

PENCARIAN DAN ISOLASI PATOGEN SERTA PENGUJIAN POTENSINYA SEBAGAI PENGENDALI JENTIK NYAMUK

Blondine Ch. P. dan Umi Widyastuti *

ABSTRACT

IDENTIFICATION AND ISOLATION OF PATHOGENS AND THEIR POTENCY IN THE MOSQUITO LARVAE CONTROL

A study to evaluate capability of bacteria from soil sample as biological vector control against mosquito larvae was conducted at the Vector Control Research Station at Salatiga.

*Sample of soil from 6 different locations from East Flores were obtained and evaluated for this purpose. Total of 17 samples, 8 samples from Nobo Konga, 4 samples from Bonu, 2 from Eputobi and 1 sample each from Gerong, Lewolaga and Pululera villages. All these villages are located at Wullanggitang subdistrict. Result of bacteriological evaluation showed that 11 out of 15 (73.3 %) *Bacillus thuringiensis* isolates and 2 *Bacillus* sp have pathogenicity of more than 50 % toward *Aedes aegypti* instar III larvae after 24 hours of exposure.*

*Result of this study showed possibility of utilization of *B. thuringiensis* and certain *Bacillus* sp as biological control for population of larvae from mosquitos that are capable to act as vector of human disease.*

Key-words: *B. thuringiensis, Bacillus sp.*

PENDAHULUAN

Nyamuk yang berperan sebagai vektor masih merupakan salah satu masalah kesehatan masyarakat Indonesia. Upaya pengendalian vektor dengan menggunakan berbagai macam insektisida telah dilakukan. Tetapi penggunaan insektisida secara terus menerus dapat menimbulkan pencemaran lingkungan, resistensi

vektor, matinya patogen atau predator yang ada di habitatnya. Timbulnya masalah tersebut memacu para pakar entomologi dan pelaksana pengendalian vektor mencari cara lain untuk mengendalikan vektor. Salah satu cara yang cukup potensial dan tidak mempunyai efek samping terhadap lingkungan adalah pengendalian secara hayati dengan menggunakan bakteri patogen.

* Stasiun Penelitian Vektor Penyakit, Puslit Ekologi Kesehatan, Salatiga, Jawa Tengah.

Keanekaragaman ekosistem di Indonesia memberi peluang ditemukan berbagai patogen jentik nyamuk. Berdasarkan hal tersebut di atas dilakukan penelitian yang bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi patogen jentik nyamuk yang dapat digunakan dalam pengendalian vektor.

BAHAN DAN CARA KERJA

Daerah penelitian

Sampel tanah diambil dari 6 lokasi yaitu :

1. Nobo Konga dengan ketinggian kurang lebih 10 meter dari permukaan laut. Desa ini merupakan daerah persawahan sepanjang tahun dan hutan yang ditumbuhi pohon asam dan pahlawan.
2. Gerong dengan ketinggian kurang lebih 20 meter dari permukaan laut. Desa ini merupakan daerah perkebunan kelapa.
3. Eputobi dan Lewolaga dengan ketinggian kurang lebih 25 meter dari permukaan laut. Desa-desa ini merupakan daerah perladangan berbatu-batu yang ditanami jagung atau padi pada musim hujan.
4. Pululera dengan ketinggian kurang lebih 200 meter dari permukaan laut. Desa ini merupakan daerah perkebunan kopi.
5. Boru dengan ketinggian kurang lebih 200 meter dari permukaan laut. Desa ini merupakan daerah rawa.

CARA KERJA

Sampel tanah diambil dari 6 jenis habitat yaitu sawah, bawah pohon, cabang pohon, lubang pohon, di antara batu dan yang berbeda di daun pisang. Setiap jenis tanah diambil 3 sampel yang beratnya masing-masing 100 gram.

Satu gram sampel tanah ditambah 10 ml air suling dan didiamkan 5-6 menit. Dari sampel tersebut dibuat seri pengeceran 10^{-1} - 10^{-5} , masing-masing dipanaskan pada suhu 70°C selama 15 menit. Tujuan dipanaskan untuk menghambat pertumbuhan bakteri non spora seperti *Pseudomonas*, *Proteus* dan kuman-kuman *coliform*. Masing-masing seri pengenceran diinokulasikan pada media agar nutrien (yang berisi bahan bacto beef extract 3 gram, bacto peptone 5 gram dan bacto agar 15 gram per 1 liter aquadest), kemudian diinkubasikan selama 48 jam pada suhu 30°C . Terhadap koloni patogen dilakukan pengecatan dengan menggunakan metode Chilcott & Wigley,¹ untuk mendeteksi kristal protein. Cara pengecatan adalah dengan membuat preparat olesan dari koloni patogen, ditetesi dengan "Naphtalen black" selama 2 menit dan "Curr's improved R66 Giemsa" selama 1 menit. Ada tidaknya kristal dilihat di bawah mikroskop pada perbesaran 1000 kali. Dari koloni yang positif dibuat biakan murni pada media agar nutrien, diinkubasikan pada suhu 30°C selama 48 jam. Biakan murni yang diperoleh diinokulasikan pada media NYSMA "slope", pada suhu 30° selama 4 hari. Dari biakan murni (NYSMA "slope") dilakukan uji hayati¹, dengan

tujuan untuk mengetahui patogenisitas dari biakan murni tersebut, dengan cara sebagai berikut :

Biakan murni sebanyak 2 "loopfull" (2 ose penuh) dimasukkan ke dalam "shake glass" (gelas goyang) ukuran 250 ml yang diisi dengan 50 ml "Tryptose Phosphate Broth" (Oxoid, UNIPATH LTD, BASINGSTOKE, HAMPSHIRE, ENGLAND). Sampel tersebut digoyang dengan menggunakan penggoyang pada suhu kamar selama 48 jam. Sebanyak 15 ml sampel yang sudah digoyang dimasukkan ke dalam mangkok plastik yang diisi dengan 150 ml air suling dan 25 ekor jentik *Aedes aegypti* instar III. Ulangan dilakukan sebanyak 3 kali. Pengamatan dilakukan 24 jam sesudah perlakuan.

HASIL PENELITIAN

Dari 17 sampel tanah yang diperiksa, diperoleh 15 isolat positif *Bacillus thuringiensis* yaitu 4 isolat berasal dari Desa Nobo Konga (sawah/tanah & hutan/bawah pohon asam), 1 isolat dari Desa Gerong, (kebun.daun pisang), 1 isolat dari dari Desa Eputobi (hutan/cabang pohon asam), 3 isolat dari dari Desa Lewolaga (ladang/di antara batu), 1 isolat dari Desa Pululera (kebun/bawah pohon sengon), dan 5 isolat dari Desa Boru (rawa-rawa/cabang pohon jambu hutan). Selain itu ditemukan pula 2 isolat positif *Bacillus* sp. yaitu 1 isolat berasal dari Desa Eputobi (hutan/antara batu), dan 1 isolat dari Desa Boru (rawa-rawa/cabang pohon jambu hutan) (Tabel 1). *B. thuringiensis* adalah bakteri aerob yang membentuk spora dan masing-masing spora menghasilkan kristal

protein toksik (delta endotoksin) dalam sel selama sporulasi.²

Dari hasil pengecatan terlihat adanya kristal protein toksik *B. thuringiensis* yang tercat hitam, sedangkan spora-sporanya tercat ungu (Gambar 1). Karakteristik *Bacillus* sp. adalah spora-sporanya tercat ungu, bentuk bulat dan letaknya di tepi (terminal spore) (Gambar 2).

Lima belas isolat positif *B. thuringiensis* yang diuji patogenisitasnya, diperoleh 11 isolat yang mempunyai patogenisitas lebih dari 50 % dan 4 isolat dengan patogenisitas kurang dari 50 % terhadap jentik *Ae. aegypti* instar III (berumur 6-7 hari) Dua isolat positif *Bacillus* sp. yang diuji patogenisitasnya, masing-masing mempunyai patogenisitas lebih dari 50 % terhadap jentik *Ae. aegypti* instar III.

PEMBAHASAN

Dari 17 sampel tanah yang diambil dari 6 lokasi (Kecamatan Wulanggitang, Kabupaten Flores Timur), setelah diperiksa diperoleh 15 isolat positif *B. thuringiensis*. Sampel tanah negatif, berasal dari Desa Nobo Konga (hutan/cabang pohon asam) dan Desa Eputobi (hutan/di antara batu). Tidak ditemukannya patogen, mungkin disebabkan oleh pengambilan sampel yang kurang banyak dan tanah yang diambil adalah tanah yang berada pada lapisan permukaan. Menurut DR. Pillai J. S, (komunikasi pribadi) pada pengambilan sampel, tanah yang diambil adalah lapisan yang berada pada kedalaman 0,5 - 2 cm dari permukaan tanah.

Tabel 1. Hasil uji patogenisitas isolat *Bacillus thuringiensis* dan *Bacillus* sp. yang ditemukan di berbagai ekosistem di Kecamatan Wulanggitan, Kabupaten Flores Timur, NTT, terhadap jentik *Aedes aegypti* instar III.

No.	L o k a s i	Ekosistem/habitat	Isolat <i>B. thuringiensis</i>			Isolat <i>B. thuringiensis</i>		
			Jml sampel diperiksa/ jml isolat	I	II	Jml sampel diperiksa/ jml isolat	I	II
1.	Nobo Konga	Sawah	3/1	1 (100,0)	0,0	3/0	0,0	0,0
		- tanah sawah						
		Hutan						
2.	Gerong	Kebun	3/3	3 (80,0-98,7)	0,0	3/0	0,0	0,0
		- bawah pohon asam						
		- cabang pohon asam						
3.	Eputobi	Hutan	1/1	1 (96,0)	0,0	1/0	0,0	0,0
		- daun pisang						
3.	Eputobi	Hutan	1/0	0,0	0,0	1/1	1 (50,0)	0,0
		- di antara batu						
3.	Eputobi	Hutan	1/1	0,0	1 (4,0)	1/0	0,0	0,0
		- cabang pohon asam						
4.	Lewolaga	Ladang	1/3	3 (52,0-90,7)	0,0	1/0	0,0	0,0
		- di antara batu						
5.	Pululera	Kebun	1/1	0,0	1 (15,0)	1/0	0,0	0,0
		- bawah pohon sengon						
6.	Boru	Rawa-rawa (Se Luhir)	4/5	3 (96,0-100,0)	2 (1,3-4,0)	4/1	1 (100,0)	0,0
		- cabang pohon jambu hutan						
Jumlah			17/15	11 (52,0-100,0)	4 (1,33-15,0)	17/2	2 (50,0-100,0)	0,0

Keterangan : I = Jumlah isolat dengan kematian jentik nyamuk selama 24 jam > 50% (%)

II = Jumlah isolat dengan kematian jentik nyamuk selama 24 jam < 50% (%)



Gambar 1. Pengecatan kristal *Bacillus thuringiensis* (K = kristal, S = spora).



Gambar 2. Pengecatan spora *Bacillus* sp. (S = spora).

Dari 15 isolat positif *B. thuringiensis* yang telah diuji patogenesisnya, diperoleh 11 isolat yang mempunyai patogenesis lebih dari 50 % (52,0 - 100,0 %) dan 4 isolat dengan patogenesis kurang dari 50 % (1,33 - 15,0 %) terhadap jentik *Ae. aegypti* instar III. Perbedaan patogenesis tersebut antara lain mungkin disebabkan oleh banyak sedikitnya toksin (kristal) bakteri yang termakan oleh jentik, dan disebabkan pula oleh perbedaan serotipe. Serotipe *B. thuringiensis* H-14 menunjukkan patogenesis lebih tinggi terhadap jentik nyamuk dibandingkan dengan 13 serotipe lain yang menunjukkan patogenesis lebih tinggi terhadap jentik Lepidoptera². Untuk membuktikan dugaan ini akan dilakukan uji serologi guna mengetahui serotipenya. Selain itu tingkat sedimentasi/pengendapan, adanya toksin di daerah makan jentik (larval feeding zone) dan spesies nyamuk sasaran, merupakan faktor yang dapat mempengaruhi efikasi *B. thuringiensis*^{3,4}. Jentik *Ae. aegypti* biasa mengambil makanan di dasar dan dinding penampungan air (bottom feeders)⁵.

Dua isolat positif *Bacillus* sp. yang telah diuji patogenesisnya, masing-masing mempunyai patogenesis lebih dari 50 % (50,0 - 100,0 %) terhadap jentik *Ae. aegypti* instar III. Melihat hasil pengujian tersebut *Bacillus* sp memiliki potensi untuk dikembangkan di laboratorium. Identifikasi bakteri tersebut masih akan dilakukan.

Berdasarkan penelitian ini isolat positif baik *B. thuringiensis* maupun *Bacillus* sp. yang mampu membunuh lebih dari 50 % jentik *Ae. aegypti* yang diuji, akan dikembangkan lebih lanjut di laboratorium untuk kemudian digunakan dalam pengendalian jentik nyamuk di lapangan.

KESIMPULAN DAN SARAN.

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa beberapa daerah di Flores Timur mempunyai potensi sebagai sumber bakteri patogen lokal yang kemudian dapat digunakan sebagai jasad pengendali jentik nyamuk. Oleh karenanya pencarian bakteri patogen di daerah tersebut perlu dilanjutkan untuk kemudian dikembangkan di laboratorium Stasiun Penelitian Vektor Penyakit.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih penulis sampaikan kepada Dr. Sustriyu Nalim, Pjh. Kepala Stasiun Penelitian Vektor Penyakit, yang telah membina dan memberi saran hingga selesainya penulisan makalah ini, dan para teknisi Laboratorium Jasad Hayati SPVP Salatiga atas bantuan yang telah diberikan.

DAFTAR RUJUKAN

1. Chilcott, C.N. and Wigley, P.J. (1988). Technical notes: an improved method for differential staining of *Bacillus thuringiensis* crystals. Letters in Applied Microbiology. 7:67-70

2. WHO (1979). Data sheet on the biological control agent. **Bacillus thuringiensis** serotype H-14. WHO/VBC/79.750. 13p.
3. Becker, N & J. Margalit. Control of Diptera with **B. thuringiensis israelensis**.
4. Mulla MS., HA. Darwazeh & NS. Tietze (1988). Efficacy of **B. sphaericus** 2362 formulations against floodwater mosquitos. Journ. Am. Mosq. Contr. Assoc. 4(2).
5. Becker, N., S. Djakaria, A. Kaiser, O. Zulhasril & H.W. Ludwig (1991). Efficacy of a new tablet formulations of an Asporogenous strain of **Bacillus thuringiensis israelensis** against larvae of **Aedes aegypti**. Bull. Soc. Vector Ecol. 16 (1) : 1-7.