

**STUDI KEAMANAN *Bacillus thuringiensis* (MOSNON™)  
TERHADAP ORGANISME NON-TARGET *Daphnia* sp.  
(Diplostraca: Daphniidae)**

**SKRIPSI**

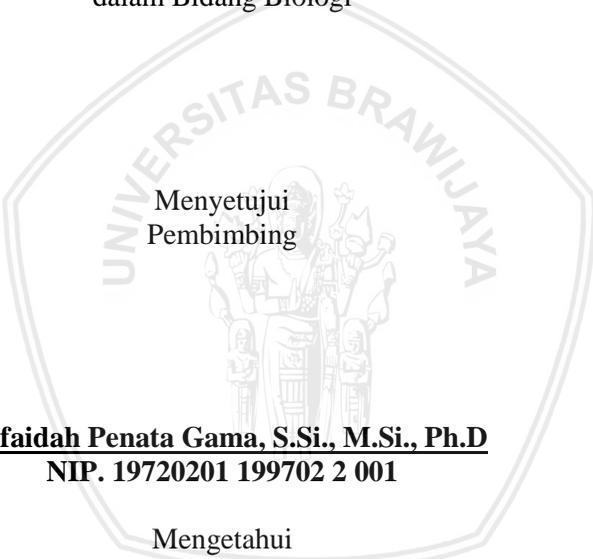
**oleh  
SAYYIDATUL AWALIA NUZULA  
145090100111008**



**JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2018**

**HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI****STUDI KEAMANAN *Bacillus thuringiensis* (MOSNON™)  
TERHADAP ORGANISME NON-TARGET *Daphnia* sp.  
(Diplostraca: Daphniidae)****SAYYIDATUL AWALIA NUZULA  
145090100111008**

Telah dipertahankan di depan Majelis Penguji pada tanggal 16 Mei 2018 dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains dalam Bidang Biologi



Menyetujui  
Pembimbing

**Zulfaidah Penata Gama, S.Si., M.Si., Ph.D**  
**NIP. 19720201 199702 2 001**

Mengetahui  
Ketua Program Studi S-1 Biologi  
Fakultas MIPA Universitas Brawijaya

**Rodliyati Azrianingsih, S.Si., M.Sc., Ph.D.**  
**NIP. 19700128 199412 2 001**

## HALAMAN PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Sayyidatul Awalia Nuzula

NIM : 145090100111008

Jurusan : Biologi

Penulis Skripsi berjudul : Studi Keamanan *Bacillus thuringiensis* (MOSNON™) terhadap Organisme Non-target *Daphnia* sp. (Diplostraca: Daphniidae)

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Skripsi ini adalah benar-benar karya saya sendiri dan bukan hasil plagiat dari karya orang lain. Karya-karya yang tercantum dalam Daftar Pustaka Skripsi ini semata-mata digunakan sebagai acuan/referensi
2. Apabila kemudian hari diketahui bahwa isi Skripsi saya merupakan hasil plagiat, maka saya bersedia menanggung akibat hukum dari keadaan tersebut

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran

Malang, 30 Mei 2018  
Yang menyatakan

Sayyidatul Awalia Nuzula  
145090100111008

## PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan namun terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar Pustaka diperkenankan untuk dicatat, tetapi pengutipan hanya dapat dilakukan seizin penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkannya.



# Studi Keamanan *Bacillus thuringiensis* (MOSNON™) terhadap Organisme Non-target *Daphnia* sp. (Diplostraca: Daphniidae)

Sayyidatul Awalia Nuzula., Zulfaidah Penata Gama

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
2018

## ABSTRAK

Demam berdarah dengue (DBD) merupakan penyakit yang disebabkan oleh virus *dengue* yang ditularkan melalui nyamuk *Aedes*. Vektor DBD dapat dikendalikan secara biologi salah satunya menggunakan *Bacillus thuringiensis*. Penggunaan *B. thuringiensis* kini mulai dikemas dalam produk MOSNON™. Tujuan dari penelitian adalah menganalisis pengaruh *B. thuringiensis* (MOSNON™) terhadap kematian dan perilaku organisme non-target *Daphnia* sp. Penelitian dilaksanakan pada September 2017 - April 2018 di Laboratorium Ekologi dan Diversitas Hewan serta Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya, Malang. *Daphnia* sp. didapatkan dari peternak pakan ikan di Daerah Singosari, Malang. *Daphnia* sp. dikultur di laboratorium selama 15 hari. Hasil kultur *Daphnia* sp. yang berumur 24 jam (*neonates*) digunakan untuk uji toksisitas. Penelitian dilakukan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan perlakuan yang digunakan adalah waktu pendedahan dan konsentrasi. Uji toksisitas dilakukan dengan menggunakan 10 individu *Daphnia* sp. *neonates* untuk setiap botol selai yang berisi 250 mL larutan MOSNON™. Konsentrasi MOSNON™ yang digunakan adalah 0, 5, 10, 15, dan 20 ppm dengan 4 kali pengulangan. Pengamatan kematian, perilaku dan faktor abiotik (suhu, pH, dan *dissolved oxygen*) dilakukan pada waktu pendedahan 0, 24, 48, 72 dan 96 jam. Analisis data menggunakan ANOVA. Hasil menunjukkan bahwa tidak ada kematian *Daphnia* sp. pada seluruh waktu pendedahan dan konsentrasi. *Daphnia* sp. juga tidak menunjukkan adanya perilaku abnormal. Oleh karena itu, MOSNON™ dapat dikatakan aman untuk organisme non-target (*Daphnia* sp.).

**Kata kunci:** *Bacillus thuringiensis*, *Daphnia* sp., MOSNON™, organisme non-target, keamanan

repository.ub.ac.id

## Safety Studies of *Bacillus thuringiensis* (MOSNON™) against Non-target organism *Daphnia* sp. (Diplostraca: Daphniidae)

Sayyidatul Awalia Nuzula., Zulfaidah Penata Gama  
Biology Department, Faculty of Mathematics and Natural Sciences,  
Brawijaya University  
2018

### ABSTRACT

Dengue Hemorrhagic Fever (DHF) is disease caused by dengue virus which transmitted through *Aedes* mosquitoes. DHF vectors can be controlled biologically using *Bacillus thuringiensis*. Nowadays, *B. thuringiensis* have been produced in MOSNON™ product. The aims of this research is to analyze effect of MOSNON™ toward mortality and behavior of non-target organism *Daphnia* sp.. The study was conducted on September 2017-April 2018 at Laboratory of Ecology and Animal Diversity and Laboratory of Microbiology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Brawijaya University. *Daphnia* sp. bought from food fish breeder in Singosari, Malang. *Daphnia* sp. culture at laboratory for 15 days. Newborn *Daphnia* sp. (neonates) was using for toxicity test. Toxicity test was observed by completed randomized design with observed factor were time exposure and concentration. Toxicity test using 10 neonates of *Daphnia* sp. for each bottle jam that contain 250 mL Mosnon™ solution. Toxicity test was carried out by several Mosnon™ concentration, there were 0 ppm, 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm and 20 ppm with 4 times repetition. Observation of mortality, behavior and abiotic factors (temperature, dissolved oxygen and pH) conducted at exposure time 0, 24, 48, 72 and 96 h. Data was analyzed using ANOVA. The result showed that all concentration have no effect to mortality and behavior of *Daphnia* sp.. Therefore, MOSNON™ is safe for non-target organism (*Daphnia* sp.).

**Keywords:** *Bacillus thuringiensis*, *Daphnia* sp., MOSNON™, non-target organism, safety

## KATA PENGANTAR

Alhamdulillah Robbil ‘Alaamiin, dengan ungkapan rasa syukur pada Allah SWT akhirnya penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi ini dengan baik.

Pada kesempatan ini, penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada :

1. Ibu Zulfaidah Penata Gama, S.Si., M.Si., Ph.D, selaku dosen pembimbing yang dengan sabar dan tulus memberi nasehat, motivasi, dan bimbingan.
2. Bapak Dr. Bagyo Yanuwadi dan Ibu Dr. Catur Retnaningdyah, M.Si selaku dosen penguji yang telah memberikan saran-saran yang bermanfaat.
3. Purnomo, S.Si., M.Ling, Hamdani D. Prasetyo, S.Si. M.Si dan M. Yusuf, S.Si., M.Si atas saran dan bantuan selama proses penelitian.
4. Orang tua penulis (Bapak Gunawan dan Ibu Kholilah Tuzzukhro), adik penulis (Sayyid Achmad Abdillah) dan Ghani Rifky Adian yang telah memberi banyak dukungan baik moril maupun materil sehingga penulis dapat menyelesaikan studi dan penelitian.
5. Dicky Candra P, Meylinda Kurniawati, Anggi Ayu W, Lisyia F. dan seluruh teman-teman seperjuangan di Lab. Ekologi dan Diversitas Hewan serta *Working Group* TADICOBIO.
6. Kartika Prabasari, Anisa F. Sinta, Siti Murfizyah, Siti Rodiyah, Violita Y, Hani K, Wiaam R dan segenap mahasiswa mahasiswa Jurusan Biologi FMIPA Universitas Brawijaya angkatan 2014.
7. Seluruh sivitas akademika Jurusan Biologi FMIPA Universitas Brawijaya.

Penulisan skripsi ini merupakan upaya optimal sebagai sarana terbaik pengembangan ilmu pengetahuan. Saran dan kritik yang membangun sangat diharapkan untuk menjadikan karya ini semakin bermanfaat

Malang, Mei 2018

Penulis

## DAFTAR ISI

<b>ABSTRAK.....</b>	<b>v</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>vi</b>
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	<b>vii</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>viii</b>
<b>DAFTAR TABEL.....</b>	<b>x</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xi</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN.....</b>	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR LAMBANG DAN SINGKATAN.....</b>	<b>xiv</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	2
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>4</b>
2.1 Demam Berdarah <i>Dengue</i> (DBD).....	4
2.2 Pengendalian Penyakit DBD.....	5
2.3 <i>Bacillus thuringiensis</i> .....	9
2.4 Mosnon™.....	12
2.5 <i>Daphnia</i> sp.....	14
<b>BAB III METODE PENELITIAN.....</b>	<b>19</b>
3.1 Waktu dan Tempat.....	19
3.2 Sampling dan Kultur <i>Daphnia</i> sp.....	19
3.3 Aklimatisasi <i>Daphnia</i> sp.....	20
3.4 Uji Keamanan Mosnon™ terhadap organisme non-target <i>Daphnia</i> sp.....	21
3.5 Pengukuran Faktor Abiotik.....	22
3.6 Analisis Data.....	22
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>23</b>
4.1 Hasil Pengukuran Faktor Abiotik saat Kultur <i>Daphnia</i> sp. ....	23
4.2 Kematian dan Perilaku <i>Daphnia</i> sp. saat Uji Keamanan.....	26

4.3 Hasil Pengukuran Faktor Abiotik saat Uji Keamanan.....	32
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>36</b>
5.1 Kesimpulan.....	36
5.2 Saran.....	36
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>37</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>42</b>



## DAFTAR TABEL

Nomor		Halaman
1	Kristal protein, strain dan organisme target.....	12
2	Persentase kematian <i>Daphnia</i> sp. saat uji keamanan menggunakan MOSNON™.....	27
3	Perilaku <i>Daphnia</i> sp. saat uji Keamanan menggunakan MOSNON™.....	31



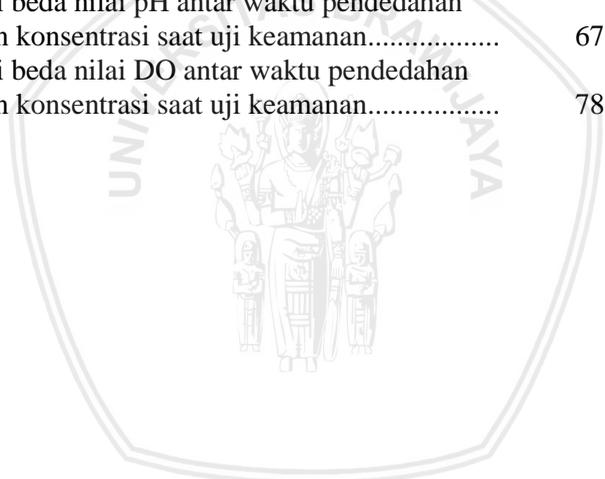
## DAFTAR GAMBAR

Nomor		Halaman
1	<i>Incidence rate</i> (IR) DBD per 100.000 penduduk di Indonesia pada tahun 1968-2015.....	4
2	Jumlah Kasus DBD di Kota Malang.....	5
3	Produk pengendali nyamuk secara kimiawi.....	6
4	Alat pengendali nyamuk secara mekanik.....	7
5	Pengendalian nyamuk secara fisika menggunakan teknik radiasi <i>Cobalt 60</i> .....	8
6	Agen pengendalian biologi.....	9
7	Morfologi <i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>Israelensis</i> .....	10
8	Mekanisme toksin <i>B. thuringiensis</i> .....	11
9	Produk MOSNON™.....	13
10	Petunjuk penggunaan MOSNON™.....	13
11	Reaksi MOSNON™ terhadap larva nyamuk <i>Aedes aegypti</i> .....	14
12	Morfologi dan anatomi <i>Daphnia</i> sp.....	15
13	Siklus hidup <i>Daphnia</i> sp.....	17
14	Ilustrasi perilaku abnormal <i>Daphnia</i> sp. dibandingkan dengan perilaku normal.....	18
15	Kolam pemeliharaan <i>Daphnia</i> sp. di peternak pakan ikan.....	19
16	Kultur <i>Daphnia</i> sp. di laboratorium menggunakan 3 akuarium yang berbeda....	20
17	<i>Daphnia</i> sp. betina dengan telur pada <i>brood chamber</i> .....	21
18	Pelaksanaan uji keamanan MOSNON™ terhadap organisme non-target <i>Daphnia</i> sp.....	22
19	Suhu air selama kultur pada 3 akuarium yang berbeda.....	23

Nomor		Halaman
20	Nilai pH selama kultur pada 3 akuarium yang berbeda.....	24
21	Nilai DO selama kultur pada 3 akuarium yang berbeda.....	25
22	Organ pencernaan <i>Daphnia</i> sp. sebelum dan setelah pendedahan menggunakan MOSNON™.....	28
23	<i>Daphnia</i> sp. setelah 96 jam pendedahan menggunakan MOSNON™.....	29
24	Ilustrasi perilaku <i>Daphnia</i> sp. saat uji keamanan menggunakan MOSNON™ pada seluruh konsentrasi dan waktu pendedahan.....	32
25	Suhu air selama uji keamanan menggunakan MOSNON™ pada waktu pendedahan dan konsentrasi yang berbeda.	33
26	Nilai pH selama uji keamanan menggunakan MOSNON™ pada waktu pendedahan dan konsentrasi yang berbeda.	34
27	Nilai DO selama uji keamanan menggunakan MOSNON™ pada waktu pendedahan dan konsentrasi yang berbeda.	35

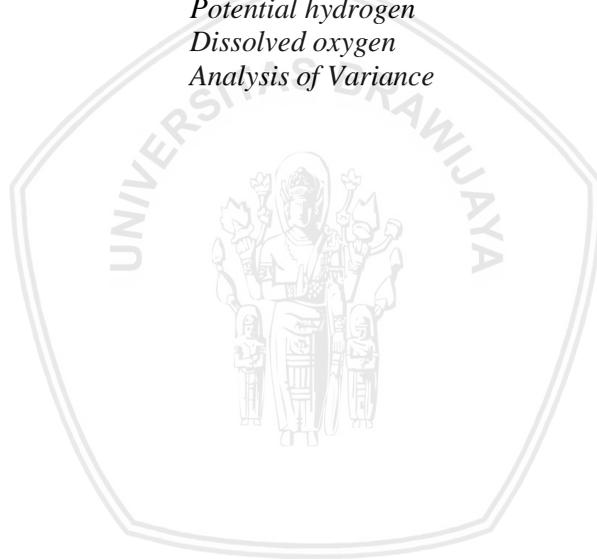
## DAFTAR LAMPIRAN

Nomor		Halaman
1	<i>Memorandum of Understanding</i> produk MOSNON™ antara Universitas Brawijaya dengan Kyushu Medical CO., LTD	42
2	Uji normalitas data saat kultur menggunakan <i>Kolmogorov Smirnov</i> .....	444
3	Uji beda nilai suhu antar hari saat kultur.....	45
4	Uji beda nilai pH antar hari saat kultur.....	51
5	Uji beda nilai DO antar hari saat kultur.....	60
6	Uji normalitas data saat uji Keamanan menggunakan <i>Kolmogorov Smirnov</i> .....	65
7	Uji beda nilai suhu antar waktu pendedahan dan konsentrasi saat uji keamanan.....	66
8	Uji beda nilai pH antar waktu pendedahan dan konsentrasi saat uji keamanan.....	67
9	Uji beda nilai DO antar waktu pendedahan dan konsentrasi saat uji keamanan.....	78



## DAFTAR SIMBOL DAN SINGKATAN

<u>Simbol/Singkatan</u>	<u>Keterangan</u>
DBD	Demam Berdarah <i>Dengue</i>
DEN-1	<i>Dengue-1</i>
DEN-2	<i>Dengue-2</i>
DEN-3	<i>Dengue-3</i>
DEN-4	<i>Dengue-4</i>
KLB	Kejadian Luar Biasa
LC <sub>50</sub>	<i>Lethal Concentration 50%</i>
kDa	Kilo Dalton
CFU/g	<i>Colony Forming Unit per gram</i>
ppm	<i>Part per million</i>
pH	<i>Potential hydrogen</i>
DO	<i>Dissolved oxygen</i>
ANOVA	<i>Analysis of Variance</i>



# BAB I PENDAHULUAN

## 1.1 Latar Belakang

Demam Berdarah Dengue (DBD) merupakan penyakit yang disebabkan oleh virus DEN-1, DEN-2, DEN-3 dan DEN-4 yang termasuk dalam Flavivirus. DBD ditularkan saat nyamuk *Aedes aegypti* dan *Aedes albopictus* menghisap darah manusia. Kedua jenis nyamuk dari genus *Aedes* tersebut termasuk dalam jenis nyamuk cosmopolit yang hampir terdapat di seluruh pelosok Indonesia (Ginanjari, 2008). Menurut data dari Direktorat Pengendalian Penyakit Tular Vektor dan Zoonosis Kementerian Kesehatan, hingga akhir Januari 2016, kejadian luar biasa (KLB) penyakit DBD dilaporkan sebanyak 12 Kabupaten dan 3 Kota dari 11 Provinsi di Indonesia (KEMENKESRI, 2016).

Nyamuk *Aedes* dapat dikendalikan baik menggunakan bahan kimia maupun pengendalian secara biologi. Pengendalian secara kimia dengan menggunakan Temephos (Abate) berbahaya bagi kesehatan manusia serta lingkungan (Kardinan, 2003). Temephos dapat menyebabkan penghambatan aktivitas kolinesterase pada manusia sehingga dapat menstimulasi sistem saraf. Paparan Temephos yang sangat tinggi dapat menyebabkan kematian (Irsyahma, 2017). Penggunaan Temephos yang terus menerus akan menyebabkan resistensi nyamuk. Larva nyamuk di beberapa negara dilaporkan telah mengalami resistensi terhadap Temephos. Fenomena resistensi larva nyamuk juga terdapat di Indonesia. Larva nyamuk di Daerah Tanjung Priok dan Mampang Prapatan dilaporkan menunjukkan status toleran, cenderung resisten dan telah resisten (Daniel, 2008). Pengendalian nyamuk secara biologi dapat dilakukan salah satunya dengan menggunakan bakteri *Bacillus thuringiensis*.

*B. thuringiensis* merupakan agen hayati yang memiliki keunggulan bersifat spesifik terhadap organisme target. Uji toksisitas *B. thuringiensis* terhadap organisme non-target yang telah dilakukan melibatkan 125 famili, 300 genus dan 400 spesies. Sebagian besar uji menyebutkan *B. thuringiensis* sangat efisien dan tidak mempengaruhi organisme non-target, namun, beberapa uji pada kondisi dosis yang terlalu tinggi akan mempengaruhi organisme non-target (Boisvert & Boisvert, 2010). Penggunaan *B. thuringiensis* kini mulai dikemas dalam produk yang mudah digunakan. Contohnya adalah MOSNON™ yang

dikembangkan oleh PT Kyushu Medical Co., LTD terletak di Hyakunen-kouen 1-1 Kurume, Fukuoka, Jepang. MOSNON™ merupakan biopestisida yang secara spesifik mengendalikan larva nyamuk *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus*, dan Anopheles. MOSNON™ mengandung 2% protein kristalin *Bacillus thuringiensis* serovar israelensis strain D142 10<sup>9</sup> CFU/g yang diklaim aman bagi kesehatan lingkungan (Harvest Ariake Indonesia, 2016).

Penelitian terkait penggunaan *B. thuringiensis* dalam bentuk MOSNON™ terhadap organisme *non-target* belum banyak dilakukan terutama di Indonesia. Salah satu contoh organisme *non-target* adalah *Daphnia* sp.. *Daphnia* sp. banyak ditenakkan oleh peternak ikan hias sebagai pakan alami dengan kandungan nutrisi yang baik bagi anakan ikan hias (Sudradjad, 2003). Perbanyakannya *Daphnia* sp. tersebut dilakukan di luar ruangan yang beresiko menjadi tempat berkembang biak larva nyamuk penyebab demam berdarah (*Aedes albopictus*) karena memiliki kedudukan niche ekologi yang sama dengan *Daphnia* sp.. *Daphnia* sp. banyak digunakan untuk uji toksisitas dan keamanan karena bersifat sensitif terhadap pencemaran air (Pangkey, 2009). *Daphnia* sp. merupakan organisme berstandar internasional yang digunakan untuk uji toksisitas (EPS, 1990). Uji keamanan merupakan hal terpenting dalam mengembangkan dan memproduksi larvasida. Tujuannya adalah untuk mempelajari pengaruh yang diakibatkan oleh zat larvasida terhadap organisme sekitar (Ine, 2012). Oleh karena itu, penelitian ini perlu dilakukan uji keamanan MOSNON™ untuk mengetahui tingkat keamanan produk MOSNON™ sebagai pengendali larva nyamuk terhadap hewan lain di sekitarnya.

## 1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah:

1. Bagaimana pengaruh *B. thuringiensis* (MOSNON™) terhadap kematian organisme non-target *Daphnia* sp.?
2. Bagaimana dampak *B. thuringiensis* (MOSNON™) terhadap perilaku organisme non-target *Daphnia* sp.?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

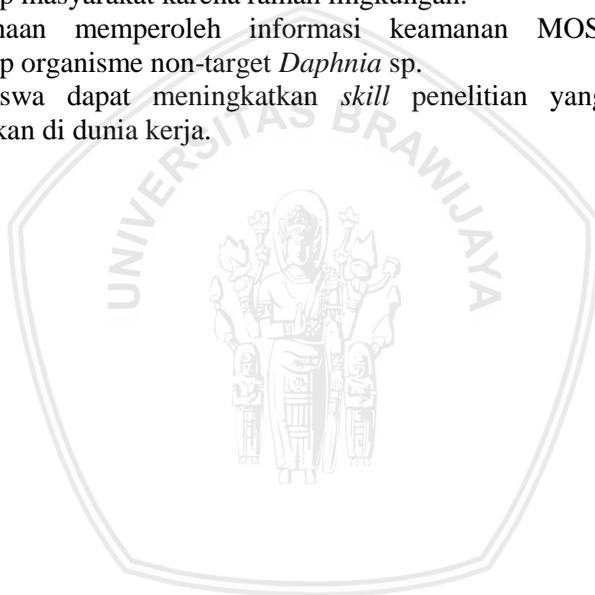
1. Menganalisis pengaruh *B. thuringiensis* (MOSNON™) terhadap kematian organisme non-target *Daphnia* sp.

2. Menganalisis dampak *B. thuringiensis* (MOSNON™) terhadap perilaku organisme non-target *Daphnia* sp.

#### 1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah:

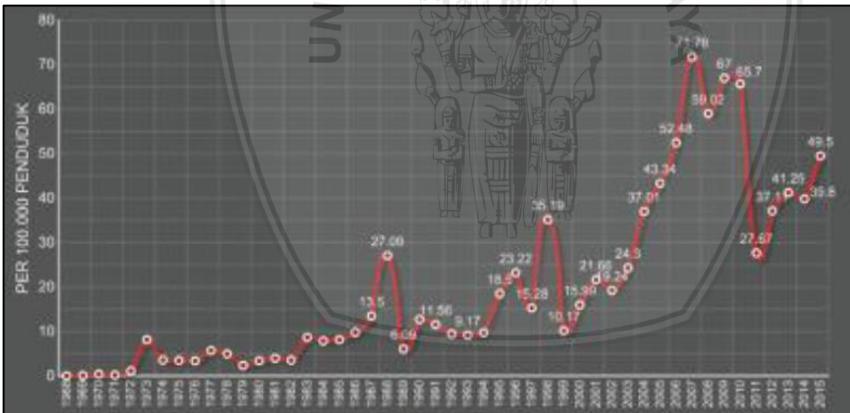
1. Menginformasikan kepada peternak *Daphnia* sp. bahwa MOSNON™ aman digunakan untuk membunuh larva nyamuk di kolam pemeliharaan.
2. Menambah data uji keamanan yang dilakukan terhadap *Daphnia* sp.
3. Pemerintah dapat merekomendasikan produk MOSNON™ terhadap masyarakat karena ramah lingkungan.
4. Perusahaan memperoleh informasi keamanan MOSNON™ terhadap organisme non-target *Daphnia* sp.
5. Mahasiswa dapat meningkatkan *skill* penelitian yang dapat digunakan di dunia kerja.



## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Demam Berdarah *Dengue* (DBD)

Demam Berdarah *Dengue* (DBD) merupakan penyakit yang disebabkan oleh flavivirus DEN-1, DEN-2, DEN-3 dan DEN-4. DBD ditularkan saat nyamuk *Aedes aegypti* dan *Aedes albopictus* menghisap darah manusia. (Ginanjar, 2008). Penyakit DBD merupakan penyakit endemik pada daerah tropis dan subtropis terutama saat memasuki musim penghujan. Indonesia mulai terganggu dengan masuknya DBD sejak tahun 1968. Hingga kini, DBD masih menjadi salah satu masalah kesehatan utama masyarakat Indonesia. Peningkatan pesat dapat dilihat dari kasus DBD mulai pada 1968 hanya sebanyak 58 kasus menjadi 126.675 kasus pada tahun 2015. Penyebab peningkatan kasus tersebut dikarenakan perpindahan penduduk yang tinggi, pengembangan wilayah perkotaan, perubahan iklim, perubahan kepadatan, distribusi penduduk, rendahnya kesadaran terhadap lingkungan dan faktor epidemiologi lainnya (InfoDATIN, 2016).

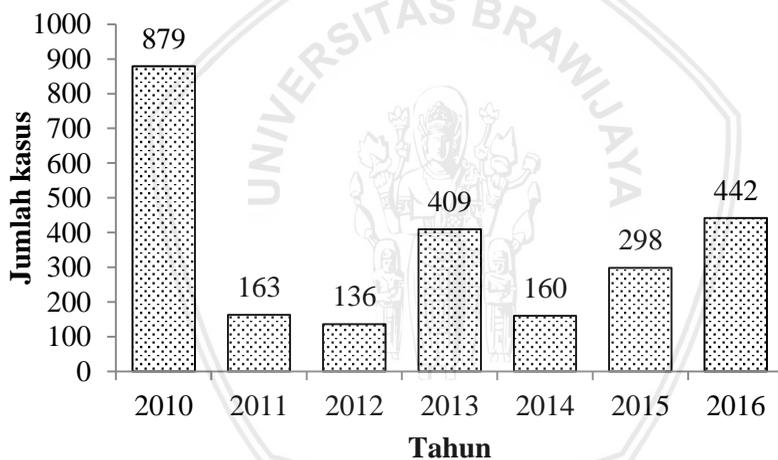


(InfoDATIN, 2016)

Gambar 1. *Incidence rate* (IR) DBD per 100.000 penduduk di Indonesia pada tahun 1968-2015

Kota Malang merupakan salah satu kota yang termasuk dalam daerah endemis DBD. Selama 10 tahun terakhir, terdapat fluktuasi penderita DBD. Tahun 2010 merupakan tahun dengan penderita DBD terbanyak

selama 10 tahun terakhir. Jumlah kasus DBD pada tahun 2010 mencapai 879 penderita dengan lima penderita meninggal dunia. Pada tahun 2011 terjadi penurunan jumlah kasus DBD, sebanyak 163 penderita dengan satu penderita diantaranya meninggal dunia. Pada tahun 2012 terdapat 136 kasus DBD. Peningkatan kasus DBD kembali terjadi pada tahun 2013 dengan 409 penderita dan dua penderita meninggal dunia. Jumlah kasus DBD pada tahun 2014 menurun menjadi 160 penderita dengan satu penderita meninggal. Pada tahun 2015 terjadi peningkatan kasus DBD hampir dua kali lipat dari sebelumnya, dengan 298 penderita dan 3 penderita meninggal dunia. Pada bulan Agustus 2016 penderita DBD sudah mencapai 442 dengan dua diantaranya meninggal. Peningkatan kasus DBD di Kota Malang disebabkan karena faktor lingkungan, perilaku masyarakat yang mendukung, vektor nyamuk, dan lain-lain (Dinas Kesehatan Kota Malang, 2016).



(Dinas Kesehatan Kota Malang, 2016)

Gambar 2. Jumlah Kasus DBD di Kota Malang

## 2.2 Pengendalian Penyakit DBD

Kasus penyakit DBD dapat ditekan dengan cara mengendalikan populasi nyamuk baik dalam fase dewasa maupun fase larva. Pengendalian nyamuk dapat dilakukan secara kimiawi, mekanik, fisik dan biologi.

Pengendalian secara kimiawi menggunakan bahan kimia untuk membunuh nyamuk contohnya minyak, bubuk hijau paris (*Paris green*), serbuk abate (Temephos), herbisida dan *residual spray* (*fogging*). Minyak solar bekas atau minyak tanah dapat digunakan untuk membunuh larva nyamuk dengan cara dituangkan ke tempat perindukan nyamuk sehingga larva nyamuk akan mati karena tidak dapat muncul ke permukaan untuk mengambil oksigen. Bubuk hijau paris dan Abate merupakan bahan yang biasa digunakan untuk membunuh larva nyamuk dengan cara ditaburkan ke dalam bak penampungan air. Bahan pembunuh tanaman (herbisida) juga dapat digunakan dengan cara mematikan tumbuhan yang digunakan sebagai tempat berlindung dan berkembang biak nyamuk. *Residual spray* digunakan untuk membunuh nyamuk dewasa, biasanya digunakan dalam bentuk *fogging* atau dalam kemasan dengan merk komersial yang dapat digunakan sehari-hari. Pengendalian secara kimiawi dapat menyebabkan nyamuk resisten dan berbahaya bagi lingkungan dan manusia karena mengandung bahan beracun. Selain itu, penggunaan senyawa kimiawi ternyata juga dapat membunuh organisme non-target dan akan mengancam ekosistem (Kardinan, 2003; Natadisastra & Agoes, 2005).



(Bernama, 2016; Siti, 2016)

Gambar 3. Produk pengendali nyamuk secara kimiawi, a) Abate; b) *residual spray*

Pengendalian secara mekanik merupakan pengendalian yang membutuhkan alat, misalnya, perangkap, penghalau dan pemukul. Perangkap nyamuk dapat dibuat dengan menggunakan botol bekas yang diisi dengan air hangat, gula dan ragi. Campuran gula dan ragi akan

repository.ub.ac.id

menghasilkan gas karbondioksida yang menarik perhatian nyamuk sehingga akan terperangkap di dalam botol (Setiyoko, 2016). Penghalau nyamuk contohnya adalah kelambu yang dipasang diatas tempat tidur dan memasang kawat kasa pada lubang ventilasi. Pemukul nyamuk dapat menggunakan pemukul lalat atau dengan menggunakan raket listrik. Pengendalian secara mekanik dirasa kurang efektif karena membutuhkan tenaga dan waktu yang cukup untuk melaksanakannya (Natadisastra & Agoes, 2005).



(Setiyoko, 2016; Specky, 2017; Jakartanotebook, 2017)

Gambar 4. Alat pengendali nyamuk secara mekanik, a) perangkap botol; b) kelambu; c) raket listrik

Pengendalian secara fisika, contohnya, pemanasan atau pendinginan suhu dan teknik memandulkan nyamuk jantan menggunakan radiasi *Cobalt 60*. Pemanasan dapat menggunakan suhu 60 °C sedangkan pendinginan menggunakan suhu pembekuan. Teknik tersebut jika dilaksanakan terus-menerus dapat menyebabkan punahnya nyamuk. Hal tersebut dikarenakan nyamuk jantan mandul yang dilepaskan ke alam

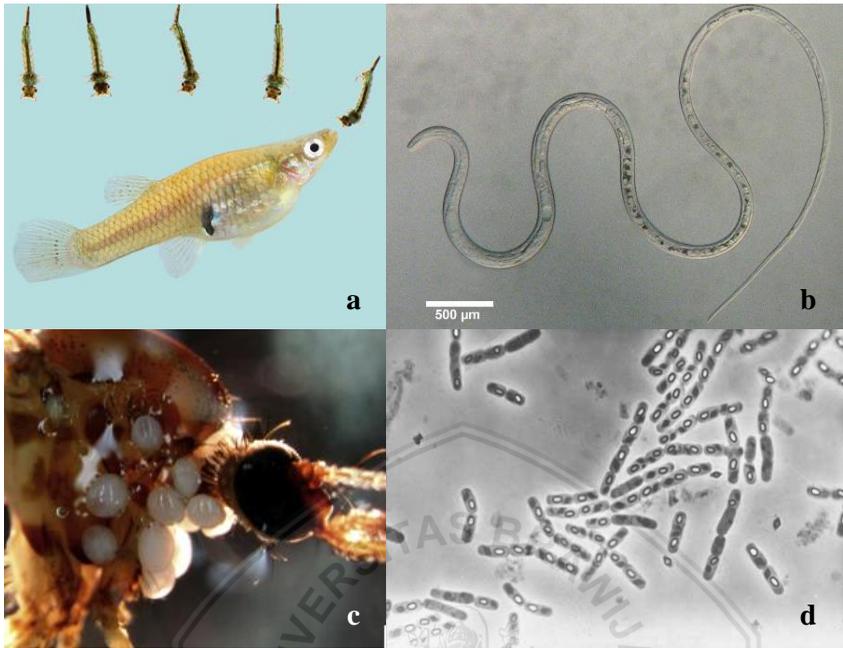
tidak dapat menghasilkan keturunan dan akan mengurangi generasi (Natadisastra & Agoes, 2005).



(LaMotte, 2016)

Gambar 5. Pengendalian nyamuk secara fisika menggunakan teknik radiasi *Cobalt 60*

Pengendalian yang terakhir adalah secara biologi. Pengendalian secara biologi menggunakan organisme hidup yang dapat menyebabkan vektor DBD mengalami kesakitan hingga kematian. Contohnya menggunakan predator, parasit, virus, jamur dan bakteri. Predator berupa ikan pemangsa larva nyamuk antara lain ikan kepala timah (*Panchac panchac*), *Lebistus reticularis*, ikan gabus (*Gambusia affinis*). Parasit larva nyamuk adalah cacing Nematoda *Romanomermis culiciforax*, *Pleisthophora culicis* dan *Nosema algerae* yang dapat menembus badan larva nyamuk dan akan berperan sebagai parasit. Parasit juga dapat menjangkit nyamuk dewasa yang baru keluar dari pupa yaitu tungau air (*Arrenurus mandarazi*). Virus yang dapat mengendalikan larva nyamuk adalah *Cytoplasmic polyhedrosis*. Jamur *Coelomomyces stegomyiae* mampu mengendalikan nyamuk *Culex* dan bakteri *B. thuringiensis* dan *B. sphaericus* mampu mengendalikan larva *Anopheles* dan *Aedes* (Natadisastra & Agoes, 2005).

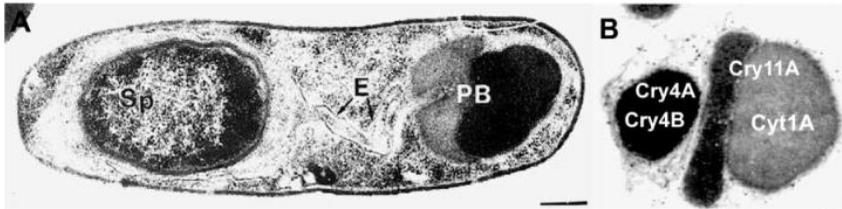


(Rsaviskas, 2017; Viklund, 2012; Atwa dkk., 2017; Anna, 2009)

Gambar 6. Agen pengendalian biologi, a) ikan gabus (*Gambusia affinis*); b) *Romanomermis culiciforax*; c) *Arrenurus mandaraszii*; d) *Bacillus thuringiensis*

### 2.3 *Bacillus thuringiensis*

Bakteri yang digunakan dalam pengendalian nyamuk secara biologi adalah *Bacillus thuringiensis*. *B. thuringiensis* merupakan bakteri *ubiquitous* gram positif, membentuk *parasporal crystal* pada fase pertumbuhan stasioner dan merupakan bakteri aerob. *Parasporal crystal* tersebut menyebabkan aktivitas insektisida terhadap nyamuk (Schnepf dkk., 1998). *Parasporal crystal* memiliki sebutan lain yaitu *parasporal inclusion*, *crystalline inclusion*, *toxic inclusion*, *crystal*, *protoxin* atau *delta-endotoxin*. *Parasporal crystal* memiliki bentuk *spherical* (oval), memiliki *enveloped*, berdiameter antara 0.7 – 1.2  $\mu\text{m}$ . *Parasporal crystal* memiliki 4 protein utama, yaitu, Cyt1A(27.3 kDa), Cry4A (128 kDa), Cry4B (134 kDa) dan Cry11A (72 kDa) (Boisvert & Boisvert, 2010; Federici dkk., 2003).

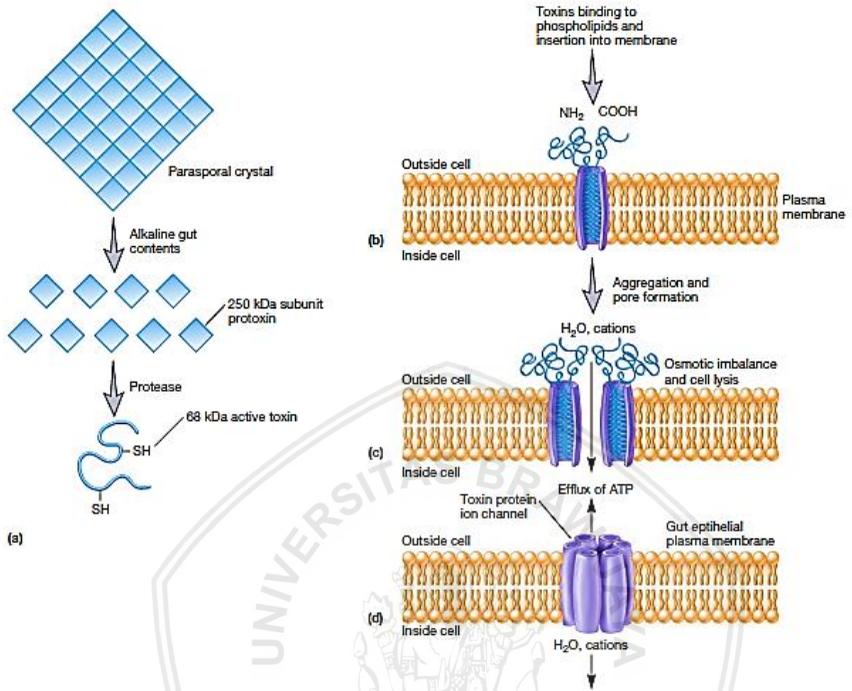


(Federici dkk., 2003)

Gambar 7. Morfologi *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* , a) Sel yang mengalami sporulasi, Sp: spore; E: eksosporium, PB: parasporal crystal; b) tipe *parasporal crystal* yang menunjukkan *individual inclusion toxin* dan komposisi toksin.

Mekanisme kerja *B. thuringiensis* di dalam tubuh larva nyamuk dimulai dari endotoksin yang membentuk molekul protoksin stabil pada *Parasporal crystal*. Setelah sporulasi, kemudian sporangium akan lisis dan  *durable spore* serta *Parasporal crystal* akan terbebas. *Parasporal crystal* beserta sub-unitnya (*inclusion*) merupakan *inert* protoksin dan tidak dapat langsung memperlihatkan aktivitas biologi. *Parasporal crystal* akan mulai aktif ketika tercerna dan larut pada pH tinggi di dalam pencernaan larva nyamuk. Setelah *parasporal crystal* teraktivasi, enzim proteolitik pada pencernaan atau enzim proteolitik yang berasosiasi dengan *inclusion* akan melepaskan protein fraksinasi sehingga larvasida akan mulai teraktivasi dan membunuh larva (Boisvert & Boisvert, 2010).

Kemampuan *B. thuringiensis* dalam membunuh larva nyamuk dipengaruhi oleh densitas sel bakteri dan umur larva. Semakin tinggi densitas bakteri maka akan memiliki kristal protein semakin banyak, sehingga dapat menyebabkan lebih banyak kematian larva. Umur larva nyamuk yang paling banyak mengalami kematian setelah dilakukan pendedahan adalah instar 1. Larva instar 4 lebih dapat bertahan dari toksin *B. thuringiensis* karena bagian *midgut* sudah berkembang dan memiliki jaringan epitel dan membran peritrofik pada jaringan intestinal. Membran peritrofik tersebut yang akan melindungi jaringan epitel dari toksin *B. thuringiensis* (Gama, 2014). *Bacillus thuringiensis* memiliki nilai  $LC_{50}$  antara  $10-13 \text{ mg mL}^{-1}$  untuk larva nyamuk instar 4 (Federici dkk., 2003).



(Willey dkk., 2008)

Gambar 8. Mekanisme toksin *B. thuringiensis*. a) melepaskan protoksin dari *parasporal body* dan dimodifikasi oleh protease di dalam saluran pencernaan; b) molekul 68 kDa toksin aktif masuk ke dalam membran; c) penyatuan dan pembentukan pori secara menyilang; d) Pori menutup membentuk heksagonal dan menyebabkna sel tidak seimbang dan lisis

*B. thuringiensis* memiliki keunggulan bersifat spesifik terhadap organisme target (tabel 1). Uji toksisitas *B. thuringiensis* terhadap organisme non-target yang telah dilakukan melibatkan 125 famili, 300 genus dan 400 spesies. Sebagian besar uji menyebutkan *B. thuringiensis* sangat efisien dan tidak mempengaruhi organisme non-target, namun, beberapa uji pada kondisi dosis yang terlalu tinggi akan mempengaruhi organisme non-target (Boisvert & Boisvert, 2010).

Tabel 1. Kristal protein, strain dan organisme target

Kristal protein	Strain bakteri	Organisme target
Cry4Aa1	<i>B.t. israelensis</i> 4Q2-71	<i>Aedes aegypti</i> , <i>Anopheles stephensi</i> , <i>Culex pipiens</i> (Diptera: Culicidae)
Cry4Ba1	<i>B.t. israelensis</i> 4Q2-72	<i>Aedes aegypti</i> (Diptera: Culicidae)
Cry10Aa1	<i>B.t. israelensis</i> ONR60A	<i>Aedes aegypti</i> (Diptera: Culicidae)
Cry11Aa1	<i>B.t. israelensis</i> HD-567	<i>Aedes aegypti</i> , <i>Anopheles stephensi</i> , <i>Culex pipiens</i> (Diptera: Culicidae)
Cry11Ba1	<i>B.t. jegathensan</i> 367	<i>Aedes aegypti</i> , <i>Anopheles stephensi</i> , <i>Culex pipiens</i> (Diptera: Culicidae)
Cry11Bb1	<i>B.t. medellin</i>	<i>Aedes aegypti</i> , <i>Anopheles albimanus</i> , <i>Culex quinquefasciatus</i> (Diptera: Culicidae)
Cry16Aa1	<i>Clostridium bifermentans</i> <i>malasya</i> CH18	<i>Aedes aegypti</i> , <i>Anopheles stephensi</i> , <i>Culex pipiens</i> (Diptera: Culicidae)
Cry19Aa1	<i>B.t.jegethesan</i>	<i>Anopheles stephensi</i> , <i>Culex pipiens</i> (Diptera: Culicidae)
Cry20Aa1	<i>B.t. fukuokaensis</i>	<i>Aedes aegypti</i> (Diptera: Culicidae)
Cry21Aa1	<i>B.t. higo</i>	<i>Culex pipiens molestus</i> (Diptera: Culicidae)
Cyt1Aa1	<i>B.t. israelensis</i> IPS82	<i>Aedes aegypti</i> , <i>Anopheles stephensi</i> , <i>Culex pipiens</i> (Diptera: Culicidae)
Cyt1Ab1	<i>B.t. Medellin</i> 163-131	<i>Aedes aegypti</i> , <i>Anopheles stephensi</i> , <i>Culex pipiens</i> (Diptera: Culicidae)
Cyt2Aa1	<i>B.t. kyushuensis</i>	<i>Aedes aegypti</i> , <i>Anopheles stephensi</i> , <i>Culex pipiens</i> (Diptera: Culicidae)

(Lepe dan Suero, 2012)

## 2.4 MOSNON™

MOSNON™ merupakan produk yang dikembangkan oleh PT Kyushu Medical Co., LTD yang berlokasi di Hyakunen-kouen 1-1 Kurume, Fukuoka, Jepang. MOSNON™ merupakan biopestisida yang secara spesifik mengendalikan larva nyamuk *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus*, dan *Anopheles*. MOSNON™ mengandung 2% protein kristalin *Bacillus thuringiensis* serovar *israelensis* strain D142 10<sup>9</sup> CFU/g yang diklaim aman bagi kesehatan lingkungan. MOSNON™

memiliki keunggulan yaitu hanya bekerja pada organisme target dan mampu menyebar menggunakan zat aktif yang terkandung sehingga menghasilkan buih yang dapat menyebar. Cara penggunaan MOSNON™ adalah dengan memasukan satu tablet MOSNON™ ke dalam 200 L air (Harvest Ariake Indonesia, 2016).



(Harvest Ariake Indonesia, 2016)

Gambar 9. Produk MOSNON™



(Harvest Ariake Indonesia, 2016)

Gambar 10. Petunjuk penggunaan MOSNON™

Uji efikasi MOSNON™ terhadap nyamuk *Aedes aegypti* pada lokasi berbeda yaitu di belakang gedung FMIPA UB, kebun FMIPA UB dan kebun biologi telah dilakukan dengan menggunakan konsentrasi 0; 0.1; 0.25; 0.5; 1; 2; dan 4 ppm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai

LC<sub>50</sub> didapatkan dari konsentrasi 2 ppm dengan waktu pendedahan 48 jam berlokasi di belakang gedung FMIPA UB. Nilai tersebut mengindikasikan konsentrasi terendah yang dapat membunuh 100% larva nyamuk *Aedes aegypti* pada instar 3 (Ristianadewi dkk., 2016).



(Ristianadewi dkk., 2016)

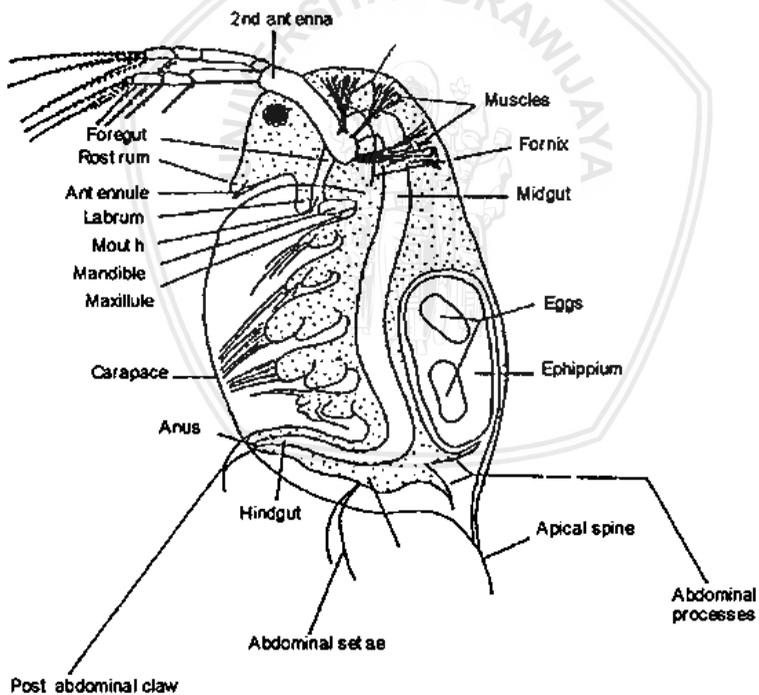
Gambar 11. Reaksi MOSNON<sup>TM</sup> terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*

## 2.5 *Daphnia* sp.

Klasifikasi *Daphnia* sp. menurut Myers dkk. (2017) adalah Kingdom: Animalia; Filum: Arthropoda; Kelas: Branchiopoda; Ordo: Diplostraca; Famili: Daphniidae; Genus: *Daphnia*; Spesies: *Daphnia* sp.. *Daphnia* sp. merupakan zooplankton yang tergolong dalam subfilum krustasea dan memiliki habitat di air tawar. *Daphnia* sp. sering dikenal oleh masyarakat sebagai kutu air. *Daphnia* sp. merupakan salah satu hewan air tawar yang dapat digunakan untuk uji toksisitas dan keamanan. *Daphnia* sp. tersebar luas di habitat perairan tawar dalam jumlah yang banyak, sehingga mudah untuk didapatkan. *Daphnia* sp. merupakan zooplankton yang berperan sebagai konsumen pertama sekaligus sebagai mangsa dari beberapa ikan sehingga menduduki peran penting dalam rantai makanan di perairan. Siklus hidup *Daphnia* sp. relatif singkat dan mudah dikultur di laboratorium. *Daphnia* sp. merupakan hewan yang sensitif terhadap pencemaran air dan faktor

lingkungan di lingkungan sekitar. Jumlah volume air uji dan tempat yang dibutuhkan untuk pengujian menggunakan *Daphnia* sp. sedikit sehingga lebih efisien (Garno, 2003).

*Daphnia* sp. memiliki warna berbeda tergantung dari habitatnya. Ukuran *Daphnia* sp. antara 0.1-3 mm, tubuh lonjong pipih dan terdapat ruas-ruas yang tidak terlihat jelas. *Daphnia* sp. memiliki sebuah mata majemuk di kepalanya, *occelus*, dan lima pasang *antennule* pada bagian ventral yang berukuran kecil dan berfungsi sebagai alat penciuman. *Daphnia* sp. memiliki antena yang berfungsi sebagai alat berenang yang berukuran besar, memiliki jumlah sepasang dan masing-masing mempunyai pangkal ruas yang bercabang dua. Cabang tersebut menjadi ramus dorsal dan ramus ventral yang memiliki *setae* (gambar 12). *Setae* tersebut menjadi penanda untuk mengidentifikasi dan mengklasifikasi spesies. Bagian tubuh *Daphnia* sp. tertutup oleh cangkang kitin transparan (Suwignyo 1989; Casmuji, 2002).



(FAO, 1996)

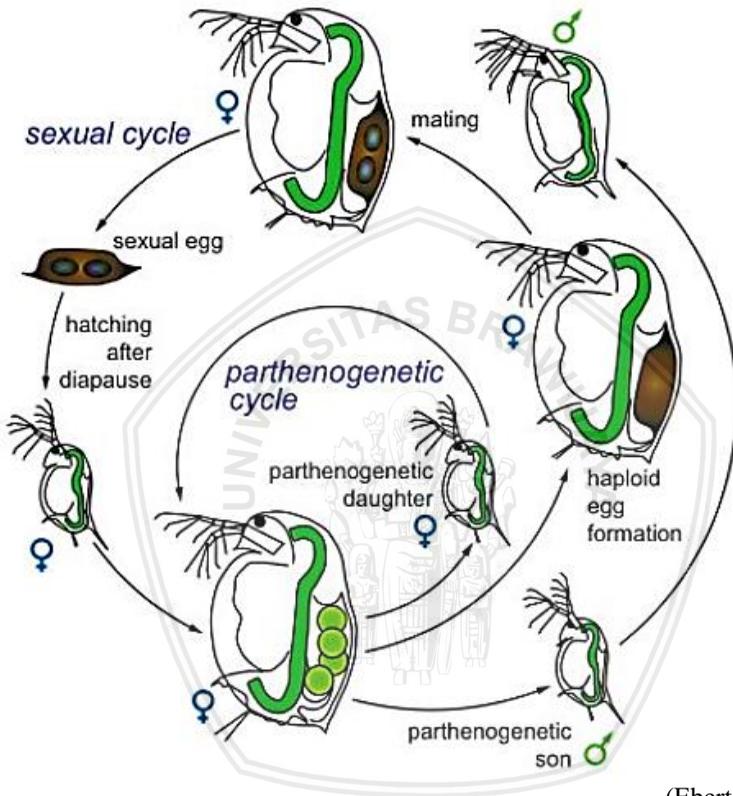
Gambar 12. Morfologi dan anatomi *Daphnia* sp.

Siklus hidup *Daphnia* sp. memiliki fase seksual dan aseksual (parthenogenesis) (gambar 13). Ketika memasuki masa pertumbuhan, *Daphnia* sp. akan memiliki karakter yaitu reproduksi aseksual (*apomixis*). *Daphnia* sp. betina dalam kondisi yang menguntungkan akan memproduksi telur partenogenetis (*amictic*) setiap kali molting. Telur tersebut berada di *brood chamber* yang terletak di dorsal bagian bawah dari karapas dan tertutup abdomen. Perkembangan telur berlangsung cepat. Pada suhu 20 °C, embrio akan menetas dari telur dalam waktu satu hari, tetapi masih di dalam *brood chamber* untuk berkembang kembali. Setelah tiga hari, *Daphnia* sp. akan keluar dari induknya melalui *ventral flexion* di post-abdomen. *Daphnia* sp. juvenil memiliki morfologi yang sama dengan *Daphnia* sp. dewasa, tetapi *brood chamber* masih belum berkembang. *Daphnia* sp. juvenil akan melewati empat hingga enam instar juvenil sebelum memasuki fase *primipare* (memproduksi telur untuk pertama kali). Fase *primipare* *Daphnia* sp. terjadi pada umur 5-10 hari pada suhu 20 °C, tetapi dapat berlangsung lebih lama jika kondisi lingkungan kurang menguntungkan. *Daphnia* sp. betina yang telah dewasa dapat memproduksi telur setiap 3-4 hari selama hidupnya. *Daphnia* sp. betina di laboratorium memiliki umur lebih dari 2 bulan (Ebert, 2005).

Kehidupan *Daphnia* sp. di perairan lebih didominasi oleh *Daphnia* sp. yang bereproduksi secara aseksual. Telur berkembang dan menetas menjadi embrio kemudian tumbuh menjadi dewasa di ruang penetasan (*brood chamber*). Anakan akan keluar dalam bentuk setengah dewasa pada saat induk mengalami pergantian kulit (Ansaka, 2002). Ketika kondisi kurang menguntungkan, produksi telur secara aseksual berkurang dan beberapa telur menetas dan berkembang menjadi individu jantan. Kemunculan *Daphnia* sp. jantan menyebabkan populasi bereproduksi seksual. *Daphnia* sp. memiliki empat periode kehidupan yaitu telur, juvenil, remaja dan dewasa. *Daphnia* sp. betina bertelur setiap tiga hari dan dapat memproduksi telur hingga 100 butir. Kemampuan *Daphnia* sp. betina memproduksi telur dimulai dari usia empat hari dan dapat bertelur sebanyak enam kali selama hidupnya. Telur *Daphnia* sp. yang tidak dibuahi akan menghasilkan telur dorman (Pangkey, 2009).

*Daphnia* sp. merupakan *filter feeders* yaitu memfilter air untuk mendapatkan makanannya. Pakan *Daphnia* sp. berupa bakteri, ragi, alga bersel tunggal, detritus dan bahan organik terlarut. *Daphnia* sp.

membutuhkan lingkungan dengan suhu optimum 25-30 °C, oksigen terlarut lebih dari 1 ppm dan pH antara 6.5-8.5. Kenaikan atau penurunan faktor lingkungan secara drastis dapat menghasilkan individu jantan karena kondisi tersebut dapat mempengaruhi sistem kromosom dan mengubah metabolisme (Pennack, 1989).



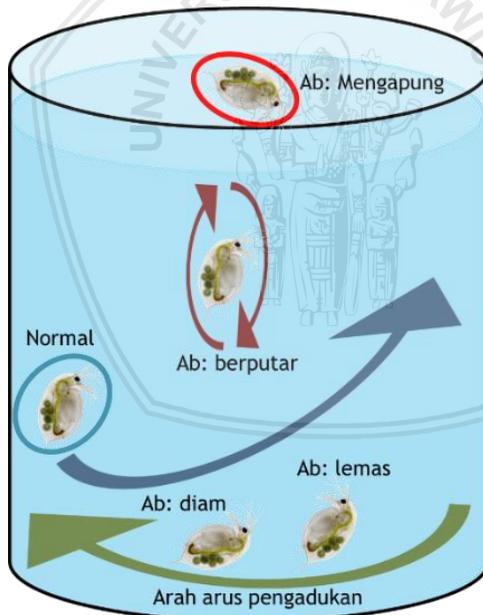
(Ebert, 2005)

Gambar 13. Siklus hidup *Daphnia* sp.

*Daphnia* sp. memiliki ciri berenang tersendat-sendat. Pergerakan *Daphnia* sp. dilakukan secara vertikal. Perilaku tersebut diinisiasi oleh gerakan antena besar yang digunakan untuk mengatur arah pergerakan saat berenang. Gerakan antena yang cepat menyebabkan pergerakan *Daphnia* menuju permukaan air (vertikal) secara cepat. Kepadatan *Daphnia* sp. yang relatif tinggi menyebabkan *Daphnia* sp. tenggelam.

*Daphnia* sp. yang hanya memiliki sedikit pergerakan akan tenggelam dengan cepat ke dasar air. *Daphnia* sp. melakukan migrasi vertikal ke permukaan air pada malam hari dan kembali ke dasar pada pagi dan siang hari. *Daphnia* sp. akan bergerak menuju permukaan air saat malam tiba dan akan turun ke dasar air di pagi dan siang hari. Perilaku ini dilakukan untuk menghindari predator. *Daphnia* sp. akan menghindari predatornya yaitu ikan pada siang hari dan akan memangsa fitoplankton pada malam hari (Ebert, 2005).

Perilaku *Daphnia* sp. ketika uji keamanan dikatakan normal karena sesaat setelah pengadukan media selama 15 detik, *Daphnia* sp. berenang melawan arus dan menuju ke permukaan air. Sedangkan apabila terjadi perilaku abnormal, *Daphnia* sp. akan terlihat diam atau melakukan sedikit pergerakan di dasar air, berenang terbawa arus, berenang dengan pola memutar atau mengapung di permukaan air (gambar 14). Perilaku abnormal *Daphnia* sp. mengindikasikan bahwa terjadi tekanan (*stress*) terhadap lingkungan (EPS, 1990).



(Modifikasi EPS, 1990)

Gambar 14. Ilustrasi perilaku normal dan abnormal *Daphnia* sp. (keterangan, Ab: abnormal)

## BAB III METODE PENELITIAN

### 3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan pada bulan Oktober 2017 sampai dengan April 2018 di Laboratorium Ekologi dan Diversitas Hewan serta Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya, Malang. Pengambilan sampel *Daphnia* sp. dilakukan pada November 2017 di peternak pakan ikan di daerah Singosari, Malang, Jawa Timur.

### 3.2 *Sampling* dan Kultur *Daphnia* sp.

*Daphnia* sp. didapatkan dari peternak pakan ikan di daerah Singosari, Malang, Jawa Timur (gambar 15). *Daphnia* sp. dibawa ke laboratorium dengan cara ditempatkan pada botol bekas air mineral berukuran 600 mL. Bagian mulut botol ditutup dengan kain kasa agar oksigen dapat masuk. Botol kemudian diletakan ke dalam *ice box* supaya suhu yang dibutuhkan *Daphnia* sp. tetap terjaga.



Gambar 15. Kolam pemeliharaan *Daphnia* sp. di peternak pakan ikan

*Daphnia* sp. kemudian dikultur di dalam tiga akuarium yang berbeda (gambar 16) yaitu dua akuarium kaca beraerator dengan ukuran 20 cm x

30 cm x 15 cm berisi air sumur sebanyak 3 L dan akuarium plastik berisi air sumur sebanyak 500 mL. Perbedaan akuarium kultur dilakukan karena kondisi laboratorium yang tidak dapat diprediksi. Perbedaan akuarium kultur memperbanyak *Daphnia* sp. dengan lebih mudah dan cepat. Air sumur yang digunakan telah diendapkan selama tiga hari. *Daphnia* sp. diberi pakan setiap tiga hari sekali menggunakan *Spirulina platensis powder* dengan takaran 0,5 g yang dilarutkan dalam 50 mL air sumur. Kultur dilakukan selama 15 hari. Faktor abiotik berupa suhu air, pH dan DO (*Dissolved Oxygen*) diukur setiap 24 jam dengan tiga kali pengulangan untuk mengetahui keadaan lingkungan *Daphnia* sp. pada saat kultur (EPS, 1990).



Gambar 16. Kultur *Daphnia* sp. di laboratorium menggunakan tiga akuarium yang berbeda

### 3.3 Aklimatisasi *Daphnia* sp.

Aklimatisasi terhadap *Daphnia* sp. dilaksanakan sebelum uji keamanan. Hasil kultur *Daphnia* sp. yang memiliki telur, dicirikan dengan bagian *brood chamber* nampak bintik hitam (gambar 17) dipisahkan dari akuarium kultur dan dimasukkan ke cawan petri berisi air sumur untuk ditetaskan. *Daphnia* sp. pada cawan petri diberi pakan berupa *Spirulina platensis powder* dengan takaran 0.5 g yang dilarutkan dalam 50 mL air sumur sebanyak 2-3 tetes. *Daphnia* sp. kemudian diamati setiap 24 jam sekali untuk mengetahui penetasan telur. *Daphnia* sp. yang menetas kemudian digunakan sebagai hewan uji (Dainy, 2009).



Gambar 17. *Daphnia* sp. betina dengan telur pada *brood chamber*

### 3.4 Uji Keamanan MOSNON™ terhadap organisme non-target *Daphnia* sp.

Uji keamanan produk MOSNON™ terhadap organisme non-target *Daphnia* sp. dilakukan menggunakan *Daphnia* sp. dengan umur satu hari karena sangat sensitif terhadap racun (Aprilia & Rachmatiah, 2013). Penelitian dilakukan pada skala laboratorium menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan faktor penelitian meliputi waktu pendedahan dan konsentrasi pada masing-masing uji. Perlakuan diulang sebanyak empat kali dengan parameter uji adalah persentase kematian *Daphnia* sp. dan perilaku. Uji keamanan dilakukan dengan cara 10 ekor *Daphnia* sp. berumur 24 jam dimasukkan ke dalam botol selai berisi 250 mL larutan MOSNON™ sesuai konsentrasi (gambar 18) (Bartram & Balance, 1996; EPS, 1990). Konsentrasi yang digunakan adalah 0 ppm; 5 ppm; 10 ppm; 15 ppm; 20 ppm. Penentuan konsentrasi didasarkan pada konsentrasi efektif yang digunakan untuk membunuh 100% larva nyamuk *Aedes aegypti* adalah 2 ppm (Ristianadewi dkk., 2016). Pengamatan kematian dan perilaku *Daphnia* sp. dihitung pada waktu pendedahan 24, 48, 72 dan 96 jam (OECD, 1993).

Perilaku yang diamati adalah perilaku abnormal yaitu diam, lemas, berputar dan mengapung. Sebelum dilakukan pengamatan, media dalam cawan petri diaduk perlahan selama 15 detik. Kematian *Daphnia* sp. ditandai dengan tidak adanya pergerakan, berada di dasar air dan

pengelupasan kulit. Sedangkan *Daphnia* sp. yang masih hidup ditandai dengan pergerakan aktif di permukaan air (EPS, 1990).



Gambar 18. Pelaksanaan uji keamanan MOSNON™ terhadap organisme non-target *Daphnia* sp.

### 3.5 Pengukuran Faktor Abiotik

Faktor abiotik diukur pada waktu 24, 48, 72 dan 96 jam dengan tiga kali pengulangan berupa suhu air, pH dan DO. Suhu air dan DO diukur dengan DO meter sedangkan pH diukur dengan pH meter. Faktor abiotik berupa suhu air, pH dan DO wajib diukur saat uji toksisitas minimal diawal dan akhir uji (EPS, 1990). Pengukuran faktor abiotik dilakukan untuk mengetahui kondisi lingkungan di media hidup *Daphnia* sp. saat dilakukan uji toksisitas.

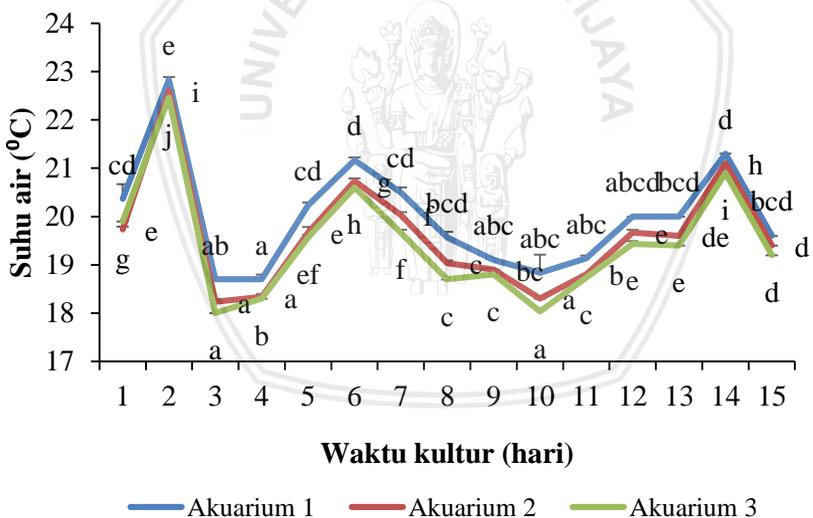
### 3.6 Analisis Data

Faktor abiotik selama masa kultur *Daphnia* sp. dianalisis uji beda menggunakan *one-way* ANOVA yang dilanjutkan dengan *Tukey* HSD untuk data berdistribusi normal dan varian homogen atau *Brown Forsythe* dilanjutkan dengan *Games Howell* untuk data berdistribusi normal dan varian tidak homogen. Faktor abiotik saat perlakuan dianalisis antar konsentrasi dan antar waktu menggunakan *two-way* ANOVA dilanjutkan dengan uji interaksi dan *Tukey* HSD untuk data berdistribusi normal dan varian homogen atau *Brown Forsythe* dilanjutkan dengan *Games Howell* untuk data berdistribusi normal dan varian tidak homogen.

## BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

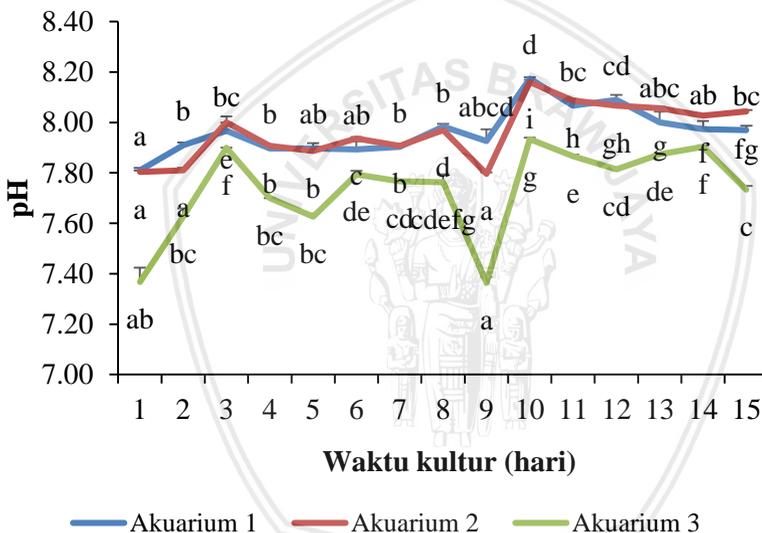
### 4.1 Hasil Pengukuran Faktor Abiotik saat Kultur *Daphnia* sp.

Suhu air saat kultur memiliki pola fluktuatif dengan kisaran 18-22,83°C (gambar 19). Suhu air tertinggi terdapat pada hari kedua dengan nilai 22,8°C (akuarium 1); 22,6°C (akuarium 2) dan 22,4°C (akuarium 3). Suhu air terendah terdapat pada hari ketiga dengan nilai 18,7°C (akuarium 1); 18,2°C (akuarium 2) dan 18°C (akuarium 3). Fluktuasi suhu dipengaruhi oleh *air conditioner* (AC) dan aktivitas di laboratorium. Penurunan suhu sering terjadi pada hari libur karena tidak adanya aktivitas di dalam laboratorium sedangkan kenaikan suhu diakibatkan oleh peningkatan aktivitas di dalam laboratorium. Suhu terendah terjadi pada saat hari libur dan tidak ada aktivitas di laboratorium sedangkan suhu tertinggi terjadi karena AC *error system* dan mati.



Gambar 19. Suhu air selama kultur pada tiga akuarium yang berbeda  
 Keterangan: Notasi yang berbeda pada tiap-tiap akuarium menunjukkan adanya perbedaan nyata antar hari kultur berdasarkan uji Brown Forsythe dilanjutkan dengan uji *Games Howell* (Akuarium 1) dan uji ANOVA dilanjutkan *Tukey HSD* (Akuarium 2 dan 3) ( $\alpha=0,05$ ).

Kisaran nilai pH saat kultur adalah antara 7,36-8,17 (gambar 20). Nilai pH tertinggi terdapat pada hari ke-10 dengan nilai pH 8,17 (akuarium 1); 8,16 (akuarium 2) dan 7,93 (akuarium 3). Nilai pH terendah terdapat pada hari pertama dengan nilai 7,81 (akuarium 1) dan 7,80 (akuarium 2) sedangkan akuarium 3 memiliki pH terendah pada hari ke-9 dengan nilai 7,36. Hasil pengukuran pH mengalami fluktuasi yang berbeda-beda pada tiap akuarium. Nilai pH terendah pada masing-masing akuarium juga terdapat pada hari yang berbeda. Hal tersebut dikarenakan perbedaan jumlah individu *Daphnia* sp. dan volume media yang digunakan. Aktivitas biologis seperti respirasi organisme, fotosintesis, suhu dan adanya ion-ion dalam air mempengaruhi tinggi rendahnya pH (Patil dkk., 2012).

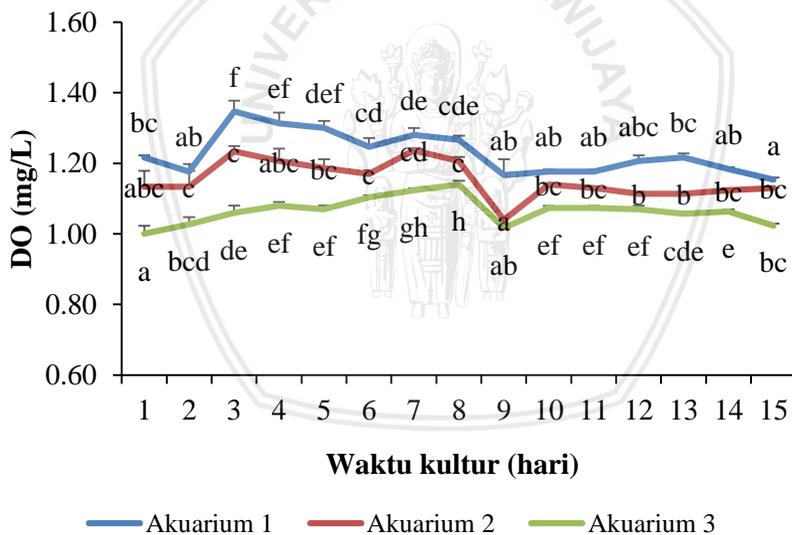


Gambar 20. Nilai pH selama kultur pada tiga akuarium yang berbeda

Keterangan: Notasi yang berbeda pada tiap-tiap akuarium menunjukkan adanya perbedaan nyata antar hari kultur berdasarkan uji Brown Forsythe dilanjutkan dengan uji *Games Howell* (Akuarium 1 dan 3) dan uji ANOVA dilanjutkan *Tukey HSD* (Akuarium 2) ( $\alpha=0,05$ ).

Nilai DO saat kultur memiliki kisaran 1-1,35 mg/L (gambar 21). Nilai tertinggi terdapat pada hari ketiga dengan nilai 1,35 mg/L (akuarium 1) dan 1,23 mg/L (akuarium 2) sedangkan akuarium 3

memiliki nilai tertinggi 1,14 mg/L pada hari ke-8. Nilai terendah terdapat pada hari ke 15 dengan nilai 1,15 mg/L (akuarium 1); hari ke 9 dengan nilai 1,04 (akuarium 2) dan hari pertama dengan nilai 1 mg/L (akuarium 1). Perbedaan nilai DO pada tiap akuarium terjadi karena perbedaan aerasi. Akuarium 1 dan akuarium 2 dilengkapi dengan aerator namun tidak memiliki kekuatan yang sama sedangkan akuarium 3 tidak dilengkapi aerator. Hasil DO pada penelitian ini berbeda dengan penelitian mengenai yang dilakukan sebelumnya yaitu memiliki nilai DO 5,56-8,76 mg/L (Darmawan, 2013). Hal tersebut dikarenakan adanya kerusakan pada alat DO meter pada penelitian ini. Namun, *Daphnia* sp. memiliki kemampuan dapat hidup pada nilai DO sangat minimum yaitu 0,06 mg/L (Nebeker dkk., 1992). Fluktuasi nilai DO juga terjadi karena respirasi *Daphnia* sp. menghasilkan senyawa CO<sub>2</sub> yang menyebabkan DO turun (Beer, 1983). Kenaikan suhu juga menyebabkan kadar CO<sub>2</sub> semakin rendah, sehingga nilai DO akan naik (Horne, 1969).



Gambar 21. Nilai DO selama kultur pada 3 akuarium yang berbeda

Keterangan: Notasi yang berbeda pada tiap-tiap akuarium menunjukkan adanya perbedaan nyata antar hari kultur berdasarkan uji ANOVA dilanjutkan Tukey HSD (Akuarium 1 dan 3) dan Brown Forsythe dilanjutkan dengan uji Games Howell (Akuarium 2) ( $\alpha=0,05$ ).

Pengukuran faktor abiotik saat kultur merupakan salah satu prosedur yang direkomendasikan uji keamanan (EPS, 1990). Pengukuran faktor abiotik bertujuan untuk memberikan standar yang sesuai dengan kondisi *Daphnia* sp. sebagai organisme uji. Faktor abiotik yang berbeda jauh dengan standar dapat mempengaruhi kesehatan kultur dan kinerja *Daphnia* sp. sebagai organisme uji. Kriteria kultur *Daphnia* sp. sehat adalah indukan tidak memiliki *resting eggs* (*ephippia*),  $\leq 25\%$  kematian yang terjadi selama satu minggu sebelum uji, indukan berumur 2-5 minggu dan menghasilkan *Daphnia* rata-rata  $\geq 15$  individu (EPS, 1990).

Kisaran nilai faktor abiotik *Daphnia* di habitat memiliki nilai yang berbeda-beda. Suhu memiliki kisaran toleransi yang luas dengan suhu optimum antara 18-22 °C. *Daphnia* dapat hidup di lingkungan dengan pH antara 6,5-9,5 dengan pH optimum adalah 7,2-8,5 (Clare, 2002).

Faktor abiotik saat kultur berdasarkan standar universal adalah pada kisaran  $20 \pm 2$  °C untuk suhu dan pH pada rentangan 6.0-8.5 (EPS, 1990). Perbedaan faktor abiotik dengan kisaran yang dibutuhkan *Daphnia* sp. akan menyebabkan *population crash* atau produksi *Daphnia* jantan. Lingkungan yang kurang mendukung juga dapat menyebabkan telur dorman di dalam *brood chamber* (*diapausing eggs*) sehingga produksi *newborn Daphnia* sp. membutuhkan waktu yang lama (Greene dkk., 1988). Kondisi tersebut terjadi karena telur pada *brood chamber Daphnia* dikelilingi oleh *membranous external wall* yang disebut *ephippia* (Ebert, 2005). *Diapausing eggs* digunakan sebagai kriteria kesehatan *Daphnia* sp. saat kultur. Kultur yang sehat tidak boleh terdapat *diapausing eggs* (EPS, 1990).

#### 4.2 Kematian dan Perilaku *Daphnia* sp. saat Uji Keamanan

Seluruh konsentrasi MOSNON™ yang digunakan tidak menyebabkan efek negatif terhadap organisme non-target *Daphnia* sp. (tabel 2). Tidak ditemukan kematian dan perilaku abnormal pada *Daphnia* sp. selama uji keamanan yang dilakukan selama 96 jam. Pengamatan secara mikroskopis menunjukkan bahwa tidak terdapat kerusakan terhadap organ pencernaan *Daphnia* sp. pada seluruh konsentrasi (gambar 22).

Tabel 2. Persentase kematian *Daphnia* sp. saat uji keamanan menggunakan MOSNON™

Konsentrasi (ppm)	Waktu pendedahan (jam)	Kematian (%)
0; 5; 10; 15; 20	0	0
0; 5; 10; 15; 20	24	0
0; 5; 10; 15; 20	48	0
0; 5; 10; 15; 20	72	0
0; 5; 10; 15; 20	96	0

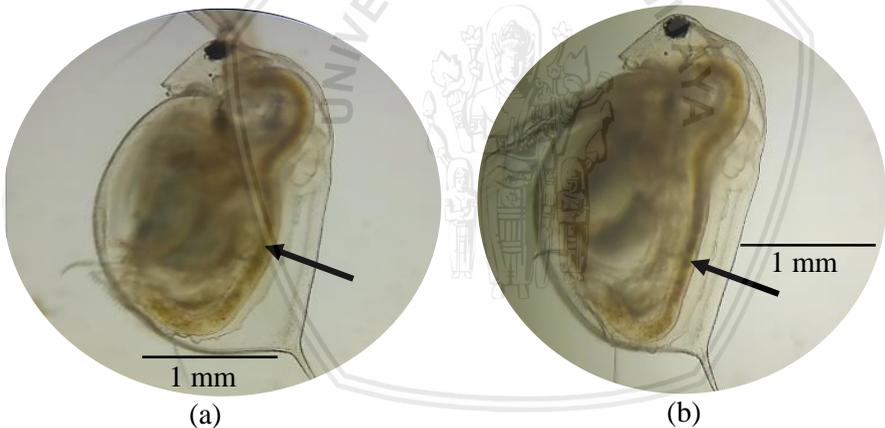
Beberapa varietas *B. thuringiensis* digunakan untuk mengontrol serangga hama dengan ordo Coleoptera, Lepidoptera dan Diptera. *B. thuringiensis* var. *israelensis* digunakan untuk mengurangi populasi diptera nematocera, termasuk *blackflies* (Simuliidae) dan nyamuk (Culicidae) (Charbonneau dkk., 1994). MOSNON™ mengandung *B. thuringiensis* yang memproduksi toksin berupa ICP (*Insecticidal Crystal Protein*) atau  $\delta$ -*endotoxin*. Toksin tersebut memiliki kemampuan untuk membunuh serangga melalui saluran pencernaan dan bersifat spesifik dalam membunuh target. Toksin tersebut akan teraktivasi jika masuk ke dalam saluran pencernaan yang memiliki pH basa (Sansinenea, 2012).

Toksin ICP dibedakan menjadi dua yaitu *cry* toksin dan *cyt* toksin. Mekanisme kerja *cry* toksin adalah kristal protein (protoksin) akan dicerna oleh larva nyamuk ke dalam saluran pencernaan dan terhidrolisis oleh kondisi pencernaan yang basa. Ketika terhidrolisis, protoksin akan berinteraksi dengan enzim protease dan memproduksi toksin aktif yang selanjutnya terintregasi ke dalam membran plasma dan membentuk lubang heksagonal pada sel. Toksin akan mempengaruhi keseimbangan osmotik dan ATP sehingga sel akan lisis. *Cyt* toksin memiliki mekanisme yang berbeda dengan *cry* toksin. *Cyt* toksin tidak mengikat reseptor protein terlebih dahulu melainkan secara langsung mengikat membran lipid dan membuat lubang pada membran. Lubang terbentuk karena degradasi membran lipid (Willey dkk., 2008).

Kemampuan *B. thuringiensis* dalam membunuh larva nyamuk dipengaruhi oleh densitas sel bakteri dan umur larva. Semakin tinggi densitas bakteri maka akan memiliki kristal protein semakin banyak, sehingga dapat menyebabkan lebih banyak kematian larva. Umur larva nyamuk yang paling banyak mengalami kematian setelah dilakukan

pendedahan adalah instar 1. Larva instar 4 lebih dapat bertahan dari toksin *B. thuringiensis* karena bagian *midgut* sudah berkembang dan memiliki jaringan epitel dan membran peritrofik pada jaringan intestinal. Membran peritrofik tersebut yang akan melindungi jaringan epitel dari toksin *B. thuringiensis* (Gama, 2014).

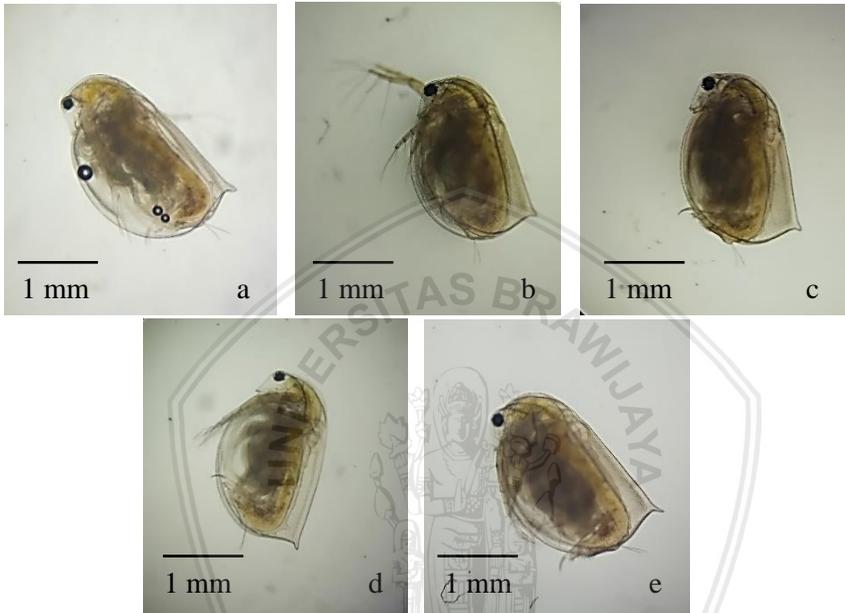
MOSNON™ efektif membunuh larva nyamuk dengan cara merusak saluran pencernaan. Larva nyamuk memiliki pH basa pada saluran pencernaannya sehingga toksin dari *B. thuringiensis* dapat teraktivasi. Toksin yang telah aktif tersebut kemudian merusak saluran pencernaan. Berdasarkan studi sebelumnya, konsentrasi efektif MOSNON™ untuk membunuh larva nyamuk (*Aedes aegypti*) adalah 2 ppm (Ristianadewi dkk., 2016). Pencernaan *Daphnia* sp. tidak mengalami kerusakan karena toksin *Bacillus thuringiensis* tidak dapat teraktivasi (gambar 23). Nilai pH dari saluran pencernaan *Daphnia* sp. termasuk asam hingga netral yaitu antara 6-6,8 pada bagian anterior dan 6.6-7.2 pada bagian posterior *midgut* (Ebert, 2005).



Gambar 22. Organ pencernaan *Daphnia* sp., a) sebelum pendedahan, b) setelah pendedahan menggunakan MOSNON™

*Daphnia* dikenal sebagai *small-filter feeders* yaitu mendapatkan makanan dengan cara memfilter air. *Daphnia* biasanya memakan partikel dengan ukuran 1-50  $\mu\text{m}$  dan *Daphnia* yang berukuran lebih besar dapat memakan partikel hingga 70  $\mu\text{m}$ . *Daphnia* biasa memangsa organisme berukuran kecil seperti bakteri, alga bersel tunggal, protista,

detritus dan ragi. Makanan tersebut akan melewati *gut* dengan dibantu oleh kontraksi peristaltik dari dinding *gut*. Saluran pencernaan normal pada *Daphnia* dapat dibagi menjadi tiga bagian yaitu esofagus, *midgut* dan *hindgut*. Makanan akan ditahan oleh peritrofik membran supaya tidak langsung masuk ke dalam *ceca* dan diserap oleh sel epitel (Ebert, 2005).



Gambar 23. *Daphnia* sp. setelah 96 jam pendedahan menggunakan MOSNON<sup>TM</sup>, a) 0 ppm, b) 5 ppm, c) 10 ppm, d) 15 ppm, e) 20 ppm

Protein dari *B. thuringiensis* pada penelitian sebelumnya telah diujikan ke *Daphnia magna*. Perkembangan, reproduksi dan parameter biokimia pada *Daphnia magna* tidak memiliki perbedaan signifikan dengan kontrol negatif dari penelitian. Parameter dari perkembangan *Daphnia magna* adalah berat individu, panjang individu, lebar individu, panjang *anal spine*, dan jumlah pergantian kulit. Parameter reproduksi adalah hari pertama melahirkan, jumlah indukan, jumlah keturunan pada kelahiran pertama, rata-rata jumlah anak per induk dan jumlah anak.

Protein Cry1C ditemukan pada individu *Daphnia magna* yang digunakan sebagai organisme uji. Cry1C digunakan *Daphnia magna* sebagai pangan, sehingga dapat diketahui bahwa *Daphnia magna* tidak sensitif terhadap protein Cry1C *B. thuringiensis* (Chen dkk., 2017).

Penelitian mengenai interaksi antara *B. thuringiensis* dengan *Daphnia* sp. menunjukkan hasil bahwa *Daphnia* sp. mencerna *B. thuringiensis*. Perlakuan yang digunakan adalah *Daphnia* yang diberi pakan (*Selenastrum capricornutum*, ragi, *Cerophyln*, dan *trout chow*) dan tidak diberi pakan. Keduanya mencerna *B. thuringiensis* dengan cepat. Spora dari *B. thuringiensis* yang dicerna *Daphnia* sp. semakin meningkat ketika konsentrasi pendedahan semakin tinggi. Spora *B. thuringiensis* maksimal yang dapat dicerna adalah 280.000 spora untuk *Daphnia* yang tidak diberi pakan dan 51.000 spora untuk *Daphnia* sp. yang diberi pakan dengan konsentrasi pemberian spora  $1.9 \times 10^8$  spora/L. *Daphnia* sp. dapat menolak bahan yang tidak dapat diterima pada alur makanannya (Burns, 1968). Tingkat penyaringan makanan *Daphnia* sp. dapat dipengaruhi oleh faktor-faktor seperti efek racun (Haney, 1973). Baik *Daphnia* sp. yang diberi pakan maupun yang tidak diberi pakan mengeluarkan 99% spora dalam tubuh dalam waktu 24-48 jam (Vaishnav & Anderson, 1995).

Penelitian sebelumnya mengenai keamanan *B. thuringiensis* terhadap organisme non-target *Trichogaster pectoralis* juga tidak menyebabkan kematian. *B. thuringiensis* yang digunakan adalah isolat lokal dari Bangkalan, Lamongan dan Madiun (Gama, 2014). Studi keamanan MOSNON™ telah diujikan ke organisme akuatik yaitu *Lymnaea rubiginosa*. Hasil menunjukkan bahwa tidak terdapat kematian dan perubahan perilaku baik pada *L. rubiginosa* dewasa dan juvenil. *B. thuringiensis* pada MOSNON™ tidak menyebabkan perubahan perilaku berupa respon makan, berkoloni dan pergerakan di air. Perkembangan dan warna cangkang *L. Rubiginosa* juvenil maupun dewasa juga tidak terpengaruh oleh MOSNON™ (Hardiyanti, 2017).

Uji keamanan *B. thuringiensis* serovar israelensis (ABG-6108) pada beberapa organisme non-target (invertebrata) memiliki hasil bahwa dosis tertinggi dari penelitian tidak menimbulkan efek merugikan. Organisme non-target yang diuji adalah rotifera, *Cyclops* spp., *Daphnia* sp., *Ostracods*, *Baetis* sp., *Corixids* dan *Notonectids* (*water bugs*) serta Coleoptera. Serangga lain seperti *Chaoborus* sp., larva stratiomyd, *Damsel fly* dan nimfa capung juga tidak menunjukkan penurunan populasi

setelah perlakuan. Penelitian ini menegaskan bahwa *B. thuringiensis* memiliki tingkat keamanan tinggi untuk organisme non-target akuatik seperti *Baetis* dan *Daphnia*. Kedua invertebrata tersebut sangat sensitif terhadap organofosfat yang terdapat pada insektisida konvensional (Ali, 1981).

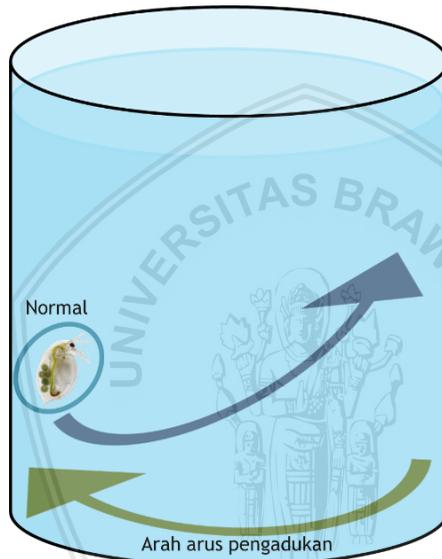
Uji *B. thuringiensis* terhadap 40 spesies organisme akuatik menunjukkan hasil patogenisitas spesifik *B. thuringiensis* terjadi pada Nematocera yaitu, Culicidae, Simuliidae, Dixidae, Chironomidae dan Ceratopogonidae. Sepuluh spesies Crustacea dan lebih dari 21 spesies organisme akuatik tidak terpengaruh dengan *B. thuringiensis* pada konsentrasi 50 hingga beberapa ratus kali lipat dari LC50 yang digunakan pada nyamuk *Cules pipiens* (Garcia dkk., 1980). *B. thuringiensis* adalah bahan kontrol serangga hama yang paling aman bagi organisme non-target.

Tabel 3. Perilaku *Daphnia* sp. saat uji keamanan menggunakan MOSNON™

Konsentrasi (ppm)	Perilaku Abnormal			
	Diam	Lemas	Berputar	Mengapung
0; 5; 10; 15; 20	—	—	—	—
0; 5; 10; 15; 20	—	—	—	—
0; 5; 10; 15; 20	—	—	—	—
0; 5; 10; 15; 20	—	—	—	—
0; 5; 10; 15; 20	—	—	—	—

Pengamatan perilaku *Daphnia* dilakukan pada setiap kali pengamatan. Perilaku *Daphnia* harus dibandingkan antara larutan uji dengan kontrol (EPS, 1990). Hasil menunjukkan bahwa perilaku *Daphnia* baik pada larutan uji maupun kontrol adalah normal (tabel 3). Perilaku *Daphnia* sp. dikatakan normal karena sesaat setelah pengadukan media selama 15 detik, *Daphnia* sp. berenang melawan arus dan menuju ke permukaan air (gambar 24). Sedangkan apabila terjadi perilaku abnormal, *Daphnia* sp. akan terlihat diam atau melakukan sedikit pergerakan di dasar air, berenang terbawa arus, berenang dengan pola memutar atau mengapung di permukaan air. Perilaku abnormal *Daphnia* sp. mengindikasikan bahwa terjadi tekanan (*stress*) terhadap lingkungan. Perilaku *Daphnia* sp. harus dibandingkan antara larutan uji

dengan kontrol untuk mengetahui kevalidan data. Jika > 10% dari jumlah *Daphnia* sp. pada larutan kontrol menunjukkan perilaku abnormal, maka data tidak valid. Selain itu, pengamatan perilaku pada uji keamanan juga penting untuk mengetahui reaksi *Daphnia* sp. dengan larutan MOSNON™ (EPS, 1990). *Daphnia* sp. tidak menunjukkan reaksi negatif terhadap MOSNON™ baik kematian maupun perilaku abnormal meskipun menggunakan konsentrasi lebih tinggi dari 2 ppm. Sehingga MOSNON™ dapat dikatakan aman terhadap organisme non-target *Daphnia* sp.



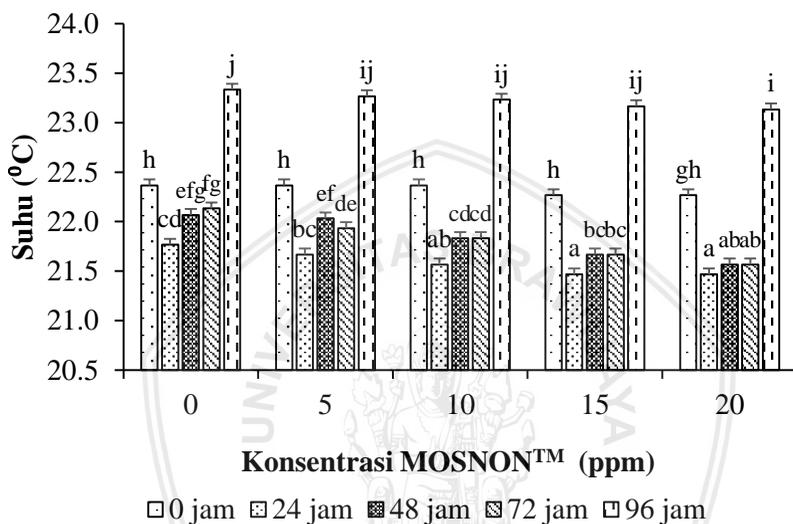
(Modifikasi EPS, 1990)

Gambar 24. Ilustrasi perilaku *Daphnia* sp. saat uji keamanan menggunakan MOSNON™ pada seluruh konsentrasi dan waktu pendedahan

### 4.3 Hasil Pengukuran Faktor Abiotik saat Uji Keamanan

Hasil kisaran suhu air pada saat uji keamanan adalah antara 21,5-23,3<sup>0</sup>C (gambar 25). Berdasarkan waktu pendedahan, suhu air tertinggi terdapat pada pengamatan 96 jam dengan rata-rata nilai 23,3 <sup>0</sup>C dan suhu air terendah pada 24 jam dengan nilai rata-rata 21,6 <sup>0</sup>C. Fluktuasi suhu dipengaruhi oleh *air conditioner* (AC) dan aktivitas di

laboratorium. Penurunan suhu sering terjadi pada hari libur karena tidak adanya aktivitas di dalam laboratorium sedangkan kenaikan suhu diakibatkan oleh peningkatan aktivitas di dalam laboratorium. Suhu tertinggi terjadi karena adanya aktivitas di laboratorium sedangkan suhu terendah terjadi karena terjadi saat hari libur dan tidak ada aktivitas di laboratorium. Suhu yang disarankan oleh standar universal untuk melakukan uji keamanan adalah  $20 \pm 2$  °C (EPS, 1990)

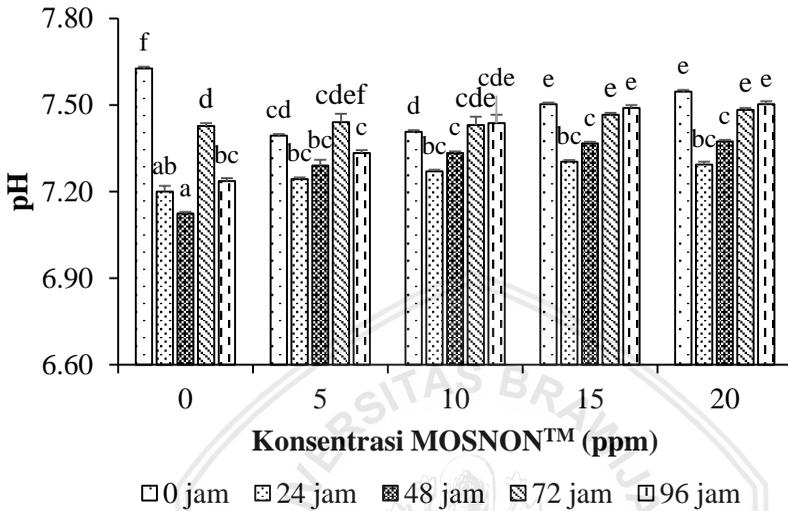


Gambar 25. Suhu air selama uji keamanan menggunakan MOSNON™ pada waktu pendedahan dan konsentrasi yang berbeda

Keterangan: Notasi yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan nyata antar konsentrasi MOSNON™ dan antar waktu pendedahan berdasarkan uji ANOVA dilanjutkan *Tukey HSD* ( $\alpha=0,05$ ).

Kisaran nilai pH saat uji keamanan adalah antara 7,43-7,63 (gambar 26). Berdasarkan waktu pendedahan, pH tertinggi terdapat pada pengamatan 0 jam dengan rata-rata nilai 7,49 dan pH terendah pada 48 jam dengan nilai rata-rata 7,29. Hasil pengukuran pH mengalami fluktuasi yang berbeda-beda. Fluktuasi nilai pH terjadi karena respirasi *Daphnia* sp. menghasilkan senyawa CO<sub>2</sub>. Apabila jumlah CO<sub>2</sub> bebas tinggi maka akan menyebabkan pH turun dan apabila CO<sub>2</sub> bebas telah menjadi bentuk terikat (bikarbonat), maka pH akan naik (Beer, 1983).

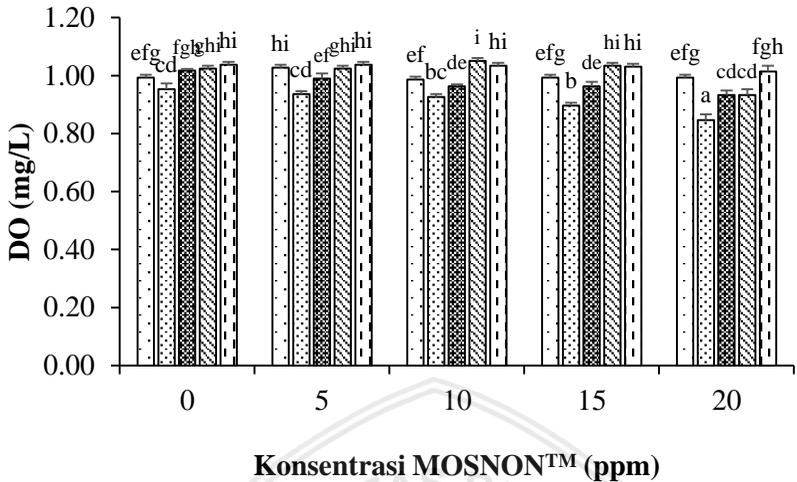
Kenaikan suhu juga menyebabkan kadar CO<sub>2</sub> semakin rendah, sehingga pH akan naik (Horne, 1969). Nilai pH yang disarankan oleh standar universal untuk melakukan uji keamanan adalah 6,0-8,5 (EPS, 1990).



Gambar 26. Nilai pH selama uji keamanan menggunakan MOSNON™ pada waktu pendedahan dan konsentrasi yang berbeda

Keterangan: Notasi yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan nyata antar konsentrasi MOSNON™ dan antar waktu pendedahan berdasarkan uji Brown Forsythe dilanjutkan dengan uji Games Howell ( $\alpha=0,05$ ).

Nilai DO saat uji toksisitas memiliki kisaran 0,85-1,05 mg/L (gambar 27). Berdasarkan waktu pendedahan, DO tertinggi terdapat pada pengamatan 96 jam dengan rata-rata nilai 1,05 mg/L dan DO terendah pada 24 jam dengan nilai rata-rata 0,91 mg/L. Fluktuasi nilai DO tidak terlalu tinggi karena semua perlakuan tidak diberi aerasi. Nilai DO sangat rendah dikarenakan kesalahan alat DO meter yang digunakan. DO dipengaruhi oleh respirasi dan suhu. Senyawa CO<sub>2</sub> yang dihasilkan proses respirasi menyebabkan DO turun (Beer, 1983). Kenaikan suhu juga menyebabkan kadar CO<sub>2</sub> semakin rendah, sehingga nilai DO akan naik (Horne, 1969). Nilai DO yang disarankan oleh standar universal untuk melakukan uji toksisitas adalah dibawah 5,5 mg/L (EPS, 1990).



□ 0 jam    ▨ 24 jam    ▩ 48 jam    ▤ 72 jam    ▥ 96 jam

Gambar 27. Nilai DO selama uji keamanan menggunakan MOSNON™ pada waktu pendedahan dan konsentrasi yang berbeda

Keterangan: Notasi yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan nyata antar konsentrasi MOSNON™ dan antar waktu pendedahan berdasarkan uji ANOVA dilanjutkan *Tukey HSD* ( $\alpha=0,05$ )

Pengukuran faktor abiotik harus dilakukan pada setiap larutan uji termasuk kontrol minimal pada awal dan akhir dari uji. Faktor abiotik merupakan hal yang penting untuk diukur saat melakukan uji keamanan. Faktor abiotik yang tidak sesuai dapat menyebabkan kematian organisme uji atau dapat mempengaruhi kemampuan dari larutan uji menjadi lebih toksik atau mengurangi kemampuan toksik (EPS, 1990).

Berdasarkan uji ANOVA terhadap suhu, pH dan DO pada tiap konsentrasi setiap 24 jam, diketahui seluruhnya berbeda nyata. Hasil tersebut menunjukkan arti bahwa faktor abiotik dapat berpengaruh terhadap kematian *Daphnia* sp., namun, tidak ditemukan kematian *Daphnia* sp. sehingga meskipun berbeda nyata tetapi kisaran nilai faktor abiotik saat uji keamanan masih dapat ditolerir oleh *Daphnia* sp.

## BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

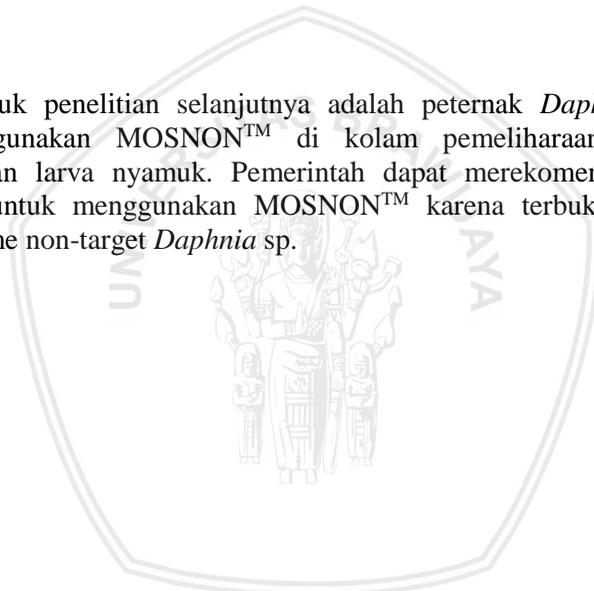
### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. *B. thuringiensis* (MOSNON™) tidak menyebabkan kematian pada organisme non-target *Daphnia* sp. pada setiap konsentrasi dan waktu pendedahan
2. Perilaku *Daphnia* sp. setelah pemberian *B. thuringiensis* (MOSNON™) tidak menunjukkan adanya gejala abnormal

### 5.2 Saran

Saran untuk penelitian selanjutnya adalah peternak *Daphnia* sp. dapat menggunakan MOSNON™ di kolam pemeliharaan untuk mengendalikan larva nyamuk. Pemerintah dapat merekomendasikan masyarakat untuk menggunakan MOSNON™ karena terbukti aman bagi organisme non-target *Daphnia* sp.



## DAFTAR PUSTAKA

- Ali, A. 1981. *Bacillus thuringiensis* serovar. *israelensis* (ABG-6108)' against Chironomids and Some Nontarget Aquatic Invertebrates. *Journal of Invertebrate Pathology*. 38, 264-272
- Anna, L. 2009. *Bacillus thuringiensis* <http://enfo.agt.bme.hu/drupal/node/10277> diakses pada 1 November 2017
- Ansaka. 2002. **Pemanfaatan Ampas Sagu (*Metroxylon sagu* Rottb) dan Eceng Gondok (*Eichhornia crassipes*) dalam Kultur *Daphnia* sp.** Skripsi. Jurusan Budidaya Perikanan Institut Pertanian Bogor
- Aprilia, T & I. Rachmatiah. 2013. **Uji Toksisitas Akut Limbah Cair Industri Pulp & Kertas terhadap *Daphnia Magna* (Studi Kasus : PT ASPEX KUMBONG).** Paper ITB. Bandung
- Atwa, A.A., A.L Bigrami., A.I.M Al-Saggaf. 2017. Host–parasite interaction and impact of mite infection on mosquito population. *REVISTA BRASILEIRA DE Entomologia*. 61, 101-106
- Bartram, J & R. Ballance. 1996. **Water Quality Monitoring - A Practical Guide to the Design and Implementation of Freshwater Quality Studies and Monitoring Programmes.** United Nations Environment Programme and the World Health Organization. Switzerland
- Beer, T. 1983. **Environmental Oceanography, An Introduction to The Behavior of Coastal Water.** Pergamon Press. New York.
- Bernama. 2016. Air Mengandung Serbuk Abate Selamat Diminum. <http://www.mynewshub.cc/terkini/air-mengandung-serbuk-abate-selamat-diminum/> diakses pada 3 Oktober 2017
- Boisvert, M & J. Boisvert. 2010. Effects of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* on Target and Nontarget Organisms: A Review of Laboratory and Field Experiments. *Biocontrol Science and Technology*. 10(5), 517-561
- Burns, C.W. 1968. Direct observations of mechanism regulating feeding behavior of *Daphnia* in lake water. *Int. Rev. Gesamten Hydrobiol*. 53, 83-100
- Charbonneau, C.S., R.D. Drobney., C.F. Rabent. 1994. Effects of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* on nontarget benthic

- organisms in a lentic habitat and factors affecting the efficacy of the larvicide. *Environ. Toxicol. Chem.* 13, 267-279
- Casmuji. 2002. Penggunaan Supernatan Kotoran Ayam dan Tepung Terigu dalam Budidaya *Daphnia magna*. Skripsi. Jurusan Budidaya Perikanan Institut Pertanian Bogor
- Chen, Y., Y. Yang., H. Zhu., J. Romeis., Y. Li., Y Peng dan X. Chen. 2017. Safety of Bacillus thuringiensis Cry1C protein for *Daphnia magna* based on different functional traits. *Ecotoxicology and Environmental Safety Elsevier*. 147, 631-636
- Dainy, N.C. 2009. **Uji Toksisitas Senyawa Total Katekin Teh Camellia-Murbei sebagai Minuman Kesehatan**. Tesis. IPB. Bogor
- Daniel. 2008. Ketika larva dan Nyamuk Dewasa Sudah Kebal Terhadap Insektisida. [www. majalahfarmacia.com](http://www.majalahfarmacia.com) diakses pada 30 September 2017
- Darmawan, J. 2013. **Pertumbuhan Populasi *Daphnia* sp. pada Media Budidaya dengan Penambahan Air Buangan Budidaya Ikan Lele Dumbo (*Clarias Gariepinus* Burchell, 1822)**. Balai Penelitian Ikan Sukamandi. Subang
- Dinas Kesehatan Kota Malang. 2016. **Database Dinas Kesehatan Kota Malang 2016**
- Ebert, D. 2005. **Ecology, Epidemiology, and Evolution of Parasitism in *Daphnia***. National Library of Medicine. US
- EPS. 1990. **Biological Test Method: Acute Lethality Test Using *Daphnia* spp.** Minister of Supply and Services. Canada
- FAO. 1996. *Daphnia* and Moina <http://www.fao.org/docrep/003/W3732E/w3732e0x.htm> diakses pada 23 Februari 2018
- Federici, B.A., H.W Park., D.K Bideshi., M.C Wirth., J.J Johnson. Review Recombinant Bacteria for Mosquito Control. *The Journal of Experimental Biology*. 206, 3877-3885
- Gama, Z.P. 2014. **Biological Control for Suppressing Human Diseases: a Case Study of *Bacillus thuringiensis* Isolated Indigenously from East Java as a Natural Enemy against *Aedes aegypti***. Doctoral Dissertation. Hiroshima University
- Garcia, R., B. Desrochers., W. Tozer. 1980. Studies on the toxicity of Bacillus thuringiensis var. israelensis against organisms found in

association with mosquito larvae. *Pror. Pup. Ctr. Vector Contr. Assoc.* 48, 33-36.

- Garno, Y.S. 2003. Daya Racun Deterjen Rinso terhadap *Daphnia carinata* dan *Chironomus* sp. **Direktorat Teknologi Pemukiman dan Lingkungan Hidup Deputy Bidang Pengembangan Teknologi Bpp Teknologi**
- Ginanjari, G. 2008. **Demam Berdarah: A Survival Guide**. Benteng Pustaka. Jakarta
- Greene, J.C., C.L Bartels., W.J Warren-Hicks., B.P Parkhurst., G.L Linder., S.A Peterson and W.E Miller. 1988. **Protocols for Short-term Toxicity Screening of Hazardous Waste Sites**. Environmental Protection Agency. United States
- Haney, J.F. 1973. An in situ examination of the grazing activities of natural zooplankton communities. *Arch. Hydrobiol.* 72, 87-132.
- Hardiyanti, N. 2017. **Studi Toksisitas *Bacillus thuringiensis* D-142 (MOSNON™) terhadap Organisme Non-target (Gastropoda: *Lymnaea rubiginosa*)**. Skripsi. Jurusan Biologi Universitas Brawijaya Malang
- Harvest Ariake Indonesia. 2017. MOSNON TB. <https://harvestariake.co.id/produk/mosnon-tb/> diakses pada 1 Juni 2017
- Horne, R.A. 1969. **Marine Chemistry, The Structure of Water and The Chemistry of Hydrosphere**. John Willey & Sons. New York
- Ine. 2012. Uji Toksisitas Obat Herbal Paling Penting <http://lifestyle.kompas.com/read/2012/09/24/05403733/uji.toksisitas.obat.herbal.paling.penting> diakses pada 30 September 2017
- InfoDATIN. 2016. **Situasi DBD di Indonesia**. Kementerian Kesehatan RI. Jakarta Selatan
- Irsyahma, A. 2017. Abate: Kegunaan, Dosis, Efek Samping. <https://mediskus.com/abate> diakses pada 30 September 2017
- Jakartanotebook. 2017. Lightning Batteries Mosquito Swatter Racket. <https://www.jakartanotebook.com/lightning-batteries-mosquito-swatter-racket-green> diakses pada 3 Oktober 2017
- Kardinan, A. 2003. **Tanaman Pengusir & Pembasmi Nyamuk**. Agromedia Pustaka. Depok
- KEMENKESRI. 2016. Wilayah KLB DBD Ada di 11 Provinsi. <http://www.depkes.go.id/article/print/16030700001/wilayah-klb-dbd-ada-di-11-provinsi.html> diakses pada 1 Juni 2017

- LaMotte, S. 2016. Stopping Zika: Mass sterilization of male mosquitoes  
<https://edition.cnn.com/2016/03/07/health/zika-virus-sterile-mosquito/index.html> diakses pada 7 Mei 2018
- Lepe, M.R & M.R Suero. 2012. **Biological Control of Mosquito Larvae by *Bacillus thuringiensis* subsp. israelensis**. Intech, Croatia
- Myers, P., R. Espinosa., C.S Parr., T. Jones., G.S Hammond., T.A Dewey. 2017. *Daphnia magna*  
[http://animaldiversity.org/accounts/Daphnia\\_magna/classification/](http://animaldiversity.org/accounts/Daphnia_magna/classification/) diakses pada 1 Juni 2017
- Natadisastra, D & R. Agoes. 2005. **Parasitologi kedokteran:ditinjau dari organ tubuh yang diserang**. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta
- Nebeker, A.V., S.T Onjukka., D.G Stevens., G.A Chapman., S. E Dominguez. 1992. Effects of Low Dissolved Oxygen on Survival Growth and Reproduction of *Daphnia*, *Hyaella* and *Gammarus*. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 1, 373-379
- OECD. 1993. **Report of the Workshop on the *Daphnia magna* Pilot**. Ring Test, Sheffield University, U.K
- Patil S. G., Chonde S. G., Jadhav A. S., Raut P. D. 2012. Impact of physico-chemical characteristics of Shivaji University lakes on phytoplankton communities, Kolhapur, India, *Research Journal of Recent Sciences*. 1(2); 56-60.
- Pangkey, H. 2009. *Daphnia* dan Penggunaannya. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. 5(3); 33-36
- Pennack, R.W. 1989. **Freshwater Invertebrates of United States**. The Ronald Press Company. New York
- Ristianadewi, P. 2016. Bioassay MOSNON™ as Biolarvacide Towards *Aedes aegypti* Larvae. *Proceeding of the 6th Annual Basic Science International Conference Malang*. 6(15); 38-41
- Rsaviskas. 2017. Mosquitofish.  
<http://www.lawestvector.org/mosquitofish.htm> diakses pada 1 November 2017
- Sansinenea, E. 2012. ***Bacillus thuringiensis* Biotechnology**. Springer Science+Business Media. New York
- Schnepf, E., N. Crickmore., J. V Rie., D. Lereclus., J. Baum., J Feitelson., D.R Zeigler., D.H. 1998. *Bacillus thuringiensis* and Its Pesticidal Crystal Proteins. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 62(3), 775-806

- Setiyoko, F. 2016. Cara Mudah Membuat Perangkap Nyamuk Sederhana. <http://kampoengilmu.com/perangkap-nyamuk/> diakses pada 3 Oktober 2017
- Siti, A. 2016. HIT Obat Nyamuk Semprot dan Elektrik. <http://www.diaryapipah.com/2016/03/id-13243.html> diakses pada 3 Oktober 2017
- Specky. 2017. 5 Tips Mudah dan Terbukti Berkesan Menghalau Nyamuk. <https://iluminasi.com/bm/5-tips-mudah-dan-terbukti-berkesan-menghalau-nyamuk.html> diakses pada 3 Oktober 2017
- Sudradjad. 2003. **Pembenihan & Pembesaran Cupang Hias**. Kanisius. Yogyakarta
- Suwignyo. 1989. **Avvertebrata Air**. Lembaga Sumberdaya Informasi IPB. Bogor.
- Vaishnav, D.D & R. L Anderson. 1995. Uptake and Loss Of *Bacillus Thuringiensis* Var. *Israelensis* By *Daphnia Magna* In Laboratory Exposure. *Short Communication Environmental Toxicology and Chemistry*. 14(5); 763-766
- Viklund, A. 2012. About Romanomermis culicivorax [http://nematodes.org/genomes/romanomermis\\_culicivorax/index.html](http://nematodes.org/genomes/romanomermis_culicivorax/index.html) diakses pada 1 November 2017
- Willey, J.M., L.M Sherwood., C.J Woolverton. 2008. **Microbiology**. The McGraw-Hill. New York