristal protein tersebut termasuk tipe *cry*4 *B. thuringiensis israelensis* (*Bti*) yang toksik terhadap Ordo Diptera. Isolat BTS1 dan BTS2 memiliki potensi sebagai biolarvasida. Hal ini didukung oleh penelitian Nasution (2018), Addiniyah (2019), dan Rocha *et al*., (2023).

7. Uji Toksisitas *Bacillus thuringiensis* Isolat Semarang (BTS1 & BTS2) dengan Bactivec terhadap Larva *Culex quinquefasciatus* Instar III

Pada penelitian ini, uji toksisitas dilakukan dengan uji pendahuluan dan uji efikasi. Uji pendahuluan dilakukan sebagai penentu rentang konsentrasi *Bt* yang dapat mematikan larva dalam kisaran 0% < kematian < 100%, sedangkan uji efikasi digunakan untuk tingkat kematian larva (Anggraeni *et al*., 2015). Rentang konsentrasi *Bt* isolat dari kota dan kabupaten Semarang yang digunakan dalam uji toksisitas dilakukan dengan uji efikasi adalah 0 ml, 0,1 ml, 0,3 ml, 0,5 ml, 0,7 ml, 1 ml dan 3 ml per 100 ml akuades. Sementara itu, pada perlakuan dengan Bactivec

digunakan konsentrasi yang jauh lebih rendah, yaitu 0 ml, 0,0001 ml, 0,0005 ml, 0,0007 ml, 0,001 ml, 0,003 ml, dan 0,01 ml. *B. thuringiensis* yang digunakan berasal dari Isolat kota Semarang (Kode: BTS1), Isolat kabupaten Semarang (Kode: BTS2) dan produk komersial Bactivec (Kode: BAC).

Perlu diperhatikan bahwa rentang konsentrasi yang digunakan berbeda antara isolat BTS1 dan BTS2 dengan isolat BAC, perbedaan konsentrasi disesuaikan dengan potensi awal pada uji pendahuluan. Penggunaan konsentrasi rendah pada kontrol positif BAC bertujuan untuk menghindari efek toksik berlebihan yang dapat mengganggu analisis probit. Sementara itu, isolat lokal BTS1 dan BTS2 menggunakan rentang konsentrasi lebih tinggi, sehingga diperlukan gradien yang memadai untuk memperoleh nilai secara LC_{50} dan LC_{90} akurat.

Berdasarkan grafik Gambar 4.7 dan 4.8 selama 20 jam serta grafik Gambar 4.9 dan 4.10 pengamatan 24 jam, tingkat mortalitas larva meningkat seiring meningkatnya konsentrasi perlakuan. Pada isolat BTS1 dan BTS2, kematian larva mulai terlihat signifikan pada konsentrasi menengah hingga tinggi, sedangkan isolat BAC kematian larva mulai terlihat pada konsentrasi rendah hingga tinggi. Mortalitas tertinggi tercapai pada konsentrasi tertinggi setiap perlakuan, dan perlakuan isolat BAC sebagai kontrol

positif secara konsisten menghasilkan tingkat kematian yang lebih tinggi dibandingkan isolat lokal.

Hasil ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Hitipeuw *et al*., (2023), yang menunjukkan bahwa aplikasi konsentrasi *B. thuringiensis* yang tinggi dapat menyebabkan kematian larva *Culex* dalam jumlah besar. Sehingga, tingginya konsentrasi yang termakan oleh larva menyebabkan kematian. Sejalan dengan Widayati *et al*., (2020) semakin banyak toksin yang dimakan oleh larva maka akan lebih cepat penghambatan pertumbuhan dan perkembangan larva sehingga persentase mortalitas dapat lebih tinggi.

Kematian larva dalam penelitian ini dipengaruhi oleh berbagai aspek, baik yang berasal dari kondisi fisiologis larva maupun lingkungan tempat uji dilakukan. Dari sisi kondisi larva, uji dilakukan pada larva *C. quinquefasciatus* instar III, di mana pada tahap perkembangan ini, sistem pencernaannya telah berkembang secara sempurna. Hal ini memungkinkan kristal protein dan spora dari *Bacillus thuringiensis* bekerja secara maksimal sebagai racun yang menyerang saluran cerna. Oleh sebab itu, penggunaan *B. thuringiensis* kurang direkomendasikan untuk larva instar I atau II (Manimegalai, 2014). Selain itu, efektivitas larvasida ini juga ditunjang oleh kondisi pengujian yang

dilakukan di dalam laboratorium, sehingga *B. thuringiensis* tidak terpapar langsung oleh sinar ultraviolet yang berpotensi merusak efektivitas bakteri (Lepe, 2012; Haiqal, 2020).

Secara mekanistik, kematian larva *C. quinquefasciatus* disebabkan oleh toksin kristal yang diproduksi oleh *B. thuringiensis*. Menurut Suwarno *et al*., (2015) kristal protein akan teraktifkan oleh enzim pencerna setelah itu protein yang sudah aktif menempel pada protein reseptor permukaan epitel usus sehingga sel mengalami lisis dan mengakibatkan gangguan pencernaan terhadap larva. Ketika larva mengonsumsi bakteri ini, toksin teraktivasi dalam kondisi basa saluran pencernaan larva, kemudian berikatan dengan reseptor pada membran epitel usus. Hal ini menyebabkan terbentuknya pori-pori yang merusak struktur sel, menganggu keseimbangan osmotik, dan akhirnya menyebabkan kelumpuhan, gangguan makan, dan kematian pada larva (Mahdalena, 2019; Vajri, 2021).

Pengamatan terhadap larva *C. quinquefasciatus* pada Gambar 4.11 dan 4.12 menunjukkan adanya variasi kerusakan morfologi akibat perlakuan yang berbeda. Larva yang terpapar BTS1 mengalami kehitaman pada abdomen dan *thoraks*, dan tubuh menjadi kaku. Sebaliknya, larva pada perlakuan BTS2 menunjukkan kerusakan yang lebih

lambat, dengan tubuh pucat disertai pembengkakan. Perlakuan Bactivec (BAC) menghasilkan dampak paling nyata, yakni tubuh larva menjadi sangat hitam pada keseluruhan tubuh, dan kehilangan respon lebih cepat. Perbedaan ini mencerminkan variasi potensi toksisitas, di mana BTS1 lebih merusak dibanding BTS2, meskipun keduanya masih belum seefektif Bactivec.

Hasil pengamatan pada penelitian ini didukung oleh hasil penelitian Arsi *et al*., (2019) bahwa larva yang terinfeksi bakteri *B. thuringiensis* tubuhnya berwarna hitam serta beberapa waktu kemudian akan mengalami kerusakan pada tubuhnya. Sejalan dengan temuan Pada larva *C. quinquefasciatus*, perubahan serupa juga dilaporkan oleh Bello *et al*., (2022), yang mengamati bahwa paparan *B. thuringiensis* menyebabkan kerusakan jaringan internal, terutama pada bagian usus, disertai dengan perubahan warna tubuh dan penurunan aktivitas gerak. Hal ini juga diperkuat oleh penelitian Hitipeuw *et al*., (2023), yang menemukan bahwa infeksi *B. thuringiensis* terhadap larva *Culex* menyebabkan terganggunya saluran pencernaan dan menyebabkan larva mengalami kematian secara bertahap, ditandai dengan perubahan morfologi seperti tubuh melengkung, warna menjadi gelap, dan usus yang rusak.

Perubahan morfologi ini umumnya mencakup kerusakan pada sistem pencernaan larva, munculnya lubang pada jaringan usus, serta terlihatnya warna gelap kehitaman di sekitar jaringan tersebut. Gejala ini muncul akibat aktivitas dari kristal protein yang dihasilkan oleh *B. thuringiensis*, yang bekerja secara spesifik terhadap saluran cerna serangga target. Selain itu, bagian usus tengah (*midgut*) yang tampak tidak lagi utuh diduga berkaitan dengan kondisi basa dalam saluran pencernaan larva. Lingkungan ini mendukung aktivasi kristal protein melalui proses enzimatik oleh protease, yang mengubah bentuk tidak aktif (protoksin) menjadi bentuk toksik yang aktif (Sari, 2019).

8. Perbandingan Nilai LC_{50} dan LC_{90} antar Isolat *Bacillus thuringiensis*

Nilai LC (*Lethal Concentration*) merupakan parameter penting dalam meilai potensi toksisitas suatu agen biolarvasida, yang di analisis menggunakan analisis regresi probit. Analisis ini penting dilakukan, karena nilai LC menggambarkan tingkat toksisitas aktual dari setiap isolat secara numerik, dan memungkinkan perbandingan yang lebih objektif antar perlakuan. Nilai *Lethal Concentration* 50% (LC_{50}) dan *Lethal Concentration* 90% (LC_{90}) yaitu konsentrasi minimum yang diperlukan untuk membunuh

masing-masing 50% dan 90% populasi larva uji selama rentang waktu tertentu (Effendi, *et al*., 2012; Tyas *et al*., 2014).

Berdasarkan hasil analisis probit pada Tabel 4.11 dan 4.12, diketahui bahwa kontrol positif isolat BAC menunjukkan nilai LC_{50} dan LC_{90} yang paling rendah dibandingkan isolat lokal BTS1 dan BTS2, baik pada waktu pengamatan 20 jam maupun 24 jam. Pada waktu 20 jam, nilai LC_{50} isolat BAC sebesar 0,000624 ml dan nilai LC_{90} sebesar 0,00171 ml. Sedangkan pada waktu 24 jam, nilai LC_{50} sebesar 0,000612 ml dan nilai LC_{90} sebesar 0,00142 ml yang merupakan nilai terendah dibandingkan seluruh isolat lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa Bactivec memiliki toksisitas paling tinggi, meskipun digunakan dengan dosis yang jauh lebih kecil dibanding isolat lokal. Nilai ini sejalan dengan status Bactivec sebagai kontrol positif karena merupakan produk formulasi komersial *dari B. thuringiensis israelensis* (*Bti*) yang telah distandarisasi dan dioptimalkan.

Sementara itu, isolat lokal menunjukkan potensi yang bervariasi. BTS1 memiliki nilai LC_{50} sebesar 0,816 ml dan LC_{90} sebesar 1,161 ml pada 20 jam, sedangkan BTS2 lebih tinggi, yaitu LC_{50} sebesar 1,210 ml dan LC_{90} sebesar 2,692 ml. Pada waktu 24 jam, terdapat pergeseran nilai yang

mencerminkan peningkatan efek toksik. LC_{50} BTS1 menurun menjadi 0,788 ml dan LC_{90} menjadi 1,148 ml, sedangkan BTS2 memiliki nilai LC_{50} sebesar 1,007 ml dan LC_{90} sebesar 1,907 ml. Penurunan nilai LC seiring waktu menunjukkan bahwa toksisitas *Bt* semakin nyata setelah periode paparan yang lebih lama. Hasil penelitian ini tidak jauh berbeda dengan penelitian yang dilakukan (Elqowiyya, 2015) mengenai efikasi larvasida *B. thuringiensis* terhadap kematian larva *C. quinquefasciatus* menunjukkan hasil LC_{50} atau konsentrasi yang efektif untuk membunuh 50% larva instar III.

Nilai LC yang rendah menunjukkan bahwa suatu isolat lebih toksik, karena hanya memerlukan konsentrasi kecil untuk mencapai angka kematian tertentu (Ramdhini, 2010), semakin rendah nilai LC maka semakin tinggi nilai toksisitasnya (Putra, 2017). Oleh karena itu, selain melihat grafik mortalitas, nilai LC_{50} dan LC_{90} memberikan dasar yang kuat dalam mengevaluasi dan membandingkan potensi toksisitas antara isolat lokal BTS1 dan BTS2 dengan kontrol positif BAC. Nilai LC_{50} dan LC_{90} dari isolat lokal BTS1 dan BTS2 serta kontrol positif BAC dalam waktu pengamatan selama 20-24 jam.

Meskipun begitu, Bactivec (BAC) tetap menunjukkan toksisitas tertinggi, dibandingkan dengan isolat lokal kota

Semarang (BTS1) dan kabupaten Semarang (BTS2). Di antara isolat lokal, BTS1 menunjukkan toksisitas lebih tinggi dibandingkan BTS2, terlihat dari nilai LC nya yang lebih rendah. Perbedaan potensi toksik ini diduga berkaitan dengan karakter fisiologis dan adaptasi isolat terhadap lingkungan asalnya. BTS1 berasal dari wilayah perkotaan dengan suhu lebih tinggi dan kemungkinan tekanan lingkungan yang lebih intensif, yang dapat mendorong isolat untuk tumbuh lebih agresif atau menghasilkan senyawa toksik secara lebih cepat. Meski begitu, faktor seperti ketinggian wilayah lebih relevan terhadap kelimpahan mikroba di alam, bukan secara langsung terhadap mortalitas larva (Tripsilla, *et al*., 2013; Sudigdoadi, *et al*., 2017).

Dengan demikian, berdasarkan nilai LC_{50} dan LC_{90}, urutan potensi toksisitas dari tertinggi ke terendah adalah: BAC > BTS1 > BTS2. Hasil ini menunjukkan bahwa meskipun BTS1 belum seefektif produk komersial, isolat ini berpotensi untuk dikembangkan lebih lanjut sebagai kandidat biolarvasida lokal.

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Isolat lokal *B. turingiensis* asal Semarang (BTS1 dan BTS2) memiliki tingkat toksisitas tertinggi pada perlakuan konsentrasi 1 ml dan 3 ml, dengan persentase kematian larva *C. quinquefasciatus* instar III mencapai >90%. Sedangkan Bactivec memiliki toksisitas tertinggi pada perlakuan konsentrasi 0,003 ml dan 0,01 ml dengan persentase kematian larva *C. quinquefasciatus* instar III mencapai 100%.
2. Hasil analisis regresi probit menunjukkan urutan potensi toksisitas berdasarkan nilai LC dari yang tertinggi hingga terendah adalah: BAC > BTS1 > BTS2, dengan nilai LC_{50} dan LC_{90} berturut-turut pada waktu 20 jam, isolat BAC nilai LC_{50} sebesar 0,000624 ml dan LC_{90} sebesar 0,00171 ml. Isolat BTS1, nilai LC_{50} sebesar 0,816 ml dan LC_{90} sebesar 1,161 ml. Sedangkan BTS2 nilai LC_{50} sebesar 1,210 ml dan LC_{90} sebesar 2,692 ml. Pada waktu 24 jam, isolat BAC nilai LC_{50} sebesar 0,000612 ml dan LC_{90} sebesar 0,00142 ml. Isolat BTS1, nilai LC_{50} sebesar 0,788 ml dan LC_{90} sebesar 1,148 ml. Sedangkan BTS2 nilai LC_{50} sebesar 1,007 ml dan LC_{90}

sebesar 1,907 ml. Nilai tersebut menegaskan bahwa semakin rendah nilai LC, semakin tinggi potensi toksisitas isolat terhadap larva. Dengan demikian, isolat lokal BTS1 memiliki potensi sebagai kandindat biolarvasida alternatif meskipun efektifitasnya di bawah Bactivec.

B. Saran

Beberapa saran guna mengembangkan penelitian ini meliputi:

1. Perlu dilakukan karakterisasi lebih lanjut mengenai *B. thuringiensis* isolat lokal Semarang, dengan penggunaan metode konfirmasi molekuler (PCR atau sekuensing 16S rRNA/*Cry genes group*), pengamatan dengan mikroskop SEM (*Scanning Electron Microscope*) untuk mengetahui bentuk kristal protein dan jenis kristal protein serta gen penyandi kristal pada bakteri ini. Sehingga dapat diketahui kemampuan toksisitasnya pada organisme target yang sesuai. Karena dalam penelitian ini, hanya dikarakterisasikan sampai tingkat spesies.
2. Perlu dilakukan pengembangan isolat lokal yang menunjukkan potensi untuk dikembangkan lebih lanjut melalui formulasi ulang dan standarisasi

toksin agar dapat bersaing dengan produk komersial seperti Bactivec.

DAFTAR PUSTAKA

Abo-Bakr, A., Fahmy, E. M., Badawy, F., Abd El-Latif, A. O., & Moussa, S. 2020. Isolation and characterization of the local entomopathogenic bacterium, *Bacillus thuringiensis* isolates from different Egyptian soils. *Egypt J Biol Pest Control* 30:54–63

Addiniyah, N. R. 2019. Tingkat Toksisitas *Bacillus Thuringiensis* Koleksi Balai Besar Penelitian Dan Pengembangan Vektor Dan Reservoir Penyakit (B2p2vrp) Salatiga Dan Isolat Surabaya Terhadap Berbagai Stadium Larva *Aedes Aegypti*. Surabaya: Universitas Islam Negeri Sunan Ampel Surabaya.

Adriani, D. F. 2017. Eksplorasi *Bacillus thuringiensis* Entomopatogenik terhadap *Aedes aegypti* dari Beberapa Lokasi Potensial Perindukan Nyamuk di Kota Madya Mataram, Nusa Tenggara Barat. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mataram, Nusa Tenggara Barat.

Agoes, R., & Natadisastra, D. 2009. Parasitologi Kedokteran ditinjau dari organ tubuh yang diserang. EGC. Jakarta. (1): 317-318.

American Public Health Association. 1999*. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. Joint Editorial Board: America.

Ammons, D. R., Reyna, A., Granados, J. C., Samlal, M. S., & Rampersad, J. N. 2009. An Investigation of *Bacillus thuringiensis* in Rectal Collected Fecal Samples of Cows. Curr. *Microbiol*. 59, 532–536.

Andini, A., & Nurhasanah, E. (2020). Pengaruh aktivitas antropogenik terhadap pH tanah di lahan pertanian tropis. *Jurnal Ilmu Tanah Tropika*, 5(1), 45–55.

Anggraeni, D. 2020. Biopestisida Ramah Lingkungan: Studi Kasus Pengendalian Nyamuk. Jakarta: Pustaka Alam.

Anggraeni, M.A, Blondine C. P, Wianto. R. 2013. Uji Daya Bunuh Ekstrak Kristal Endotoksin *Bacillus thuringiensis israelensis* (H-14) terhadap Jentik *Aedes aegypti*, *Anopheles aconitus* dan *Culex quinquefasciatus*. *Jurnal Sain Veteriner* ISSN: 0126 – 0421

Anggraeni, Y., Rahardianingtyas, E., & Wianto, R. 2015. Efikasi *Bacillus thuringiensis* H-14 Isolat Salatiga Sediaan Bubuk dan Cair Terhadap Jentik *Culex quinquefasciatus*. *Jurnal Balai Besar Litbang Vektor dan Reservoir Penyakit.* Vol. (7) hal. 51-56.

Ak'yunin, K. 2008. Toksisitas Beberapa Golongan Insektisida Terhadap Mortalitas *Selenothrips rubrocinctus*(Giard) Pada Tanaman Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.). Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim: Malang.

Al–Sheikh, A. M. A. I. 2003. *Lubaabut Tafsiir Min Ibnu Katsiir* (Tafsir Ibnu Katsir) Juz 4, Penj. Tim Abdul Ghoffar. Bogor: Pustaka Imam Asy-Syafii.

Al-Thani, A., Ashfaq, M. Y., Al-Thani, R., Hassan, Z. U., & Jaoua, S. 2022. Bioresource Technology Reports Application of Scanning Electron Microscopy and Maldi-Tof Ms in The Exploration of the Parasporal Insecticidal Crystals of *Bacillus thuringiensis* Strains Isolated from Qatar Soil. *Bioresource Technology Reports*, 19(May), 101134.

Arsi., Pujiastuti, Y., S. Herlinda., S.H.K. Suparman., & B. Gunawan. 2019. Efikasi bakteri entomopatogen *Bacillus thuringiensis* Barliner sebagai Agens Hayati *Spodoptera litura* Fabricus pada lahan pasang surut dan rawa lebak. *Prosiding Seminar Nasional Lahan Suboptimal,*

Palembang Fakultas 4-5 Pertanian Universitas Sriwijaya. Palembang.

Arsin A. 2016. Epidemiologi Filariasis Di Indonesia. Masagena Press. 110

Arsinta, D., Budiwati, T. A., & Sari, R. P. 2020. Pengaruh Suhu terhadap Pertumbuhan *Bacillus thuringiensis*. *Jurnal Biologi Tropis*, 20(1), 34–41.

Astuti, EP., Ipa, M., Wahono, T., Ruliansyah, A., Hakim, L., & Dhewantara, PW. 2017. Distribusi *Culex* sp. (Diptera: Culicidae) di Desa Filariasis limfatik Endemik Terpilih di Kabupaten Bandung Jawa Barat Indonesia. ASPIRATOR, 9 (2): 61-68

Ayomi, Lantang, & Runtuboi. 2014. *Bacillus thuringiensis* local isolate from Soil Habitat at Forest Learning Center of Cenderawasih University and Its toxicity against plasma of *Culex* sp. *Mosquito*, 1: 7-14.

Badan pusat statistik. 2023. Provinsi Jawa Tengah Dalam Angka 2023. Badan Pusat Statistik Provinsi Jawa Tengah: CV Surya Lestari. ISSN: 0215-2177

Badan Pengawas Obat dan Makanan. 2020. Pedoman Uji Toksisitas Praklinik Secara in Vivo.

Bahagiawati. 2013. Penggunaan *Bacillus thuringiensis* sebagai Bioinsektisida. *Buletin Agrobio*. 5(1):21–28.

Bahri, S. Zulkifli, L., Rasmi, C. A. D., & Sedijani, P. 2021. Isolation, Purification, and Toxicity Test of *Bacillus thuringiensis* from Cows Cage Soil Againts *Drosophila melanogaster*. *Jurnal Biologi Tropis*, 21 (3): 1106 – 1114.

Bakhsh, A., Khabbazi, S. D., Baloch, F. S., Demirel, U., Çalişkan, M. E., Hatipoğlu, R., Özcan, S., & Özkan, H. 2015. Insect-resistant transgenic crops: Retrospect and challenges.

Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 39(4), 531–548. https://doi.org/10.3906/tar-1408-69

Balai Penelitian Tanaman Palma. 2015. Peran *Elaeidobius kamerunicus* Sebagai Polinator di Pertanaman Kelapa Sawit. Balitbang Pertanian. Sulawesi Utara. 35 Hal.

Balasubramanian, S., Crickmore, N., Srikanth, J., Hari, K., Sankaranarayanan, C., Nirmala, R., Krishnan, R. S., & Meghna, M. 2013. Prospecting for Scarabid Specific *Bacillus thuriengiensis* Crystal Toxin *Cry*8 Gene in Sugarcane Ecosystem of Tamil Nadu, India. *Journal of Sugarcane Research*, 3 (2): 141-144

Ballantyne, T., Aryaprema, S.T., Xue, R., & Qualls, A.W. 2023. Adulticidal and Larvacidal Impacts of the Mixture of *Bacillus thuringiensis israelensis* and Boric Acid Toxic Sugar Bait (TSB) Against *Aedes Aegypti* and *Culex quinquefasciatus. Anastasia Mosquito Control District, St. Augustine,* FL 32092

Bello, A., Hussaini, I. M. & Gide, S. 2022. Assessment of The Larvicidal Potential of *Bacillus thuringiensi* from Soil Against *Culex quinquefasciatus*. FUDMA *Journal of Sciences* (FJS). DOI:https://doi.org/10.33003/fjs-2022-0605-1085

Bernhard K., dan R. Utz. 1993. Production of *Bacillus thuringiensis* Insecticides for Experimental and Commeercial Uses, Hlm. 255-265. Di dalam P. F. Entwilse, J. S. Cory, M. J. Bailey & S. Higgs (Penyunting). *thuringiensis* an *Bacillus* Enviromental Biopesticide theory and Practice. John Wiley and Sons, Chichester.

Bocaleti, S. A., Almeida, T. Y. V., Lima, A. E., Schorr, R. R., Marques, A. F., Silva, A. M., Vilas-Boas, T. L. F. G., & Zequi, C. A. J. 2024. New formulation of *Bacillus thuringiensis israelensis* for the control of *Culex quinquefasciatus* Say,

1823 (Diptera, Culicidae) in an effluent treatment pond. *BioAssay*. doi: 10.37486/1809-8460.ba19002

Bhujel, P., & Saha, D. 2023. *Rearing Protocol for Culex quinquefasciatus*. *Journal of the Mizo Academy of Sciences* (MAS). 61–65.

Blondine Ch. P., R.A. Yuniarti. 2001. Uji Patogenisitas Isolat *B. thuringiensis* yang Ditumbuhkan dalam Buah Kelapa terhadap berbagai Jentik Nyamuk di Laboratorium. Stasiun Penelitian Vektor Penyakit, Salatiga. *J. Cermin Dunia Kedokteran*. 131:20-22.

Blondine, Ch. P., & Susanti, L. 2010. Pengembangbiakan bakteri *Bacillus thuringiensis* H-14 galur lokal pada berbagai macam pH media air kelapa dan toksisitasnya terhadap jentik nyamuk vektor *Aedes aegypti* dan *Anophles aconitus*. Media Litbang kesehatan. 20(1): 9–16.

Blondine, Ch. P., & Susanti, L. 2013. Pengaruh Ketingian Habitat Kelapa (*Cocos nucifera*) terhadap Pengembangbiakan Bacillus thuringiensis H-14 dan Toksisitasnya terhadap Jentik (*Anopheles aconitus*). *Media Litbangkes* Vol. 23 No. 1.

Blondine, D., & Widyastuti, U. 2015. Pengendalian Vektor Malaria *Anopheles Sundaicus* Menggunakan *Bacillus Thuringiensis* H-14 Galur Lokal yang Dibiakkan dalam Buah Kelapa dengan Partisipasi masyarakat di Kampung Laut Kabupaten Cilacap. *Jurnal Ekologi Kesehatan*; Vol. 3 No. 1; 24-36.

Broderick NA, Raffa KF, dan Handelsman J. 2006. *Midgut bacteria required for Bacillus thuringiensis insecticidal activity*. PNAS 103: 15196-15199

Bryant PJ. 2008. *Southern house mosquito Culex quinquefasciatus*. Available from:

http://nahistoc.bio.uci.edu/dipteral/culex%20quinquefasciatus.htm

Campbell, N.A. 2003. Biologi Edisi Kelima jilid II. Jakarta: Erlangga.

Cueva, A., Bullock, H. S., López-Reyes, E., & Vargas, R. 2017. Potential bias of daily soil CO_2 efflux estimates due to sampling time. *Scientific Reports*. 7: 1195, DOI:10.1038/s41598-017-11849-y

Cutwa, M. M., & O'Meara, G. F. (2008). *Photographic Guide to Common Mosquitoes of Florida*. Florida Medical Entomology Laboratory, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida.

Cetinkaya, F. 2002. *Isolation of Bacillus thuringiensis and Investigation of Its Crystal Protein Genes*. Turkey: Izmir Institute of Technology

Centre of Agriculture and Biosciences International. 2019. *Culex quinquefasciatus* (southern house mosquito). Retrieved November 27, 2019, from CAB International website: https://www.cabi.org/isc/datasheet/86848#tosummaryOfInvasiveness

Codjia, S., Tamègnon, H., Aïzoun, N., & Chougourou, D. 2025. Larvicidal activities of *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) on larvae of *Culex quinquefasciatus* in lymphatic filariasis vector control in Lokossa district in south-western Republic of Benin, West Africa. *International Journal of Pharmaceutical Science Invention*

Chinedu, E., Arome, D., Ameh, F. S., & Jacob, D. L. 2015. An Apprroach to Acute, Subacute, Subchronic, and Chronic Toxicity Assessment in Animal Models. *Toxicology International*, 22 (2), 83-87.

Daniel, L., Ester, R., & Nelly, L. 2018. The characterization of *Bacillus thuringiensis* from soil habitat of Auky Island, Padaido District in Biak Numfor Regency and its toxicity against mosquito larva of *Anopheles* sp. *AmJ InfectDis* 14:77–81

Dinas Kesehatan Kota Semarang. Semarangkota.go.id. https://dinkes.semarangkota.go.id/content/post/79

Dini, Y. W. 2005. Profil Protein Kristal dan DNA Genom Total Galu-Galur Bakteri *Bacillus thuringiensis*. Biologi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Pakuan Bogor, Bogor.

Dini, R. I., Wawan, Hapsoh, & Devi, R. 2020. Eksplorasi dan Karakterisasi Bakteri *Rhizobium* Asal Tanaman *Mucuna bracteata* di Tanah Gambut. *Jurnal Agroekotek* 12 (1): 1 – 12

Denny, K. H., Stewart, C. W. 2017. *Acute, Subacute, Subchronic, and Chronic General Toxicity Testing for Preclinical Drug Development*. Second Edi. A Comprehensive Guide to Toxicology in Nonclinical Drug Development. *Elsevier Inc*.; 2017. 109–127 p. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-803620-4.00005-0

Derua, A. Y., Kweka, J. E., Kisinza, N. W., Yan, G., Ghiteko, K. A., & Mosha, W. F. 2021. The Effect of Coexistence between Larvae of *Anopheles gambiae* and *Culex quinquefasciatus* on Larvasidal Efficacy of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*. *East Africa Science*. Vol 3 Issue 1

Depkes RI. 2012. Pencegahan dan Penanggulangan Penyakit Demam Berdarah. Dijen PPM-PLP. Jakarta.

Dewi, L. K., *et al*. 2018. Studi Pengaruh Ketinggian Wilayah Terhadap Distribusi Bakteri Patogen di Jawa Tengah. *Jurnal Ekologi dan Lingkungan*, 15(3), 123-130

Effendi, H., Ernawan, A. H., Wardiatno, Y., & Kristianti, M. 2012. Toksisitas Akut (LC50) Serbuk Nor (*Cuttings*) Terhadap *Daphnia* Sp. Jurnal Bumi Lestari. Xii (2): 321-326

Elqowiyya, I. A. 2015. Efikasi Larvasida *Bacillus thuringiensis israelensis* terhadap Kematian Larva *Culex quinquefasciatus* dari Daerah Bekasi. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. UIN Syarif Hidayatullah: Jakarta.

Finney, D. J. 1971. *Probit Analysis* 3rd ed., London: Cambriagde University Press.

Fernández-Chapa, D., Ramírez-Villalobos, J., & Galán-Wong, L. 2019. Toxic Potential of *Bacillus Thuringiensis*: An Overview.

Friska, W., Khotimah, S., & Linda, R. 2015. Karakteristik Bakteri Pelarut Fosfat pada Tingkat Kematangan Gambut di Kawasan Hutan Lindung Gunung Ambawang Kabupaten Kubu Raya. *Jurnal Protobiont*. Vol. 4 (1): 197-202

Gamil, A., Seham, A., Youssef, A., Narmen., & Waleed, S. 2008. Bioinsecticide production by the bacterium *Bacillus thuringiensis*. 1. Pattern of cell growth, toxin production and by-product synthesis. *Archives of Agronomy and Soil Science*. Vol. 54, No. 4, August 2008, 387–39

Ghelardi, E., Celandroni, F., Salvetti, S., Fiscarelli, E., & Senesi, S. 2007. *Bacillus thuringiensis* pulmonary infection: Critical role for bacterial membrane-damaging toxins and host neutrophils. *Microbes Infect*. 9, 591–598

Graha Esa Termurah. (2024). Informasi Produk Bactivec SL Larvasida Biologis. Diakses dari https://www.grahaesa.com/bactivec pada 21 Juni 2025

Haiqal, M. I., Badiri, I., Isfanda., & Riverson, S. M. 2020. Efektifitas *Bacillus thuringiensis israelensis* (*Bti*) Sebagai Parasitoid Larva *Aedes aegypti*, *Prosiding Seminar Nasional Biotik*, pp. 355–357.

Handayani N, Santoso L, Martini, Purwantisari S. 2016. Status Resistensi Larva *Aedes Aegypti* Terhadap Temephos Di Wilayah Perimeter dan Buffer Pelabuhan Tanjung Emas Kota Semarang, *Jurnal Kesehatan Masyarakat*, 4(1), pp. 159–166.

Handayani, M. 2019. Penerapan *Bacillus thuringiensis* sebagai Agen Hayati dalam Pengendalian Hama Serangga. Surabaya: Universitas Brawijaya Press.

Handayani, K., Royanti, V., & Ekowati, N. C. 2023. Indeks Keanekaragaman Bakteri *Bacillus* Sp. dari Tanah Kebun Raya Liwa. *Seminar Nasional Biologi* (SEMABIO). ISSN: 2774-6585

Harrold, G. 2013. A *Culex* mosquito egg raft & irritating flies. Available from: http://photomacrography.net

Hassan, A. A., Youssef, A., M. Elashtokhy, A. M. M., Ismail, M. I., Aldayel, M., & Afkar, E. 2021. Isolation and identification of *Bacillus thuringiensis* strains native of the Eastern Province of Saudi Arabia. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*. https://doi.org/10.1186/s41938-020-00352-8

Hill S, Conrelly R. 2013. *Southern house mosquito Culex quinquefasciatus* Say. USA: Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida.

Hitipeuw, D., Martini, M., Hestiningsih, R., Udijono, A., & Yuliawati, S. 2023. Efikasi Larvasida *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* terhadap Larva *Aedes*, *Anopheles*, dan *Culex*. *Higeia Journal of Publis Health Research and Development*, 7(2).

Herman, M. 2002. Perakitan Tanaman Tahan Serangga Hama melalui Teknik Rekayasa Genetik. *Buletin AgroBio*, 5(1), 1–13.

Hernandez, E., Ramisse, F., Ducoureau, J.P.; Cruel, T., & Cavallo, J.D. 1998. *Bacillus thuringiensis* subsp. *konkukian* (Serotype H34) superinfection: Case report and experimental evidence of pathogenicity in immunosuppressed mice. *J. Clin. Microbiol*. 36, 2138–2139.

Holt, J. G, Krieg, N. R, Sneath, P. H. A, Staley, J. T., & Williams, S. T. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, ninth edition*, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia

Ideham B. K., Tantular I S, Basuki S, Pusarawati, Suhintam. 2014. Atlas Parasitologi Kedokteran. Jakarta: EGC.

Jang, Y. S., Jung, M. Y., & Cho, Y. H. 2013. Effect of pH and temperature on the growth of *Bacillus thuringiensis* in different culture media. *Journal of Microbiological Methods*, 94(2), 152–158.

Jani, R., Sahmarinto., & Liestiany, E. 2023. *Kemampuan Bacillus thuringiensis* untuk Mengendalikan *Spodoptera frugiperda* J.E. Smith. Proteksi Tanaman Tropika 6(02). ISSN: 2685-8193

Jumlah Kasus Kronis Baru Filariasis Kabupaten/Kota Triwulan 3 2024 - Jumlah Kasus Kronis Baru Filariasis Kabupaten/Kota Triwulan 3 2024 - Portal Data Jawa Tengah. 2024. Jatengprov.go.id.

https://data.jatengprov.go.id/dataset/jumlah-kasus kronis-baru-filariasis-kabupaten-kota-triwulan-3 2024/resource/ed14c411-2940-4d8b-af0e-f14cd2a235b6

Jung, Y., Sunguk, K., Kwang-Hee, S., Hyung Hoan, L., & Song-Hae B. 1994. Characterization of *Bacillus thuringiensis* Strain BT-14 Having Insectisidal Activity *Plutella xylostella* Against. *Journal of Microbiology and Biotecnology*. 4(4), 322-326.

Karunia, E., Kurniatuhadi, R., & Yanti, H. P. 2021. Karakterisasi Bakteri *Bacillus* sp. (Kode $NrLtF_5$) yang di Isolasi dari Usus Cacing Nipah (*Namalycastis rhodochorde*). *Jurnal Protobiont*, Vol. 10 (3): 69-73.

Kementrian Kesehatan (Kemenkes). 2012. Pedoman Eliminasi Filariasis di Indonesia. Pedoman Penentuan dan Evaluasi Daerah Endemis Filariasis. Jakarta: Kemenkes RI.

Khaeruni, A., Rahayu., dan Purnamaningrum, N.T. 2012. Isolasi *Bacillus thuringiensis* Berl. Dari Tanah Dan Patogenisitasnya Terhadap Larva *Crocidolomia binotalis* Zell. Pada Tanaman Sawi (*Brassica junicea* L.). *Jurnal Agroteknos*. 2(1):21-27.

Khetan, S. 2000. *Microbial Pest Control*. Microbial Pest Control. https://doi.org/10.1201/9781482270631

Khetan, S. K. 2001. *Microbial Pest Control Books in Soils, Plants, and The Environment*; V. 78. CRC Press: USA. Page 3-121.

Lantang, D. 2005. The toxixity of *Bacillus thuringiensis* Isolates from several soil habitat on the some area in Papua Province At Mosquito Larvae of *Anopheles farauti* Laveran and several its characteristics. *Jurnal Posimapas*. 11: 78–99

Lantang, D., dan Runtuboi, D.Y. 2012. Karakterisasi Bakteri *Bacillus thuringiensis* Asal Hutan Lindung Kampus Uncen Jayapura, serta Deteksi Toksisitasnya terhadap Larva Nyamuk *Anopheles*. *J. Biol. Papua*. 4 (1): 19-24.

Li, L. H., Y. L. Shih, J. Y. Huang, C. J. Wu, Y. W. Huang, H. H. HuangY. C. Tsai, and T. C. Yang. 2020. Protection from Hydrogen Peroxide Stress Relies Mainly on AhpCF and KatA2 maltophilia, in Stenotrophomonas. *Journal of Biomedical Science*, 27 (37): 1-9.

Li, J., Xian, Y., Zhang, Y., Shen, Y., Wang, X., Huang, J., & Sui, P. 2024. Determining Suitable Sampling Times for Soil CO_2 and N_2O Emissions Helps to Accurately Evaluate the Ability of Rubber-Based Agroforestry Systems to Cope with Climate Stress. *Forest*. https://doi.org/10.3390/f15060950

Liao, M. Jin, Y. Cheng, Y. Yang, M. Soberón, A. Bravo, K. Liu, & Y. Xiao. 2022. Protoksin *Bacillus thuringiensis Cry*1 Ac dan toksin aktif menimbulkan toksisitas yang berbeda karena interaksi sinergis antara kadherin dengan transporter ABCC pada ulat kapas. *Aplikasi Lingkungan Mikrobiologi.* Hal. e0250521, 10.1128/aem.02505-21

Liu, S. *et al*. 2021 "*The Impact of Patient Satisfaction on Patient Loyalty with the Mediating Effect of Patient Trust,*" Inquiry (United States), 58. doi: 10.1177/00469580211007221.

Lee, J., Lee, S.-Y., Han, S., Seong, D., Wijesinghe, R. E., Kim, P., Jeon, M., Jung, H.-Y., & Kim, J. 2020. Multi-directional morphological assessment of single bacterial colonies through non-invasive optical imaging. *Annals of Biomedical Engineering*, 48(12), 3014–3023. https://doi.org/10.1007/s10439-020-02660-4

Lepe, M. R., & Suero, M. R. 2012. Biological Control of Mosquito Larvae by *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis*. *Insecticides-Pest Engineering*, 11, pp. 239-264.

Lestari, B. D., Z. P. Gama, & B. Rahardi. 2010. Identifikasi Nyamuk di Kelurahan Sawojajar Kota Malang. Malang: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya

Lestari, D., Nuryati, A., & Nuryani, S. 2014. Penggunaan Berbagai Konsentrasi Ekstrak Ethanol Daun Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) Terhadap Mortalitas Larva *Culex quinquefasciatus*. Vol. 000. Poltekkes Kemenkes Yogyakarta

Logan, N. A., & Vos, P. D. 2015. *Bacillus. Bergey's manual of systematics of archaea and bacteria*, 1-163.

Madigan, M.T., J.M. Martinko, and J. Parker., 2009, *Biology of Microorganisms*. 12th ed, New York: Prentice Hall International.

Madigan, M., John, M., Kelly, B., Daniel, B., & David, S. 2016. *Microbiologia de Brock*. 14ª ed. Porto Alegre, Artmed. 960p.

Mafazah, A., & Zulaika, E. 2017. Potensi *Bacillus thuringiensis* dari Tanah Perkebunan Batu Malang sebagai Bioinsektisida terhadap Larva *Spodoptera litura* F. *Jurnal Sains dan Seni ITS*, Vol. 6, No. 2 (2017) 2337-3520

Maharani, D. M., Siti, N. H., dan Haiyinah. 2005. Studi Potensi Kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.f) Bedd), Sebagai Pangan Fungsional. PKM Penelitian. Jurusan Budidaya Pertanian. Banjarbaru: Univ Lambung Mangkurat. 13 (1). Hal: 1-13.

Mahdalena, V. & Ni'mah, T. 2019. Potensi dan Pemanfaatan Mikroorganisme Dalam Pengendalian Penyakit Tular

Nyamuk, *Spirakel*, 11(2), pp. 72–81. doi:10.22435/spirakel.v11i2.1292

Manimegalai, K., & Sukanya, S. 2014. Biology of the filarial vector, *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3(4), 718–724. Retrieved from http://www.ijcmas.com

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

Mathews, G., Derraik, B. G. J., Walker, M., Knox, R., & Barraclough, K.R. 2017. Morphological variation in invasive mosquito *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae) larvae from an urban site in Auckland, New Zealand. *New Zealand Journal of Zoology*, DOI: 10.1080/03014223.2017.1342665

Mukhija, B., & Khanna, V. 2018. Isolation, Characterization and Crystal Morphology Study of *Bacillus thuringiensis* Isolates from Soils of Punjab. *Journal of Pure and Applied Microbiology,* 12(March), 189–193. Https://Doi.Org/10.22207/Jpam.12.1.24

Mulyatno K, Yamanaka A, Ngandino, Konishi E. *Resistance of Aedesaegypti (L.) larvae to temephos in Surabaya, Indonesia*. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 2012;43(1):29-33.

Murali, A., & S. Patel. 2017. The Effect of Different Heavy Metal Acetate Solutions on the Inhibition of Catalse Enzyme. *Journal of the South Carolina Academy of Science*, 15(2): 68-74.

Murray, R. K., Granner, D. K., Mayes, P. A., & Rodwell, V. W. 2003. Biokimia Harper edisi 25, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta

Melanie, Rustama, M. M., Sihotang, S. I., & Kasmara, H. 2018. Effectiveness of Storage Time Formulation of *Bacillus thuringiensis* Against *Aedes aegypti* Larvae (Linnaeus). *Jurnal Cropsaver*, 1(1):48- 52

Mohmad, A. A. H., & Abousi, M. Q. 2018. Evaluation of *Bacillus thuringiensis* (H14) in their natural and nano form on fourth-instar larvae of *Culex quinquefasciatus* put in lake water and knowledge of the effect of nanoparticles on non-target organisms. *Wasit Journal for Science & Medicine*. 11(2): (21-28)

Myers, P., R. Espinosa, CS Parr, T. Jones, GS Hammond, dan TA Dewey. 2024. The Animal Diversity Web (online). Diakses di https://animaldiversity.org.

Nair, K., R. Al-Thani, D. F., Al-Yafei, T. Ahmed, S. Jaoua. 2018. Diversity of *Bacillus thuringiensis* Strains from Qatar as Shown by Crystal Morphology, Delta-Endotoxin and *Cry Gene Content*. *Frontiers in Microbiology*, 9, 708: 1-10

Nasution, I. 2017. Etika Sains dalam Islam: Kajian Filosofis dan Teologis. Bandung: Mizan.

Nasution, A. F. 2018. Isolasi dan Uji Toksisitas Isolat *Bacillus thuringiensis* Lokal terhadap Larva Nyamuk *Aedes aegypti*. *Tesis*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sumatera Utara, Medan.

Nurjazuli, N., & Santjaka, A. 2020. Sumber Potensi Penularan dan Penyebaran Filariasis limfatik di Kota Semarang, Jawa Tengah, Indonesia. *Unnes Journal of Public Health*, 9 (1): 43-49.

Nuryady, M. M., Istiqomah, T., Faizah, R., Ubaidillah, S., Mahmudi, Z., & Sutoyo. 2013. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat Asal Youghurt. *UNEJ JURNAL*, 1(5): 1-11.

Nguyen, P. Q., *et al*. 2020. Optimizing the Application Timing of *Bacillus thuringiensis* for Effective Mosquito Larval Control. *Environmental Microbiology Reports,* 12(4), 432-445

Ogodo, A. C., Agwaranze, D. I., Daji, M., & Aso, R. E. 2022. Microbial techniques and methods: basic techniques and microscopy. *Analytical Techniques in Biosciences: From Basics to Applications*, 201–220. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822654-4.00003-8

Padole, D. A., Moharil, M. P., Ingle, K. P., & Munje, S. 2017. Isolation and characterization of native isolates of *Bacillus thuringiensis* from Vidarbha Region*. Int J Curr Microbiol App Sci* 6:798–806

Pagare, K. A., Khot, G. G., & Mohite, P. B. 2018. Isolation and identification of *Bacillus Thuringiensis*. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 7(6): 1015-1017

Palma, L., Muñoz, D., Berry, C., Murillo, J., & Caballero, P. 2014. *Bacillus thuringiensis* Toxins: an Overview of Their Biocidal Activity. *Toxins*, 6(12), 3296–3325. Https://Doi.Org/10.3390/Toxins6123296

Palma, L. 2015. Protocol for the fast isolation and identification of insecticidal *Bacillus thuringiensis* strains from the soil. *Bt Res* 6:1–3.

Parasuraman, P. 2011. Toxicological sreening. *Pharmacol Pharmacother*. 2:74–9.

Pioh, D. D., L. Rayes, B. Polii, dan L. Hakim. 2013. Analisis Suhu Tanah di Kawasan Wisata Alam Danau Linow Kota

Tomohon Sulawesi-Utara*. Journal of Indonesian Tourism and Development Studies*, 1(2), 62–67.

Putra, P. T. 2015. Isolasi, Karakterisasi dan Identifikasi Molekuler Bakteri Asam Laktat dari Limbah Pembuatan Dangke Asal Kanupaten Enrekang. *Skripsi.* Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.

Putra, M. A. 2017. Uji Toksisitas Akut LC_{50} Limbah Cair Industri Penyamakan Kulit terhadap Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). Universitas Andalas. Padang.

Putri, M. H., Sukini, & Yodong. 2017. Mikrobiologi, Edisi 2017. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta

Putriawati, Inayati, N., & Agrijanti. 2018. Inventarisai *Bacillus thuringiensis* dengan Metode Cawan Sebar pada Habitat Hidup Larva *Anopheles* sp. pada Tanaman Eceng Gondok (*Eichornia crassipes*) di Kabupaten Lombok Tengah. *Jurnal Analis Medika Bio Sains*.

Pertiwi, D. K., Nurjazuli, & Darundiati, H. Y. 2019. Faktor Lingkungan Dan Perilaku Masyarakat yang Berhubungan dengan Kejadian Filariasis di Kota Semarang. *Pro Health Jurnal Ilmiah Kesehatan*. Vol. 1 No. 2; 2019:12-19

Pray, M., Holbrook, A., Keshavjee, K., Troyan, S., & Ford, P. T. 2002. *Applying methodology to electronic medical record selection. International Journal of Medical Informatics*, 71(1):43-50.

Priyanto. 2010. Toksikologi. Jakarta: Penerbit Leskonfi.

Rahanyamtel, R., Nurjazuli, & Sulistiani. 2019. Faktor Lingkungan dan Praktik Masyarakat Berkaitan Dengan Kejadian Filariasis di Kabupaten Semarang. *Jurnal Kesehatan Lingkungan Indonesia*. 18 (1), 2019, 8 – 11

Rahardianingtyas, E., & Wianto, R. 2014. Isolasi *Bacillus thuringiensis* dari berbagai Habitat di Kabupaten dan Kota Magelang dan Patogenitas terhadap Jentik Nyamuk *Aedes aegypti*. *Jurnal Vektora.* 6 (1): 13-18.

Rahayu, M., & Solihat, M. F. 2018. Toksikologi Klinik. Kementrian Kesehatan Republik Indonesia.

Ramdhini, R. N. 2010. Uji Toksisitas Terhadap *Artemia Salina* Leach. Dan Toksisitas Akut Komponen Bioaktif *Pandanus Conoideus* Var. *Conoideus* Lam. Sebagai Kandidat Antikanker. *Skripsi Jurusan Biologi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret: Surakarta.

Rifai, M. R., Widowati, H., & Sutanto, A. 2020, Uji Sinergis Konsorsia Bakteri Indigen Lcn Berkonsorsia Bakteri Tanah di Kebun Percobaan Universitas Muhammadiyah Metro Untuk Penyusunan Panduan Praktikum Mikrobiologi, *Biolova*, Vol. 1, No. 2, Hal. 87-95

Rika, A., Aliza, D., & Mellisa, S. 2016. Identifikasi Bakteri Aeromonas hydrophila Dengan Uji Mikrobiologi Pada Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) yang Dibudidayakan di Kecamatan Baitussalam Kabupaten Aceh Besar. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kelautan dan Perikanan Unsyiah*. Vol. 1, No. 2, Hal. 270-286

Rocha, T. G., Montalvão, L. C. S., Queiroz, M. R.P., Berçot, R. M., Gomes, M. M. C. A., & Monnerat, G. R. 2023. Morphological and biochemical characterization of bacterial species of *Bacillus, Lysinibacillus* and *Brevibacillus*. *Rev. Ceres, Viçosa*, v. 70, n. 3, p. 91-104.

Rohmanita, A. S., Ardyati, T., Gama, P. Z., & Nakagoshi, N. 2013. Identifikasi dan Analisis Similaritas *Bacillus thuringiensis* Isolat Lokal Jawa Timur yang Berpotensi Mengendalikan

Pertumbuhan Larva *Aedes aegypti*. *Jurnal Biotropika*, Vol. 1 No. 5

Salamun, Fatimah, Fauzi, Ahmad, Praduwana, N. S. 2021. Larvicidal toxicity and parasporal inclusion of native *Bacillus thuringiensis* BK5.2 against *Aedes aegypti. J Basic Clin Physiol Pharmacol.* 2021;32(4):379–84. doi: https://doi.org/10.1515/jbcpp-2020-0472

Sapkota, A. 2022. Morphology of Bacteria Sizes, Shapes, Arrangements, Example. Microbe Notes. May 9, 2022. https://microbenotes.com/bacterial-sizes-shapes-arrangement/

Sari, N. K., Setyaningrum, E., Rosa, E., & Biologi, J. 2019. Uji Efektivitas *Bacillus thuringiensis* var. *Israelensis* Yang Telah Kadaluwarsa Terhadap Larva Nyamuk *Aedes aegypti*, *BioWallace: Jurnal Penelitian Biologi*, 6(1), pp. 944–953.

Siallagan, M. D., Ekowati, C. N., & Rosa, E. 2020. Deteksi Kristal Protein Pada Isolat *Bacillus* Sp. *Biospecies,* 13(2), 46–49.

Sigit, H. S., Koesharto, F. X., Hadi, U. K., Gunandini, D. J., & Soviana, S. 2006. Hama Pemukiman Indonesia, Pengenalan, Biologi dan Pengendalian. Unit Kajian Pengendalian Hama Permukiman (UKPHP), Fakultas Kedokteran Hewan IPB.

Subekti, N., Zahra, A. C., & Fadhila, A. 2024. Efficacy of *Bacillus thuringiensis* Biolarvacide and Temephos Synthethic Larvacides on *Culex quinquefasciatus* Larvae. AL-KAUNIYAH: *Jurnal Biologi*, 17(2), 2024. DOI: http://dx.doi.org/10.15408/kauniyah.v17i2.32788

Sucipto. 2011. Vektor Penyakit Tropis. Yogyakarta: Gosyen Publishing.

Sudigdoadi, Sunarjati, Hadyana Sukandar, Lia Faridah. 2017. Isolasi *Bacillus thuringiensis* Lokal Dari Tanah Kota Bandung Berdasarkan Ketinggian. Mkb: Volume 49 (2).

Sutanto, I., & Is, S. 2011. Parasitologi Medis. Jakarta: Balai Penerbit Kedokteran Universitas Indonesia.

Susanto, A. 2017. Pengaruh Faktor Lingkungan Terhadap Kinerja Bakteri *Bacillus thuringiensis*. *Jurnal Bioteknologi dan Biosains*, 12(2), 45-52.

Sutanto, I., & Is, S. 2011. Parasitologi Medis. Jakarta: Balai Penerbit Kedokteran Universitas Indonesia.

Suwanto., Maridi., & Sari, P. D. 2015. Uji toksisitas isolat Kristal protein *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) sebagai agen pengendali hama terpadu wereng hijau (*Nepotettix virescens*) vektor penyakit tungro sebagai upaya peningkatan ketahanan pangan nasional. *BIOEDUKASI*. 8(1), 16-19.

Sembel, D.T. 2009. Entomologi Kedokteran. Andi, Yogyakarta.

Soedarto. 2006. Parasitologi Klinik. Airlangga University Press Surabaya.

ScienceBuddies. Interpreting agar plates [Internet]. 2025 [cited 2025 Sep 3]. Available from: https://www.sciencebuddies.org/science-fair-projects/references/interpreting-agar-plates

Shiddiqi, M. Hero. 2011. Eksplorasi Protein Toksin *Bacillus thuringiensis* dari Tanah di Kabupaten Tangerang. Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Jakarta.

Shiddiqi, M. H., Hermanto, S., & Jusuf, E. 2013. Eksplorasi Protein Toksin *Bacillus thuringiensis* dari Tanah di

Kabupaten Tangerang. *Jurnal Valensi*, 3(1), 48–56. https://doi.org/10.15408/jkv.v3i1.329

Syaifudin, A., & Sutrisno. 2022. Antibacterial Activity and Potential of Natural Textile Dyes from Sea Water Bacteria. *Al-Hayat: Journal of Biology and Applied Biology.* Vol. 5, No 1: 33-46 DOI. 10.21580/ah. v5i1.6234

Tanjung, S., Windarso, E. S., Rubaya, K. A., Amalia, R., & Sari, P. H. 2023. Daya Bunuh Larvasida *Bacillus thuringiensis israelensis* dan Temephos Pada Larva *Culex* sp*. Jurnal Kesehatan Lingkungan* Vol. 13 No. 2 Oktober 2023 (90-99)

Tataro, M. S., & Tabugo, M. R. S. 2015. Population analysis via fluctuating asymmetry in the wings of *Culex quinquefasciatus* say from selected breeding sites in Iligan City, Philippines. *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences* (JBES). Vol. 7, No. 5, p. 109-118.

Tri, R., Yuliani, V., Hadi, K. U., Soviana, S., & Irawati, Z. 2019. Tabel Hidup Nyamuk Vektor Filariasis Limfatik *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) di Laboratorium. *Jurnal Kesehatan Lingkungan Indonesia* 18 (2), 2019, 73 – 80. DOI: 10.14710/jkli.18.2.73-80

Tripsila, L. F, Suharjono, Gama, Z. P. 2013. Studi Toksisitas *Bacillus thuringiensis* Isolat Lokal Jawa Timur Berdasarkan Ketinggian Tempat Terhadap Larva *Aedes aegypti*. *J. Biotrop*., Vol 1 (3)

Tyas, W. D., Wahyuni, D., & Hariyadi, S. 2014. Perbedaan Toksisitas Ekstrak, Rebusan dan Rendaman Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) Terhadap Mortilitas Larva Nyamuk *Aedes aegypti* L. *Pancaran* Vol. 3, No. 1, hal 59-68.

Uragayala, S., Kamaraju, R., Tiwaro, S., Ghosh, K. S., & Valecha, N. 2018. Field testing & evaluation of the efficacy &

duration of effectiveness of a biolarvicide, Bactivec® SC (*Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* H-14) in Bengaluru, India. *Indian Journal of Medical Research*.

Utami, S. 2010. Aktivitas Insektisida Bintaro (Gaertn) Terhadap Hama *Eurema* spp. Pada Skala Laboratorium. *Jurnal Penelitian Hutan Tanaman,* 7(4), 211–220.

Vachon, V., Laprade, R., & Schwartz, J. L. 2012. Current models of the mode of action of *Bacillus thuringiensis* insecticidal crystal proteins: A critical review. *J. Invertebr*. Pathol, 111, 1–12.

Vajri, I.Y. & Rahma, H. .2021. Potensi Rizobakteri Dalam Mengendalikan Hama *Crocidolomia pavonana* F. (*Lepidoptera: Crambidae*) Pada Tanaman Kubis, *Agrium,* 24(1), pp. 7 16.

Van Zyl, C., & Malan, A.P. 2014. The Role of Entomopathogenic Nematodes as Biological Control Agents of Insect Pests, with Emphasison the History of Their Mass Culturing and In Vivo Production. *Afr. Entomol*. 22, 235–249

Vos, D. P., G. M. Garrity, D. Jones, N. R. Krieg, W. Ludwig, F. A. Rainey, K. H. Schleifer., & W. B. Whitman. 2009. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 2nd Edition Volume Three: The Firmicutes. Bergey's Manual Trust.* New York.

Wahyuni, & Wirawan, H. P. 2017. Buletin Diagnosa Veteriner. Medik Veteriner, Balai Besar Veteriner Maros, 16(2), 9–17.

Wahyuni, F. D., & Henny, S. 2019. Penapisan gen *cry*I *Bacillus thuringiensis* Isolat Lokal Dengan Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR). (Laporan Penelitian). Jakarta: Universitas Esa Unggul.

Wahyuono, D. 2015. Kajian Formulasi *Bacillus thuringiensis* Dengan *Carrier* Limbah Cair Pabrik Kelapa Sawit untuk

Pengendalian Ulat Api (*Setora nitens*). *Planta Tropika Journal of Agro Science.* 3(1):24–30. doi: 10.18196/pt.2015.036.24-30.

Wainhouse, D. 2005. *Ecological methods in forest pest management*. Oxford University press. Oxford.

Wang, J., Mei, H., Qian, H., Tang, Q., Liu, X., Yu, Z., & He, J. 2013. Expression Profile and Regulation of Spore and Parasporal Crystal Formation-Associated Genes in *Bacillus thuringiensis*. *Journal of Proteome Research*, 12 (12), 5487–5501. Https://Doi.Org/10.1021/Pr4003728

Wick, C. H. 2013. *Identifying Microbes by Mass Spectrometry Proteomics*. New York: *Taylor and Francis Group.* CRC Press.

Widiarti, M., *et al*. 2020. Uji Toksisitas *Bacillus thuringiensis* pada Larva Nyamuk di Berbagai Ketinggian Wilayah. *Jurnal Entomologi Indonesia*, 14(1), 25-34.

Widayati, W., W. Windriyanti., & W. Santoso. 2020. Pengaruh insektisida mikroba *Bacillus thuringiensis* terhadap mortalitas *Heliothis armigera* pada tongkol jagung. *Plumula*. 8(1), 1-8

Wirasuta, M.A.G., & Niruri R. 2006. Toksikologi Umum. Bali: FMIPA Jurusan Farmasi Universitas Udayana. 2, 60.

Wulandari, S., Okta, N. F., Utami, P. S., Giovani, C. D. S. 2024. Uji Toksisitas Ekstrak Etil Asetat Biji Kebiul (*Caesalpinia bonduc* L. Roxb) Pada Ekstraksi Maserasi. *Jurnal Ilmiah Pharmacy*, Vol. 11 No. 2. ISSN P. 2406-8071 E.2615-8566

World Health Organization. 1999. *Microbal pest control agent Bacillus thuringiensis.* Geneva: WHO.

World Health Organization. 2005. *Guidelines for Laboratory and Field Testing of Mosquito Larvacides*. Geneva: WHO.

Worth, A. P. 2018. Types of Toxicity and Applications of Toxicity Testing [Internet]. The History of Alternative Test Methods in Toxicology. *Elsevier Inc.*; 2018. 7–10 p. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-813697-3.00002-0

Yulian, R. Y. 2016. Uji Efektivitas *Bacillus thuringiensis* yang Berasal dari Tanah Naungan Bungur (*Lagerstroemia speciosa*) terhadap Stadium Dewasa *Aedes aegypti*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Lampung, Bandar Lampung.

Yulvizar, C. 2013. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Probiotik pada *Rastrelliger* sp. *Biospecies*, Vol. 6, No. 2, Hal. 1-7

Yunus, R. & Satoto, T.B.T. 2017. Efikasi *Bacillus thuringiensis israelensis* yang Ditumbuhkan pada Media Air Cucian Beras Mekongga terhadap Larva *Aedes aegypti* Strain Kendari. *Vektora: Jurnal Vektor dan Reservoir Penyakit*, 9(1), pp. 9–16.

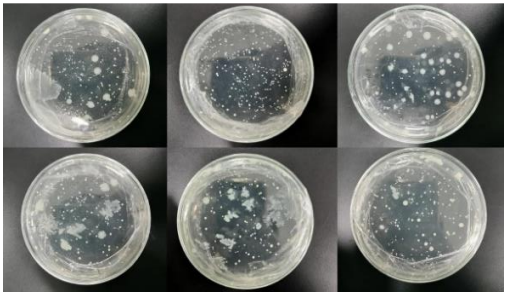
Zeigler, D.R. 1999. *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus cereus*. *Bacillus* Genetic Stock Center Catalog of Strains, Seventh Edition, Part 2. The Ohio State University. Ohio.

LAMPIRAN

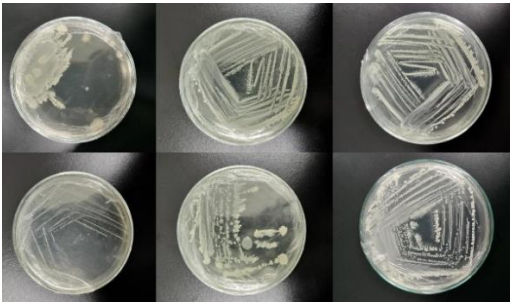
Lampiran 1. Dokumentasi Kegiatan Penelitian



Gambar 1. Pengambilan Sampel Tanah dan Koleksi Sampel Tanah



Gambar 2. Hasil Isolasi pada Media Selektif *Bt*



Gambar 3. Hasil Purifikasi pada Media NA



Gambar 4. Pewarnaan Gram, Endospora, Kristal Protein dan Uji Biokimia Bakteri



Gambar 5. Suspensi Bakteri pada Media TPB diinkubasi pada *shaker*-inkubator



Gambar 6. Uji Pendahuluan dan Uji Efikasi



Gambar 7. Pengamatan Morfologi Larva

Lampiran 2. Hasil Analisis Mann-Whitney U

Parameter	Mann-Whitney U	Wilcoxon W	Z	Asymp. Sig. (2-tailed)	Exact Sig. (2-tailed)	Keterangan
Suhu Tanah	18.500	63.500	-1.971	0.049	0.050[b]	Berbeda signifikan
Suhu Udara	39.500	84.500	-0.089	0.929	0.931[b]	Tidak berbeda signifikan
pH Tanah	36.500	81.500	-0.544	0.586	0.730[b]	Tidak berbeda signifikan
Ketinggian Wilayah	0.000	45.000	-3.582	0.000	0.000[b]	Berbeda signifikan

a.*Grouping Variable*: Wilayah (Kota dan Kabupaten Semarang)
b. Nilai *Exact significance* tidak dikoreksi terhadap *ties* (*not corrected for ties*)

Lampiran 3. Hasil Analisis Regresi Probit 20 Jam

Confidence Limits

BTS1		95% Confidence Limits for Dosis			95% Confidence Limits for log(Dosis)[a]		
	Probability	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT	.010	.430	.326	.503	-.366	-.486	-.299
	.020	.464	.362	.533	-.334	-.441	-.273
	.030	.486	.387	.554	-.313	-.412	-.257
	.040	.504	.407	.570	-.298	-.390	-.244
	.050	.519	.424	.583	-.285	-.373	-.234
	.060	.532	.439	.595	-.274	-.358	-.225
	.070	.544	.452	.606	-.265	-.345	-.218
	.080	.554	.464	.615	-.256	-.333	-.211
	.090	.564	.476	.624	-.249	-.323	-.205
	.100	.573	.486	.632	-.242	-.313	-.199
	.150	.613	.533	.668	-.212	-.273	-.175
	.200	.647	.573	.699	-.189	-.242	-.155
	.250	.678	.609	.728	-.169	-.215	-.138
	.300	.706	.643	.755	-.151	-.192	-.122
	.350	.734	.675	.782	-.134	-.171	-.107
	.400	.761	.705	.810	-.119	-.152	-.092
	.450	.788	.735	.839	-.103	-.134	-.076
	.500	.816	.765	.870	-.088	-.117	-.060
	.550	.845	.793	.904	-.073	-.100	-.044
	.600	.875	.822	.942	-.058	-.085	-.026
	.650	.907	.852	.985	-.042	-.070	-.007

	.700	.943	.883	1.033	-.026	-.054	.014
	.750	.983	.916	1.090	-.008	-.038	.037
	.800	1.029	.954	1.158	.012	-.021	.064
	.850	1.085	.998	1.244	.036	-.001	.095
	.900	1.161	1.055	1.364	.065	.023	.135
	.910	1.180	1.069	1.395	.072	.029	.144
	.920	1.201	1.084	1.429	.080	.035	.155
	.930	1.225	1.102	1.468	.088	.042	.167
	.940	1.252	1.121	1.512	.098	.050	.180
	.950	1.283	1.144	1.565	.108	.058	.195
	.960	1.321	1.171	1.630	.121	.068	.212
	.970	1.370	1.205	1.713	.137	.081	.234
	.980	1.436	1.251	1.830	.157	.097	.262
	.990	1.548	1.328	2.032	.190	.123	.308

a. Logarithm base = 10.

Confidence Limits

BTS2		95% Confidence Limits for Dosis			95% Confidence Limits for log(Dosis)[b]		
	Probability	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT[a]	.010	.283	.018	.587	-.548	-1.752	-.231
	.020	.336	.028	.665	-.474	-1.551	-.177
	.030	.374	.038	.721	-.427	-1.425	-.142
	.040	.406	.047	.768	-.392	-1.330	-.114
	.050	.433	.056	.810	-.363	-1.254	-.092
	.060	.458	.065	.848	-.339	-1.190	-.072

.070	.481	.073	.883	-.317	-1.134	-.054
.080	.503	.082	.917	-.298	-1.084	-.038
.090	.524	.091	.950	-.281	-1.039	-.022
.100	.543	.100	.981	-.265	-.998	-.008
.150	.633	.148	1.133	-.198	-.831	.054
.200	.715	.198	1.284	-.146	-.703	.108
.250	.794	.252	1.444	-.100	-.598	.160
.300	.872	.311	1.622	-.060	-.508	.210
.350	.951	.372	1.824	-.022	-.429	.261
.400	1.033	.438	2.060	.014	-.358	.314
.450	1.118	.508	2.341	.049	-.294	.369
.500	1.210	.581	2.682	.083	-.236	.428
.550	1.308	.658	3.103	.117	-.182	.492
.600	1.417	.740	3.634	.151	-.131	.560
.650	1.539	.827	4.320	.187	-.082	.635
.700	1.678	.921	5.233	.225	-.036	.719
.750	1.843	1.025	6.496	.265	.011	.813
.800	2.046	1.144	8.343	.311	.058	.921
.850	2.310	1.287	11.283	.364	.110	1.052
.900	2.692	1.475	16.691	.430	.169	1.222
.910	2.793	1.522	18.376	.446	.182	1.264
.920	2.908	1.573	20.411	.464	.197	1.310
.930	3.039	1.631	22.924	.483	.213	1.360
.940	3.193	1.697	26.118	.504	.230	1.417
.950	3.377	1.774	30.332	.529	.249	1.482
.960	3.608	1.868	36.198	.557	.271	1.559
.970	3.913	1.986	45.044	.593	.298	1.654

	.980	4.359	2.151	60.354	.639	.333	1.781
	.990	5.168	2.431	96.062	.713	.386	1.983

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.

Confidence Limits

BAC			95% Confidence Limits for Dosis		95% Confidence Limits for log(Dosis)[a]		
	Probability	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT	.010	.000	.000	.000	-4.000	-4.510	-3.744
	.020	.000	.000	.000	-3.906	-4.370	-3.673
	.030	.000	.000	.000	-3.847	-4.281	-3.628
	.040	.000	.000	.000	-3.803	-4.214	-3.594
	.050	.000	.000	.000	-3.767	-4.160	-3.567
	.060	.000	.000	.000	-3.736	-4.114	-3.543
	.070	.000	.000	.000	-3.709	-4.073	-3.523
	.080	.000	.000	.000	-3.685	-4.037	-3.504
	.090	.000	.000	.000	-3.663	-4.004	-3.487
	.100	.000	.000	.000	-3.643	-3.974	-3.472
	.150	.000	.000	.000	-3.559	-3.849	-3.407
	.200	.000	.000	.000	-3.492	-3.750	-3.355
	.250	.000	.000	.000	-3.435	-3.666	-3.310
	.300	.000	.000	.001	-3.384	-3.591	-3.269
	.350	.000	.000	.001	-3.336	-3.522	-3.230
	.400	.001	.000	.001	-3.291	-3.458	-3.193
	.450	.001	.000	.001	-3.248	-3.396	-3.155

.500	.001	.000	.001	-3.205	-3.337	-3.118
.550	.001	.001	.001	-3.162	-3.279	-3.078
.600	.001	.001	.001	-3.118	-3.223	-3.036
.650	.001	.001	.001	-3.073	-3.167	-2.989
.700	.001	.001	.001	-3.025	-3.112	-2.937
.750	.001	.001	.001	-2.974	-3.057	-2.876
.800	.001	.001	.002	-2.917	-3.000	-2.803
.850	.001	.001	.002	-2.851	-2.939	-2.714
.900	.002	.001	.003	-2.767	-2.867	-2.596
.910	.002	.001	.003	-2.747	-2.850	-2.567
.920	.002	.001	.003	-2.725	-2.832	-2.535
.930	.002	.002	.003	-2.700	-2.812	-2.500
.940	.002	.002	.003	-2.673	-2.790	-2.461
.950	.002	.002	.004	-2.643	-2.766	-2.416
.960	.002	.002	.004	-2.606	-2.737	-2.363
.970	.003	.002	.005	-2.562	-2.702	-2.297
.980	.003	.002	.006	-2.503	-2.656	-2.210
.990	.004	.003	.008	-2.410	-2.584	-2.071

a. Logarithm base = 10.

Lampiran 4. Hasil Analisis Regresi Probit 24 Jam

Confidence Limits

BTS1		95% Confidence Limits for Dosis			95% Confidence Limits for log(Dosis)[b]		
	Probability	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT[a]	.010	.398	.015	.563	-.400	-1.815	-.249
	.020	.431	.024	.591	-.365	-1.623	-.229
	.030	.454	.031	.609	-.343	-1.502	-.215
	.040	.471	.039	.623	-.327	-1.411	-.205
	.050	.486	.046	.635	-.313	-1.338	-.197
	.060	.499	.053	.646	-.302	-1.275	-.190
	.070	.511	.060	.655	-.292	-1.220	-.184
	.080	.522	.067	.664	-.283	-1.171	-.178
	.090	.532	.075	.672	-.274	-1.126	-.172
	.100	.541	.082	.680	-.267	-1.085	-.168
	.150	.581	.121	.714	-.236	-.916	-.146
	.200	.616	.165	.745	-.211	-.783	-.128
	.250	.646	.214	.775	-.189	-.671	-.111
	.300	.676	.268	.807	-.170	-.572	-.093
	.350	.704	.329	.843	-.153	-.482	-.074
	.400	.732	.396	.886	-.136	-.402	-.053
	.450	.760	.468	.943	-.119	-.330	-.026
	.500	.788	.541	1.021	-.103	-.267	.009
	.550	.818	.610	1.134	-.087	-.215	.055
	.600	.849	.670	1.296	-.071	-.174	.113
	.650	.882	.721	1.525	-.054	-.142	.183

.700	.919	.765	1.844	-.037	-.116	.266
.750	.961	.804	2.293	-.017	-.095	.360
.800	1.009	.843	2.952	.004	-.074	.470
.850	1.068	.883	3.990	.029	-.054	.601
.900	1.148	.930	5.869	.060	-.031	.769
.910	1.168	.942	6.446	.067	-.026	.809
.920	1.190	.954	7.140	.076	-.021	.854
.930	1.215	.967	7.991	.085	-.015	.903
.940	1.244	.982	9.064	.095	-.008	.957
.950	1.277	.999	10.469	.106	-.001	1.020
.960	1.318	1.018	12.403	.120	.008	1.094
.970	1.369	1.043	15.283	.136	.018	1.184
.980	1.440	1.076	20.184	.158	.032	1.305
.990	1.560	1.129	31.320	.193	.053	1.496

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.

Confidence Limits

BTS2			95% Confidence Limits for Dosis		95% Confidence Limits for log(Dosis)[a]		
	Probability	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT	.010	.316	.222	.395	-.501	-.653	-.404
	.020	.362	.265	.441	-.442	-.577	-.355
	.030	.394	.296	.474	-.404	-.528	-.324
	.040	.421	.322	.500	-.376	-.492	-.301
	.050	.444	.345	.523	-.353	-.463	-.282

.060	.464	.365	.543	-.334	-.438	-.265
.070	.483	.384	.561	-.317	-.416	-.251
.080	.500	.402	.578	-.301	-.396	-.238
.090	.516	.418	.594	-.287	-.378	-.226
.100	.532	.434	.609	-.274	-.362	-.215
.150	.601	.506	.677	-.221	-.296	-.170
.200	.662	.571	.737	-.179	-.243	-.132
.250	.719	.632	.796	-.143	-.200	-.099
.300	.775	.690	.854	-.111	-.161	-.069
.350	.831	.747	.913	-.080	-.127	-.039
.400	.887	.803	.977	-.052	-.095	-.010
.450	.946	.859	1.045	-.024	-.066	.019
.500	1.007	.916	1.119	.003	-.038	.049
.550	1.072	.974	1.202	.030	-.011	.080
.600	1.142	1.035	1.294	.058	.015	.112
.650	1.220	1.100	1.401	.086	.041	.146
.700	1.308	1.170	1.524	.116	.068	.183
.750	1.409	1.250	1.672	.149	.097	.223
.800	1.531	1.343	1.857	.185	.128	.269
.850	1.688	1.459	2.100	.227	.164	.322
.900	1.907	1.617	2.455	.280	.209	.390
.910	1.964	1.658	2.550	.293	.220	.407
.920	2.028	1.703	2.657	.307	.231	.424
.930	2.101	1.753	2.781	.322	.244	.444
.940	2.185	1.812	2.925	.339	.258	.466
.950	2.285	1.880	3.100	.359	.274	.491
.960	2.409	1.964	3.319	.382	.293	.521

	.970	2.571	2.072	3.610	.410	.316	.558
	.980	2.802	2.224	4.037	.447	.347	.606
	.990	3.210	2.486	4.818	.506	.396	.683

a. Logarithm base = 10.

Confidence Limits

BAC			95% Confidence Limits for Dosis		95% Confidence Limits for log(Dosis)[a]		
	Probability	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT	.010	.000	.000	.000	-3.879	-4.368	-3.654
	.020	.000	.000	.000	-3.801	-4.243	-3.596
	.030	.000	.000	.000	-3.752	-4.165	-3.559
	.040	.000	.000	.000	-3.715	-4.105	-3.532
	.050	.000	.000	.000	-3.684	-4.057	-3.509
	.060	.000	.000	.000	-3.658	-4.016	-3.490
	.070	.000	.000	.000	-3.636	-3.981	-3.473
	.080	.000	.000	.000	-3.616	-3.949	-3.458
	.090	.000	.000	.000	-3.597	-3.920	-3.444
	.100	.000	.000	.000	-3.580	-3.893	-3.431
	.150	.000	.000	.000	-3.510	-3.782	-3.378
	.200	.000	.000	.000	-3.454	-3.695	-3.335
	.250	.000	.000	.001	-3.406	-3.621	-3.298
	.300	.000	.000	.001	-3.363	-3.554	-3.264
	.350	.000	.000	.001	-3.324	-3.494	-3.232
	.400	.001	.000	.001	-3.286	-3.437	-3.201

.450	.001	.000	.001	-3.249	-3.383	-3.170
.500	.001	.000	.001	-3.213	-3.331	-3.138
.550	.001	.001	.001	-3.177	-3.280	-3.104
.600	.001	.001	.001	-3.141	-3.232	-3.068
.650	.001	.001	.001	-3.103	-3.184	-3.027
.700	.001	.001	.001	-3.063	-3.138	-2.980
.750	.001	.001	.001	-3.020	-3.093	-2.926
.800	.001	.001	.001	-2.972	-3.046	-2.861
.850	.001	.001	.002	-2.916	-2.996	-2.781
.900	.001	.001	.002	-2.846	-2.937	-2.676
.910	.001	.001	.002	-2.829	-2.924	-2.650
.920	.002	.001	.002	-2.811	-2.909	-2.622
.930	.002	.001	.003	-2.790	-2.893	-2.591
.940	.002	.001	.003	-2.768	-2.875	-2.556
.950	.002	.001	.003	-2.742	-2.855	-2.516
.960	.002	.001	.003	-2.712	-2.832	-2.469
.970	.002	.002	.004	-2.674	-2.803	-2.410
.980	.002	.002	.005	-2.625	-2.765	-2.333
.990	.003	.002	.006	-2.547	-2.707	-2.209

a. Logarithm base = 10.

RIWAYAT HIDUP

A. Identitas Diri

Nama : Wiwid Widia Yulhendrik

Alamat : Ds. Siluman, Kab. Subang, Jawa Barat

Email : wiwidwy14@gmail.com

B. Riwayat Pendidikan

Formal:

1. SMAN 1 Pabuaran (2018-2021)
2. UIN Walisongo Semarang

Non-Formal:

1. Ma'had Al-Jami'ah UIN Walisongo (2021-2022)
2. Pondok Pesantren Mahasiswa Rahmaniyah 2 (2022-2023)

C. Publikasi Ilmiah

1. Wahidah, F. B., Ainia, M., Yulhendrik, W. W., Khasanah, A. S., Cahyani, E. P., & Rohman, N. M. 2023. Potensi Obat Pada Tanaman Famili Boraginaceae Di Kebun Eka Karya Bali. Inovasi Lingkungan Hidup Berkelanjutan. *Proceeding National Student Conference* (NSC) 2023. ISBN: 978-623-5794-64-8