

Uji Patogenisitas Isolat *B. thuringiensis* yang Ditumbuhkan dalam Buah Kelapa terhadap berbagai Jentik Nyamuk di Laboratorium

Blondine Ch P, RA Yuniarti

Stasiun Penelitian Vektor Penyakit, Pusat Penelitian Ekologi Kesehatan
Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Departemen Kesehatan RI, Salatiga

ABSTRAK

Bacillus thuringiensis merupakan salah satu spesies bakteri yang digunakan untuk pengendalian jentik nyamuk. Bakteri ini perlu dikembangkan mengingat pentingnya pelestarian lingkungan yang bebas insektisida.

Ditemukannya bakteri patogen *B. thuringiensis* (100 PS) yang diisolasi dari habitat tanah dan ditumbuhkan dalam buah kelapa.

Tujuan penelitian ini untuk mengetahui patogenisitas isolat *B. thuringiensis* (100 PS) yang ditumbuhkan dalam buah kelapa terhadap berbagai jentik nyamuk.

Isolat *B. thuringiensis* (100 PS) yang ditumbuhkan dalam media kimiawi Tryptose Phosphate Broth (TPB) sebagai standar.

Hasil pengujian patogenisitas isolat *B. thuringiensis* (100 PS) yang ditumbuhkan dalam buah kelapa dan media TPB terhadap jentik nyamuk *Anopheles aconitus*, *An. barbirostris*, *Aedes aegypti*, dan *Culex quinquefasciatus*, menunjukkan patogenisitas > 50% selama 24 dan 48 jam pengujian. Tidak ada perbedaan yang bermakna antara persentase kematian jentik yang diuji dari isolat yang ditumbuhkan dalam buah kelapa dan media TPB ($p > 0,05$). Buah kelapa dapat digunakan sebagai medium untuk pertumbuhan *B. thuringiensis*.

Kata kunci : *B. thuringiensis*, kelapa, patogenisitas, jentik nyamuk

PENDAHULUAN

Di daerah tropis seperti Indonesia, nyamuk merupakan serangga yang sering mengganggu kehidupan manusia. Di samping itu nyamuk juga dapat menyebarkan penyakit seperti malaria, demam berdarah dengue dan filariasis. Untuk mengatasi hal tersebut, manusia lebih cenderung menggunakan insektisida misalnya etofenprox untuk penyemprotan rumah-rumah. Selain itu dapat pula menggunakan obat pembasmi nyamuk yang dijual bebas seperti obat nyamuk bakar, tissue, oles, elektrik dan sebagainya. Mengingat banyaknya bahan aktif insektisida yang mudah diperoleh, dan kemungkinan besar dapat menyebabkan pencemaran lingkungan, mendorong dikembangkan jasad hayati seperti *Bacillus thuringiensis*. Salah satu kelebihan bakteri ini adalah sifatnya yang spesifik

sehingga dapat menekan populasi jentik nyamuk, namun tidak mencemarkan lingkungan, atau mematikan organisme lain yang bukan sasaran.

Salah satu karakteristik dari *B. thuringiensis* adalah dapat memproduksi kristal protein di dalam sel bersama-sama dengan spora pada waktu sel mengalami sporulasi⁽¹⁾.

Laboratorium jasad hayati Stasiun Penelitian Vektor Penyakit telah berhasil mengisolasi *B. thuringiensis* dari tanah dan menumbuhkan bakteri tersebut pada media air kelapa dan endosperm kelapa (santan), dengan patogenisitas > 50% terhadap jentik nyamuk *Ae. aegypti* dan *Cx. quinquefasciatus*⁽²⁾.

Suatu penelitian yang dilakukan di "Alexander von Humboldt Tropical Medicine Institute" di Lima, Peru adalah menumbuhkan *B. thuringiensis israelensis* dalam media alami

buah kelapa sebab kelapa kaya akan asam amino dan karbohidrat⁽³⁾. Selain itu kelapa relatif murah, dapat diperoleh setiap saat dan terdapat dimana-mana. Sedangkan media kimia seperti agar nutrisi, "NYSMA", "NYPC" dan Tryptose Phosphate Broth yang merupakan media baku untuk pertumbuhan *B. thuringiensis* harganya mahal dan tidak mudah diperoleh. Berdasarkan informasi di atas, maka penelitian ini dilakukan untuk mengetahui patogenisitas isolat *B. thuringiensis* (100 PS) yang ditumbuhkan dalam buah kelapa terhadap berbagai jentik nyamuk di laboratorium.

BAHAN DAN CARA KERJA

A. Bahan Penelitian

Media yang digunakan adalah buah kelapa serta media *Tryptose Phosphate Broth* (TPB) sebagai media standar.

Isolat *B. thuringiensis* (100 PS) yang diperoleh dari hasil isolasi dari habitat tanah menurut metode Chilcott dan Wigley (1988)⁽⁴⁾. Buah kelapa yang digunakan adalah kelapa kering yang beratnya sekitar 1250 gram dan berisi air kelapa sebanyak 500 ml. Sebelum digunakan, terlebih dahulu tempurung kelapa dibersihkan dengan alkohol 70%. Jentik nyamuk vektor yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Anopheles aconitus*, *An. barbirostris*, *Aedes aegypti* dan *Culex quinquefasciatus* masing-masing instar III, hasil koloni di laboratorium.

Cara Kerja

Pertumbuhan dan Uji Patogenisitas Isolat *B. thuringiensis* (100 PS) sebagai berikut :

Isolat *B. thuringiensis* (100 PS) yang ditemukan dibuat kultur murni pada media "NYSMA" miring dan diinkubasi pada suhu 30°C selama 4 hari. Sesudah diinkubasi dari media "NYSMA" diambil 10 ose penuh (*loopfull*) dan dimasukkan ke dalam 50 ml Tryptose Phosphate Broth (TPB). Sesudah itu media TPB di *shake* (goyang) pada temperatur kamar selama 48 jam. Sesudah 48 jam, biakan murni pada media TPB dimasukkan ke dalam buah kelapa dan diinkubasi selatna 6 hari pada temperatur kamar. Sesudah 6 hari, dilakukan pengujian patogenisitas menurut metode Chilcott dan Wigley⁽⁴⁾, sebagai berikut :

Ambil 15 ml *broth* (diambil dari 50 ml TPB) dan dimasukkan ke dalam mangkok plastik berisi 100 ml air suling dan 25 jentik *An. aconitus instar III* (umur 6-7 hari). Sebagai kontrol, mangkok plastik hanya diisi 150 ml air suling dan 25 jentik *An. aconitus*. Untuk setiap perlakuan dilakukan 3 kali ulangan. Pengamatan dilakukan selama 24 dan 48 jam pengujian. Uji patogenisitas terhadap *An. barbirostris*, *Ae. aegypti* dan *Cx. quinquefasciatus* dilakukan dengan cara yang sama.

Biakan murni isolat *B. thuringiensis* (100 PS) yang disimpan pada media "NYSMA", diambil 2 ose penuh (*loopfull*) dan dimasukkan ke dalam 50 ml TPB sebagai media kimiawi (media standar). Media TPB di *shake* (goyang) pada temperatur kamar selama 48 jam. Sesudah 48 jam, pengujian patogenisitas dilakukan menurut metode Chilcott dan Wigley (1988)⁽⁴⁾ sebagai berikut :

Ambil 15 ml *broth* (diambil dari 50 ml TPB) dan dimasukkan ke dalam mangkok plastik berisi 100 ml air suling dan 25 jentik *An. aconitus instar III* (umur 6-7 hari). Sebagai kontrol, mangkok plastik hanya diisi 150 ml air suling dan 25 jentik *An. aconitus*. Untuk setiap perlakuan dilakukan 3 kali ulangan. Pengamatan dilakukan selama 24 dan 48 jam pengujian. Uji patogenisitas terhadap jentik *An. barbirostris*, *Ae. aegypti* dan *Cx. quinquefasciatus* dilakukan dengan cara yang sama.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengujian patogeiusitas isolat *B. thuringiensis* (100 PS), setelah ditumbuhkam dalam buah kelapa terhadap berbagai jentik nyamuk instar III pada 24 dan 48 jam pengajuan, disajikan pada **Tabel 1**.

Uji patogenisitas isolat *B. thuringiensis* (100 PS) yang ditumbuhkan dalam buah kelapa terhadap jentik *An. aconitus*, *An. barbirostris*, *Ae. aegypti* dan *Cx. quinquefasciatus* masing-masing instar III, menunjukkan potogenisitas > 50% pada 24 dan 48 jam pengujian. Persentase kematian jentik *An. aconitus*, *An. barbirostris*, *Ae. aegypti* dan *Cx. quinquefasciatus*, berturut-turut 76%, 78%, 97% dan 74% selama 24 jam pengujian dan 100%, 92%, 100% dan 100% pada 48 jam pengujian (**Tabel 1**).

Uji patogenisitas isolat *B. thuringiensis* (100 PS) yang ditumbuhkan dalam media kimiawi TPB terhadap jentik *An. aconitus*, *An. barbirostris*, *Ae. aegypti* dan *Cx. quinquefasciatus* masing-masing instar III, menunjukkan patogenisitas > 50%. Persentase kematian jentik *An. aconitus*, *An. barbirostris*, *Ae. aegypti* dan *Cx. quinquefasciatus* berturut-turut 73%, 80%, 78% dan 65% selama 24 jam pengujian dan 100%, 100%, 100% dan 88% pada 48 jam pengujian.

Uji yang dilakukan terhadap persentase kematian jentik *An. aconitus*, *An. barbirostris*, *Ae. aegypti* dan *Cx. quinquefasciatus* dari isolat yang ditumbuhkan dalam buah kelapa dan media TPB, tidak menunjukkan beda nyata pada 24 maupun 48 jam pengujian ($p > 0,05$). Hal ini berarti bahwa buah kelapa dapat digunakan sebagai media pengganti TPB. Walaupun tidak ada perbedaan yang bermakna, akan tetapi isolat. *Bacillus thuringiensis* (100 PS) yang ditumbuhkan dalam buah kelapa menunjukkan patogenisitas tinggi terhadap jentik *Ae. aegypti* yaitu 97% selama 24 jam pengujian dan 100% pada 48 jam

Tabel 1. Hasil uji patogenisitas isolat *B. thuringiensis* (100 PS) yang ditumbuhkan dalam buah kelapa terhadap berbagai jentik nyamuk instar III.

Isolat	Media	Persentase kematian berbagai jentik nyamuk*							
		<i>An. aconitus</i>		<i>An. barbirostris</i>		<i>At. aegypti</i>		<i>Cx. quinquefasciatus</i>	
		24 jam	48 jam	24 jam	48 jam	24 jam	48 jam	24 jam	48 jam
100	Kelapa	76	100	78	92	97	100	74	100
PS	TPB	73	100	80	100	78	100	65	88

* = rata-rata 3 kali ulangan

pengujian. Hal ini mungkin dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor misalnya kebiasaan dan perilaku makan jentik, formulasi (khususnya tingkat pengendapan/sedimentasi) serta adanya toksin di daerah makan jentik (*larval feeding zone*)^(5,6). Berdasarkan faktor daerah makan jentik dan tingkat sedimentasi/pengendapan, dapat diduga bahwa toksin *B. thuringiensis* lebih cepat mengendap ke bawah di dasar yang merupakan daerah makan jentik *Ae. aegypti* daripada di bawah permukaan air (*suspension feeders*) yang merupakan daerah makan bagi jentik *Cx. quinquefasciatus*⁽⁷⁾. Sedangkan jentik *Anopheles* yang mempunyai kebiasaan mengambil makanan (termasuk toksin) di daerah permukaan (lebih kurang 1-2 mm) dan bukan di dasar⁽⁸⁾. Setelah melihat persentase kematian berbagai jentik nyamuk yang > 50%, maka perlu dilakukan serologi dari isolat *B. thuringiensis* (100 PS) tersebut untuk mengetahui serotipenya. Sampai dengan saat ini telah dikenal 58 antisera - H standar, untuk menentukan serotipe bakteri *B. thuringiensis* yang diperoleh dari Institut Pasteur Perancis (Happy Widiastuti, Komunikasi Pribadi).

Bacillus thuringiensis serotipe H-14 telah diketahui mempunyai patogenisitas tinggi terhadap jentik nyamuk dan jentik lalat hitam⁽¹⁾. Asam amino dan karbohidrat yang dikandung buah kelapa merupakan sumber protein bagi pertumbuhan *B. thuringiensis*. Karena itu buah kelapa dapat digunakan sebagai media alami yang perlu dikembangkan lebih lanjut untuk pertumbuhan *B. thuringiensis*.

KESIMPULAN DAN SARAN

Patogenisitas isolat *B. thuringiensis* (100 PS) yang ditumbuhkan dalam buah kelapa terhadap jentik *An. aconitus*, *An. barbirostris*, *Ae. aegypti* dan *Cx. quinquefasciatus* menunjukkan patogenisitas > 50% pada 24 dan 48 jam pengujian.

Tidak ada perbedaan yang bermakna antara persentase kematian jentik *An. aconitus*, *An. barbirostris*, *Ae. aegypti* dan *Cx. quinquefasciatus* dari isolat yang ditumbuhkan dalam buah kelapa dan media Tryptose Phosphate Broth (p > 0,05).

Buah kelapa dapat digunakan sebagai medium alami untuk pertumbuhan *B. thuringiensis*.

Penelitian ini akan dikembangkan lebih lanjut dengan menggunakan kelapa sebagai media untuk pertumbuhan *B. thuringiensis* sehingga dapat digunakan untuk pengendalian jentik nyamuk di lapangan.

KEPUSTAKAAN

1. WHO. Data sheet on the biological control agent *Bacillus thuringiensis* serotype H-14. 1979. WHO/VBC/79.750.13p.
2. Blondine ChP, Widyastuti U, Sukarno, Subiantoro. Pertumbuhan isolat *Bacillus thuringiensis* pada media kelapa dan uji patogenisitasnya terhadap jentik nyamuk vektor. Cermin Dunia Kedokt. 1997; 119: 50-3.
3. Anonim. Malaria Control in a Nutshell International Development Research Centre. 2p. 1995.
4. Chilcott CN, Wigley PJ. Technical note: an improved method for differential staining of *Bacillus thuringiensis* crystals. Letters in Appl Microbiol 1988;7: 67-70.
5. Aly C, Mulla MA, Bo-Zhaoxu, Schnetter W. Rate of ingestion by mosquito larvae (*Diptera, Culicidae*) as a factor in the effectiveness of a stomach toxin. J. Med. Entomol. 1988; 25(3): 191-6.
6. Chilcott CN, Pillai JS. The use of coconut wastes for the production *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*. 1985.
7. Becker N, Djakaria S, Kaiser A, Zulhasril O, Ludwig HW. Efficacy of a new tablet formulations of an Asperogenous strain of *Bacillus thuringiensis israelensis* against larvae of *Aedes aegypti*. Bull. Soc. Vector Ecol. 1991 16(1):1-7.
8. Aly C, Mulla MS, Schnetter N, Bo-Zhaoxu. Floating bait formulations increase effectiveness of *B. thuringiensis* var *israelensis* against *Anopheles* larvae. J Am Mosq Contr Assoc. 1987.

RALAT

Pada CDK edisi No. 130/2001 halaman 54 terdapat kekeliruan judul naskah yang berbunyi :

Teknik Immunodiagnostik dalam Masyarakat: I. Prinsip-prinsip dasar teknik imunodiagnostik oleh Iwan H. Utama, I Nym. Suarsana.

Seharusnya:

Teknik Immunodiagnostik dalam Kesehatan Masyarakat: 1. Prinsip-prinsip dasar teknik imunodiagnostik oleh Iwan H. Utama, I Nym. Suarsana

Demikian kekeliruan telah kami perbaiki dan terima kasih.

Redaksi

Living is not breathing, it is acting
(Rousseau)