

Uji Efikasi Formulasi Cair (*Liquid*) *Bacillus thuringiensis* H-14 Galur Lokal pada Berbagai Fermentasi terhadap Jentik Nyamuk Vektor di Laboratorium

Blondine Ch.P, Damar Tri Boewono

Balai Penelitian Vektor dan Reservoir Penyakit, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan
Departemen Kesehatan RI, Salatiga

ABSTRAK

Bacillus thuringiensis H-14 yang juga disebut dengan *Bt* H-14 adalah bio-insektisida yang bersifat spesifik terhadap target serangga sasaran, aman bagi golongan mamalia, dan tidak mencemari lingkungan. Uji efikasi formulasi cair *Bt* H-14 galur lokal dilakukan pada fermentasi 18 jam, 20 jam, 22 jam, 24 jam dan 25 jam. Tujuan penelitian untuk mengetahui efikasi *Bt* H-14 galur lokal pada berbagai fermentasi terhadap jentik *Anopheles aconitus* dan *Culex quinquefasciatus* instar III akhir.

Hasil perhitungan jumlah sel hidup dan jumlah spora hidup formulasi cair *Bt* H-14 galur lokal pada fermentasi 18 jam, 20 jam, 22 jam, 24 jam dan 25 jam berturut-turut adalah $4,5 \times 10^7$ sel/ml dan $10,9 \times 10^7$ spora/ml; $5,5 \times 10^8$ sel/ml dan $8,6 \times 10^8$ spora/ml; $10,2 \times 10^8$ sel/ml dan $9,0 \times 10^8$ spora/ml; $10,0 \times 10^8$ sel/ml dan $12,8 \times 10^8$ spora/ml; serta $9,2 \times 10^8$ sel/ml dan $11,2 \times 10^8$ spora/ml. Konsentrasi yang dibutuhkan untuk mengendalikan 50% dan 90% jentik *An. aconitus* instar III akhir selama 24 jam pengujian pada fermentasi 18 jam, 20 jam, 22 jam, 24 jam dan 25 jam berturut-turut adalah 0,016 ml/l (LC50), 0,082 ml/l (LC90); 0,009 ml/l (LC50), 0,058 ml/l (LC90); 0,008 ml/l (LC50), 0,021 ml/l (LC90); 0,002 ml/l (LC50), 0,008 ml/l (LC90) serta 0,005 ml/l (LC50) dan 0,021 ml/l (LC90). Pada 48 jam pengujian, membutuhkan konsentrasi sebesar 0,012 ml/l (LC50), 0,078 ml/l (LC90); 0,001 ml/l (LC50), 0,011 ml/l (LC90); 0,005 ml/l (LC50), 0,016 ml/l (LC90); 0,001 ml/l (LC50), 0,004 ml/l (LC90); serta 0,001 ml/l (LC50) dan 0,012 ml/l (LC90). Konsentrasi yang dibutuhkan untuk mengendalikan 50% dan 90% jentik *Cx. quinquefasciatus* instar III akhir selama 24 jam pengujian pada fermentasi 18 jam, 20 jam, 22 jam, 24 jam dan 25 jam berturut-turut adalah 0,002 ml/l (LC50), 0,008 ml/l (LC90); 0,002 ml/l (LC50), 0,009 ml/l (LC90); 0,002 ml/l (LC50), 0,013 ml/l (LC90); 0,001 ml/l (LC50), 0,002 ml/l (LC90); serta 0,001 ml/l (LC50) dan 0,002 ml/l (LC90). Konsentrasi terkecil formulasi cair *Bt* H-14 galur lokal untuk mengendalikan 50% dan 90% jentik *An. aconitus* dan *Cx. quinquefasciatus* adalah konsentrasi pada fermentasi 24 jam *Bt* H-14 galur lokal. Dengan demikian formulasi cair *Bt* H-14 galur lokal efektif dalam mengendalikan jentik nyamuk vektor.

Kata kunci: Uji efikasi, *Bt* H-14 galur lokal, *An. aconitus*, *Cx. quinquefasciatus*

PENDAHULUAN

Penggunaan *Bacillus thuringiensis* H-14 untuk pengendalian vektor malaria *Anopheles aconitus* dan vektor filaria *Culex*

quinquefasciatus telah dilakukan di laboratorium Pusat Antar Universitas (PAU), Yogyakarta dan Balai Penelitian Vektor Penyakit (BPVRP), Salatiga. *Bacillus thuringiensis* H-14

adalah agen mikrobial yang bersifat spesifik terhadap target serangga sasaran khususnya jentik nyamuk dan jentik lalat hitam. Aman bagi golongan mamalia, dan tidak mencemari lingkungan sehingga dapat dikembangkan sebagai agen pengendali vektor, khususnya vektor malaria dan filaria.

Salah satu karakteristik *B. thuringiensis* H-14 adalah dapat memproduksi kristal protein toksik di dalam sel bersama-sama dengan spora pada saat sel mengalami sporulasi⁽¹⁾.

Bacillus thuringiensis H-14 galur lokal hasil temuan BPVRP yang diperbanyak dalam formulasi cair (*liquid*) telah diketahui mempunyai daya bunuh yang tinggi terhadap jentik nyamuk vektor⁽²⁾.

Mengingat pentingnya penurunan kasus malaria dan filaria, maka perlu dilakukan penelitian pengendalian jentik *An. aconitus* dan *Cx. quinquefasciatus* menggunakan jasad hayati *B. thuringiensis* H-14 galur lokal.

Bacillus thuringiensis H-14 galur lokal formulasi cair akan diuji patogenesisnya pada 18 jam, 20 jam, 22 jam, 24 jam dan 25 jam fermentasi dengan tujuan untuk memperoleh dosis galur lokal yang efektif dalam mengendalikan jentik nyamuk vektor.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efikasi formulasi cair (*liquid*) *B. thuringiensis* H-14 galur lokal pada berbagai fermentasi terhadap jentik *An. aconitus* dan *Cx. quinquefasciatus* di laboratorium.

BAHAN DAN CARA KERJA

Bahan

Formulasi cair (*liquid*) *B. thuringiensis* H-14 galur lokal. Jentik *An. aconitus* dan *Cx. quinquefasciatus* instar III akhir hasil kolonisasi laboratorium.

Cara Kerja

1) Identifikasi koloni *B. thuringiensis* H-14 galur lokal

Inokulasi *B. thuringiensis* H-14 galur lokal pada media agar miring NYSMA diinkubasikan selama 48 jam pada suhu 30°C. Biakan murni yang diperoleh dalam media NYSMA dimurnikan kembali dengan cara diinokulasi pada media BHIA (*Brain Heart Infusion Agar*) yang telah diberi 0,00018% antibiotik Chloramphenicol untuk menghambat pertumbuhan bakteri lain seperti *Pseudomonas*, *Streptococcus* dan *Staphylococcus*, sehingga diperoleh koloni tunggal *B. thuringiensis* H-14 yang kemudian diinkubasikan selama 48 jam pada suhu 30°C. Sesudah 48 jam diamati morfologinya, dilakukan pengecatan koloni *B. thuringiensis* H-14 tunggal tersebut dengan menggunakan Naphthalene black 2 menit dan Gurr's improved R66 selama 1 menit untuk melihat adanya kristal protein toksin dan spora yang benar-benar murni (tidak terkontaminasi). Dari kultur murni *B. thuringiensis* H-14 galur lokal yang diperoleh, diambil 1 ose (sengkelit) dan dimasukkan ke dalam 50 ml TPB (*Tryptose Phosphate Broth*) dalam Erlenmeyer berukuran 250 ml, kemudian digoyang (*shake*) selama 24 jam, 175 rpm pada suhu 30°C. Sesudah diinkubasi, dibuat pengecatan kembali kultur tersebut, untuk melihat spora dan kristal protein toksik yang benar-benar murni. Biakan murni yang diperoleh diinokulasikan lagi ke dalam 100 ml TPB

(perlakuan 1), dan digoyang selama 24 jam, 175 rpm, pada suhu 30°C.

2) Fermentasi *B. thuringiensis* H-14 galur lokal

Lima puluh inokulum yang diambil dari 100 ml TPB (perlakuan 1), dimasukkan ke dalam *fermenter* steril berisi 950 ml TPB, pada suhu 30°C, 300 rpm dan aerasi 10%. Dilakukan *sampling* pada fermentasi 18 jam, 20 jam, 22 jam, 24 jam dan 25 jam. Sesudah itu dilakukan penghitungan jumlah sel hidup dan jumlah spora hidup menurut Soesanto (1992) serta uji patogenesisnya pada berbagai fermentasi.

3) Uji patogenesis formulasi cair *B. thuringiensis* H-14 galur lokal.

Untuk mendapatkan konsentrasi formulasi cair *B. thuringiensis* H-14 galur lokal yang efektif (LC50 dan LC90) membunuh jentik *An. aconitus* dan *Cx. quinquefasciatus* dilakukan cara WHO (1989)⁽³⁾. Larutan stok formulasi cair *B. thuringiensis* H-14 galur lokal pada fermentasi 18 jam, 20 jam, 22 jam, 24 jam dan 25 jam, dibuat dengan cara mengambil 0,1 ml formulasi cair *B. thuringiensis* H-14 galur lokal dari masing-masing fermentasi dan berturut-turut dimasukkan ke dalam *beaker glass* berukuran 500 ml, ditambahkan 99,9 ml akuades dan dikocok sampai homogen. Dari masing-masing larutan stok tersebut selanjutnya diambil berturut-turut sebanyak 1 ml, 3 ml, 5 ml, 7 ml, 10 ml, 30 ml dan 50 ml menggunakan pipet dan dimasukkan ke dalam mangkok plastik yang berisi 20 ekor jentik *An. aconitus* instar III akhir dengan jumlah akuades sebanyak 99 ml, 97 ml, 95 ml, 93 ml, 90 ml dan 70 ml untuk memperoleh konsentrasi final yang dibutuhkan yaitu 0,0001 ml/l, 0,0003 ml/l, 0,0005 ml/l, 0,0007 ml/l, 0,001 ml/l, 0,003 ml/l dan 0,005 ml/l berturut-turut dalam volume total sebanyak 100 ml. Ulangan dilakukan sebanyak 3 kali. Sebagai kontrol, mangkok plastik hanya diisi dengan 100 ml akuades dan 20 ekor jentik *An. aconitus*. Pengujian patogenesis formulasi cair *B. thuringiensis* H-14 galur lokal terhadap jentik *Cx. quinquefasciatus* instar III akhir, dilakukan dengan cara yang sama.

Kematian jentik *An. aconitus* dan *Cx. quinquefasciatus* diamati setelah 24 jam dan 48 jam pengujian. Penentuan nilai LC50 dan LC90 menggunakan analisis probit⁽³⁾.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penghitungan jumlah sel hidup dan jumlah spora hidup formulasi cair *B. thuringiensis* H-14 galur lokal pada fermentasi 18 jam, 20 jam, 22 jam, 24 jam dan 25 jam serta uji patogenesisnya terhadap jentik *An. aconitus* instar III akhir disajikan pada **Tabel 1**.

Fermentasi *B. thuringiensis* H-14 galur lokal selama 18 jam menghasilkan jumlah sel hidup dan jumlah spora hidup masing-masing sebesar $4,5 \times 10^7$ sel/ml dan $10,9 \times 10^7$ spora/ml yang dapat mengendalikan 50% dan 90% jentik *An. aconitus* pada konsentrasi 0,016 ml/l (LC50) dan 0,082 ml/l (LC90) selama 24 pengujian. Pada pengujian selama 48 jam dibutuhkan konsentrasi sebesar 0,012 ml/l (LC50) dan 0,078 ml/l (LC90). Fermentasi *B. thuringiensis* H-14 galur lokal selama 20 jam, menghasilkan jumlah sel hidup dan jumlah spora hidup berturut-turut sebesar $5,0 \times 10^8$ sel/ml dan $8,6 \times 10^8$ spora/ml yang dapat mengendalikan 50% dan 90% jentik *An. aconitus*

pada dosis 0,009 ml/l (LC50) dan 0,058 ml/l (LC90) selama 24 jam pengujian. Pengujian selama 48 jam membutuhkan konsentrasi 0,001 ml/l (LC50) dan 0,011 ml/l (LC90). Fermentasi *B. thuringiensis* H-14 galur lokal selama 22 jam, menghasilkan jumlah sel hidup dan jumlah spora hidup berturut-turut sebesar $10,2 \times 10^8$ sel/ml dan $9,0 \times 10^8$ spora/ml yang dapat mengendalikan 50% dan 90% jentik *An. aconitus* pada konsentrasi 0,008 ml/l (LC50) dan 0,021 ml/l (LC90) selama 24 jam pengujian. Pengujian selama 48 jam membutuhkan konsentrasi 0,005 ml/l (LC50) dan 0,016 ml/l (LC90). Fermentasi *B. thuringiensis* H-14 galur lokal selama 24 jam, menghasilkan jumlah sel hidup dan jumlah spora hidup masing-masing sebesar $10,0 \times 10^8$ sel/ml dan $12,8 \times 10^8$ spora/ml dapat mengendalikan 50% dan 90% jentik *An. aconitus* pada konsentrasi 0,002 ml/l (LC50) dan 0,008 ml/l (LC90) selama 24 jam pengujian. Pengujian selama 48 jam, membutuhkan konsentrasi sebesar 0,001 ml/l (LC50) dan 0,004 ml/l (LC90). Fermentasi 25 jam menghasilkan jumlah sel hidup dan jumlah spora hidup masing-masing sebesar $9,2 \times 10^8$ sel/ml dan $11,2 \times 10^8$ spora/ml dapat mengendalikan 50% dan 90% jentik *An. aconitus* pada konsentrasi 0,005 ml/l (LC50) dan 0,021 ml/l (LC90) selama 24 jam pengujian. Pada pengujian selama 48 jam, dibutuhkan konsentrasi sebesar 0,001 ml/l (LC50) dan 0,012 ml/l (LC90). Konsentrasi terkecil untuk mengendalikan jentik *An. aconitus* adalah formulasi cair *B. thuringiensis* H-14 galur lokal pada fermentasi 24 jam yaitu LC90 (0,008 ml/l) diikuti fermentasi 22 jam (0,021 ml/l), fermentasi 20 jam (0,058 ml/l) dan fermentasi 18 jam (0,082 ml/l). Sedangkan konsentrasi yang dibutuhkan untuk mengendalikan jentik *An. aconitus* pada fermentasi 25 jam adalah sama dengan fermentasi pada 22 jam yaitu 0,021 ml/l (LC90). Ini menunjukkan bahwa toksin bakteri *B. thuringiensis* H-14.⁽¹⁾

Tabel 1. Jumlah sel hidup dan jumlah spora hidup formulasi cair *B. thuringiensis* H-14 galur lokal pada fermentasi 18 jam, 20 jam, 22 jam, 24 jam dan 25 jam serta uji patogenesisnya terhadap jentik nyamuk *Anopheles aconitus*

Bt H-14 Galur Lokal (jam)	Jumlah sel hidup	Jumlah spora hidup	Kematian 50% dan 90% jentik <i>An. aconitus</i>			
			24 jam (ml/l)		48 jam (ml/l)	
			LC50	LC90	LC50	LC90
18	$4,5 \times 10^7$	$10,9 \times 10^7$	0,016	0,082	0,012	0,078
20	$5,0 \times 10^8$	$8,6 \times 10^8$	0,009	0,058	0,001	0,011
22	$10,2 \times 10^8$	$9,0 \times 10^8$	0,008	0,021	0,005	0,016
24	$10,0 \times 10^8$	$12,8 \times 10^8$	0,002	0,008	0,001	0,004
25	$9,2 \times 10^8$	$1,2 \times 10^8$	0,005	0,021	0,001	0,012

Pertumbuhan yang baik untuk memperbanyak spora dan kristal formulasi cair *B. thuringiensis* galur lokal adalah pada 24 jam fermentasi. Hal ini sesuai dengan fase pertumbuhan bakteri *B. thuringiensis* yang sempurna pada 24 jam inkubasi.

Hasil perhitungan jumlah sel hidup dan jumlah spora hidup formulasi cair *B. thuringiensis* H-14 galur lokal pada fermentasi 18 jam, 20 jam, 22 jam, 24 jam dan 25 jam serta uji patogenesisnya terhadap jentik *Cx. quinquefasciatus* instar III akhir disajikan pada **Tabel 2**.

Jumlah sel hidup dan jumlah spora hidup *B. thuringiensis* H-14 masing-masing sebesar $4,5 \times 10^7$ sel/ml dan $10,9 \times 10^7$ spora/ml, mampu mengendalikan 50% dan 90% jentik *Cx.*

Tabel 2. Jumlah sel hidup dan jumlah spora hidup formulasi cair *B. thuringiensis* H-14 galur lokal pada fermentasi 18 jam, 20 jam, 22 jam, 24 jam dan 25 jam serta uji patogenesisnya terhadap jentik *Culex quinquefasciatus*

Bt H-14 Galur Lokal (jam)	Jumlah sel hidup	Jumlah spora hidup	Kematian 50% dan 90% jentik <i>Cx. quinquefasciatus</i>			
			24 jam (ml/l)		48 jam (ml/l)	
			LC50	LC90	LC50	LC90
18	$4,5 \times 10^7$	$10,9 \times 10^7$	0,002	0,008	0,001	0,006
20	$5,0 \times 10^8$	$8,6 \times 10^8$	0,002	0,009	0,001	0,005
22	$10,2 \times 10^8$	$9,0 \times 10^8$	0,002	0,013	0,001	0,004
24	$10,0 \times 10^8$	$12,8 \times 10^8$	0,001	0,002	0,001	0,001
25	$9,2 \times 10^8$	$1,2 \times 10^8$	0,001	0,003	0,001	0,002

quinquefasciatus instar III akhir pada konsentrasi 0,002 ml/l (LC50) dan 0,008 ml/l (LC90) selama 24 jam pengujian pada fermentasi 18 jam. Pengujian selama 48 jam, membutuhkan konsentrasi sebesar 0,001 ml/l (LC50) dan 0,006 ml/l (LC90). Fermentasi *B. thuringiensis* H-14 selama 20 jam, memperoleh jumlah sel hidup dan jumlah spora hidup masing-masing sebesar $5,0 \times 10^8$ sel/ml dan $8,6 \times 10^8$ spora/ml, mampu mengendalikan 50% dan 90% jentik *Cx. quinquefasciatus* pada konsentrasi 0,002 ml/l (LC50) dan 0,009 ml/l (LC90) selama 24 jam pengujian. Pengujian selama 48 jam, membutuhkan konsentrasi sebesar 0,001 ml/l (LC50) dan 0,005 ml/l (LC90). Fermentasi selama 22 jam, menghasilkan jumlah sel hidup dan jumlah spora hidup masing-masing sebesar $10,2 \times 10^8$ sel/ml dan $9,0 \times 10^8$ spora/ml, mampu mengendalikan 50% dan 90% jentik *Cx. quinquefasciatus* pada konsentrasi 0,002 ml/l (LC50) dan 0,013 ml/l (LC90) selama 24 jam pengujian. Pengujian selama 48 jam, membutuhkan konsentrasi sebesar 0,001 ml/l (LC50) dan 0,004 ml/l (LC90). Fermentasi selama 24 jam, menghasilkan jumlah sel hidup dan jumlah spora hidup masing-masing sebesar $10,0 \times 10^8$ sel/ml dan $12,8 \times 10^8$ spora/ml mampu mengendalikan 50% dan 90% jentik *Cx. quinquefasciatus* pada konsentrasi 0,001 ml/l (LC50) dan 0,002 ml/l (LC90) selama 24 jam pengujian. Pengujian selama 48 jam, membutuhkan konsentrasi sebesar 0,001 ml/l pada LC50 dan LC90. Fermentasi formulasi cair *B. thuringiensis* H-14 galur lokal pada fermentasi 25 jam, menghasilkan jumlah sel hidup dan spora hidup masing-masing sebesar $9,2 \times 10^8$ sel/ml dan $11,2 \times 10^8$ spora/ml, mampu mengendalikan 50% dan 90% jentik *Cx. quinquefasciatus* pada konsentrasi 0,001 ml/l (LC50) dan 0,003 ml/l (LC90) selama 24 jam pengujian. Pengujian selama 48 jam, membutuhkan konsentrasi sebesar 0,001 ml/l (LC50) dan 0,002 ml/l (LC90). Seperti halnya jentik *An. aconitus*, konsentrasi terendah untuk mengendalikan jentik *Cx. quinquefasciatus* adalah konsentrasi pada 24 jam fermentasi yaitu LC90 (0,002 ml/l). Hal ini menunjukkan bahwa pertumbuhan dan perkembangan spora dan kristal *B. thuringiensis* H-14 optimal atau sempurna selama 24 jam fermentasi. Perbedaan konsentrasi *B. thuringiensis* H-14 galur lokal pada berbagai fermentasi dapat disebabkan oleh perilaku makan instar jentik, ada tidaknya toksin di daerah makan jentik (*larval feeding zone*) serta tingkat sedimentasi/pengendapan yang dapat mempengaruhi efektivitasnya⁽⁴⁾. Berdasarkan perilaku makan jentik, maka jentik *An. aconitus* biasa mengambil makanan di daerah permukaan air (lebih kurang 1-2 mm) sedangkan di bawah per-

mukaan air, merupakan daerah makan jentik *Cx. quinquefasciatus* ⁽⁵⁾. Jumlah sel hidup dan jumlah spora hidup tidak sama pada berbagai fermentasi formulasi cair *B. thuringiensis* H-14 galur lokal (Tabel 1, 2), tetapi hal ini tidak prinsipil; yang lebih penting adalah toksisitas atau daya bunuhnya terhadap jentik nyamuk ⁽⁶⁾.

KESIMPULAN DAN SARAN

Konsentrasi formulasi cair *B. thuringiensis* H-14 galur lokal yang terkecil dan efektif mengendalikan jentik *An. aconitus* dan *Cx. quinquefasciatus* adalah konsentrasi pada fermentasi 24 jam dengan jumlah sel hidup dan spora hidup masing-masing sebesar $10,0 \times 10^8$ sel/ml dan $12,8 \times 10^8$ spora/ml dan dapat mengendalikan 50% dan 90% jentik *An. aconitus* dan *Cx. quinquefasciatus* berturut-turut pada konsentrasi 0,002 ml/l (LC50), 0,008 ml/l (LC90); 0,001 ml/l (LC50), 0,002 ml/l (LC90); selama 24 jam pengujian. Pengujian selama 48 jam, membutuhkan konsentrasi 0,001 ml/l (LC50), 0,004 ml/l (LC90) untuk jentik *An. aconitus* dan 0,001 ml/l (LC50 dan LC90) bagi jentik *Cx. quinquefasciatus*.

formulasi cair *B. thuringiensis* H-14 galur lokal pada tempat-tempat perindukan jentik *An. aconitus* dan *Cx. quinquefasciatus* menggunakan konsentrasi aplikasi terkecil.

KEPUSTAKAAN

1. WHO. Data sheet on the biological control agent *Bacillus thuringiensis* serotype H-14. WHO/VBC, 1979; 79.750.13 p.
2. Blondine ChP. Penggunaan strain lokal *Bacillus thuringiensis* sebagai pengendalian vektor jentik nyamuk. Laporan Akhir Penelitian Rutin. 1998/1999.
3. Finney DJ. Probit Analysis, 3rded. Cambridge Univ. Press. London. 1971.
4. Mulla MS, Darwazeh HA, Aly C. Laboratory and field studies on new formulations of two microbial agents against mosquitoes. Bull. Soc. Vector. Ecol., 1986; 1 (2) : 255-63.
5. Becker N, Djakaria S, Kaiser A, Zulhasril O, Ludwig HW. Efficacy of a new larvae tablet formulations of an Asporogenous strain of *Bacillus thuringiensis israelensis* against of *Adese aegypti*. Bull. Soc. Vector. Ecol.. 1991; 16 (1): 1-7.
6. Bulla LA, Jr, Faust RM, Wabiko H, Raymond KC. Insecticidal Bacilli in DA Dubanau (ed) : The Molucular Biology of the Bacilli. Acad. Press. Inc. London, 1985; p.186-210.
7. WHO. Informal consultation of bacterial formulations for effective vector control in endemic area. WHO/VBC, 1989; 89.979.

Penelitian akan dilanjutkan dengan melakukan penebaran



Menurut para ahli Inggris :
Orang yang bekerja kasar
lebih cepat tua daripada
yang sebaliknya !