

263
EKO

Red

LAPORAN PENELITIAN RUTIN

ISOLASI BAKTERI PATOGEN DAN INVENTARISASI PARASIT SERTA PREDATOR
JENTIK NYAMUK

TAHUN ANGGARAN 1992/1993

Oleh

Blondine Ch. P, U. Widyastuti, Widiarti, Sukarno & H.N.T. Utami

STASIUN PENELITIAN VEKTOR PENYAKIT
PUSAT PENELITIAN EKOLOGI KESEHATAN
BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN
SALATIGA

(IV-10.A) LP-RBP92

LAPORAN PENELITIAN RUTIN

ISOLASI BAKTERI PATOGEN DAN INVENTARISASI PARASIT SERTA PREDATOR
JENTIK NYAMUK

TAHUN ANGGARAN 1992/1993

Oleh

Blondine Ch. P, U. Widyastuti, Widiarti, Sukarno & H.N.T. Utami

STASIUN PENELITIAN VEKTOR PENYAKIT
PUSAT PENELITIAN EKOLOGI KESEHATAN
BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN
SALATIGA

(IV-10.A) LP-RBP92

HADIAH

Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan	
PUSTAK	
Tgl	: 09 OCT 1993
No	: 263/93
No	:
	:

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	i
DAFTAR TABEL & GAMBAR	ii
RINGKASAN EKSEKUTIF	iii
ABSTRAK	iv
DATA PROYEK PENELITIAN	v
PENDAHULUAN	1
METODOLOGI PENELITIAN	1
- Lokasi	1
- Cara kerja	2
HASIL PENELITIAN	4
PEMBAHASAN	5
KESIMPULAN DAN SARAN	7
DAFTAR PUSTAKA	7

DAFTAR TABEL & GAMBAR

Halaman

Tabel 1.	Hasil isolasi <u>Bacillus thuringiensis</u> dari jentik nyamuk di tiga lokasi penelitian ..	8
Tabel 2.	Uji patogenisitas <u>B. thuringiensis</u> yang ditemukan terhadap jentik <u>Aedes aegypti</u> dan <u>Culex quinquefasciatus</u> instar III selama 24 jam	9
Tabel 3.	Hasil uji patogenisitas isolat <u>B. thuringiensis</u> yang ditemukan di habitat sawah di desa Pabelan terhadap jentik <u>Ae. aegypti</u> dan <u>Cx. quinquefasciatus</u> instar III selama 24 jam	10
Tabel 4.	Jenis predator yang diperoleh selama pengambilan jentik	11
Gambar 1.	Pengecatan kristal <u>B. thuringiensis</u>	12

RINGKASAN EKSEKUTIF

Beberapa cara telah dilakukan dalam upaya pengendalian jentik nyamuk, antara lain dengan menggunakan bakteri patogen. Pengendalian dengan menggunakan jasad hayati khususnya dengan bakteri patogen perlu dikembangkan karena tidak mempunyai efek samping yang merugikan lingkungan. Suatu upaya telah dilakukan untuk mencari dan mengisolasi bakteri patogen dari jentik berbagai jenis nyamuk pada habitat sawah dari desa Kauman Kidul (kecamatan Salatiga Luar Kota), desa Candran dan Banyuputih (kecamatan Salatiga) dan dari tanah pada habitat sawah di desa Pabelan (kecamatan Salatiga Luar Kota), pada tahun 1992/1993 dengan tujuan untuk mendapatkan bakteri patogen lokal yang dapat digunakan dalam pengendalian vektor.

Pada pemeriksaan 3 sampel jentik dari desa Candran (2 sampel) dan desa Banyuputih (1 sampel) yang dilakukan di Laboratorium Pengendalian Hayati, Stasiun Penelitian Vektor Penyakit di Salatiga, diperoleh 3 isolat Bacillus thuringiensis. tiga isolat (100 %) diuji selama 24 jam perlakuan terhadap jentik Aedes aegypti dan Culex quinquefasciatus instar III, mempunyai patogenisitas lebih dari 50 %. Pemeriksaan sampel tanah diperoleh 8 isolat B. thuringiensis. Dua isolat (25 %) dari 8 isolat B. thuringiensis yang diuji selama 24 jam perlakuan terhadap jentik Ae. aegypti dan Cx. quinquefasciatus mempunyai patogenisitas lebih dari 50 % terhadap jentik Ae. aegypti. Sehingga dapat disimpulkan bahwa desa-desa tersebut mempunyai potensi sebagai sumber bakteri patogen lokal yang akan dapat digunakan sebagai jasad pengendali jentik nyamuk.

Dua jenis predator yang ditemukan adalah nymphe Odonata sp. dan Mesocyclops sp., masing-masing pada habitat sawah dan kolam. Pencarian bakteri patogen dan predator masih akan dilanjutkan untuk kemudian dikembangkan di laboratorium.

ABSTRAK

Suatu penelitian telah dilakukan di Laboratorium Pengendalian Hayati, Stasiun Penelitian Vektor Penyakit di Salatiga, dengan tujuan untuk mencari dan mengisolasi bakteri patogen lokal dari jentik berbagai jenis nyamuk dan tanah dari berbagai habitat serta menginventarisasi predator yang dapat digunakan dalam pengendalian jentik nyamuk vektor.

Pemeriksaan 3 sampel jentik nyamuk dari 2 lokasi (desa Candran dan Banyuputih), memperoleh 3 isolat *Bacillus thuringiensis*. Uji patogenisitas isolat tersebut terhadap jentik *Aedes aegypti* dan *Culex quinquefasciatus* instar III menunjukkan bahwa 100 % isolat *B. thuringiensis* mempunyai patogenisitas > 50 %. Pemeriksaan 4 sampel tanah dari desa Pabelan, memperoleh 8 isolat *B. thuringiensis* uji patogenisitas isolat tersebut terhadap jentik *Ae. aegypti* dan *Cx. quinquefasciatus* instar III menunjukkan bahwa 25 % isolat *B. thuringiensis* mempunyai patogenisitas > 50 % terhadap jentik *Ae. aegypti*. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa desa-desa tersebut mempunyai potensi sebagai sumber bakteri patogen lokal yang dapat digunakan sebagai jasad pengendali jentik nyamuk. Sedangkan 2 jenis predator yang ditemukan adalah nympa *Odonata* sp. dan *Mesocyclops* sp. Oleh karenanya pencarian bakteri patogen dan predator akan dilakukan secara lebih intensif untuk kemudian dikembangkan di laboratorium.

DATA PROYEK PENELITIAN

Ketua pelaksana : Dra. Blondine Ch. Pattipeilohy.

Anggota tim pelaksana : Dra. Umi Widyastuti.
Dra. Widiarti.
Sukarno
Sudi Puryanto.
Hetty Nur Tri Utami.
Sri Miyati.

Sumber dana : DIK.

Waktu penelitian : 1992/1993.

Pembuatan laporan : April 1993.

PENDAHULUAN

Nyamuk yang berperan sebagai vektor malaria, DBD dan filariasis masih merupakan masalah yang penting bagi kesehatan masyarakat di Indonesia. Dalam upaya pengendalian vektor tersebut, penggunaan insektisida secara terus menerus akan menimbulkan pencemaran lingkungan. Salah satu alternatif cara pengendalian adalah dengan menggunakan jasad hayati khususnya dengan patogen.

Dalam rangka pengembangan jasad hayati sebagai sarana pengendali vektor di Indonesia, pada tahun 1991/1992 Stasiun Penelitian Vektor Penyakit (SPVP) melakukan penelitian isolasi bakteri patogen dari jentik berbagai jenis nyamuk pada habitat sawah di desa Wonokerto (kecamatan Bringin) dan desa Pabelan (kecamatan Salatiga Luar Kota).

Hasil penelitian menemukan adanya jentik nyamuk yang terinfeksi bakteri patogenik Bacillus thuringiensis¹. Penemuan jasad hayati (patogen) dari alam diharapkan dapat dikembangkan dan digunakan untuk pengendalian vektor. Dewasa ini penelitian masih dilaksanakan dari berbagai lokasi yang berbeda. Hasil penelitian tersebut diuraikan dalam laporan ini.

METODOLOGI PENELITIAN

Lokasi

Penelitian ini dilakukan di desa Kauman Kidul (kecamatan Salatiga Luar Kota), desa Candran dan Banyuputih (kecamatan Salatiga), sebab daerah tersebut merupakan daerah persawahan sepanjang tahun yang merupakan habitat jentik nyamuk. Sampel

tanah diambil dari habitat sawah di desa Pabelan, (kecamatan Salatiga Luar Kota).

Cara kerja

Pengumpulan jentik nyamuk dilakukan dengan menggunakan ciduk email bundar (volume 350 ml) secara acak di habitat sawah di daerah penelitian. Pengambilan sampel dilakukan secara rutin 2 minggu sekali selama 1 tahun.

Jentik yang diperoleh dari hasil penangkapan di bawa ke laboratorium. Pengamatan awal terhadap jentik (baik yang masih hidup maupun yang sudah mati) dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis. Jentik hidup yang terinfeksi patogen menunjukkan gejala-gejala seperti tampak lemah, tidak mau makan, lumpuh dan akhirnya mati. Disamping gejala-gejala tersebut di atas jentik juga menunjukkan perubahan warna yang mencolok seperti warna hitam, putih, kuning tua, coklat kehitaman tergantung pada jenis patogen penyebabnya.

Sebanyak 1 sampai 5 ekor sampel jentik nyamuk yang diduga terinfeksi patogen bakteri dimasukkan ke dalam tabung reaksi steril dan dimaserasi dengan batang gelas kecil, kemudian ditambahkan 9 ml NaCl 0.85 % dan didiamkan selama 5 menit. Dari sampel tersebut dibuat pengenceran 10^{-1} - 10^{-5} , masing-masing dipanaskan pada suhu 70° C selama 15 menit. Pemanasan tersebut bertujuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri lain terutama bakteri non spora. 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 metoda Chilcott & Wigley², untuk mendeteksi kristal protein. Cara pengecatan adalah dengan membuat preparat olesan dari koloni patogen, ditetesi dengan "Naphtalen black" selama 2 menit dan "Gurr'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 NY SMA "Slope" diinkubasikan pada suhu 30° C selama 4 hari. Dari biakan murni (NY SMA "Slope") dilakukan uji hayati 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 100 ml air suling dan 25 ekor jentik Aedes aegypti instar III (umur 6-7 hari). Sebagai kontrol, mangkok plastik hanya diisi dengan 150 ml air suling dan 25 ekor jentik Ae. aegypti instar III. Ulangan dilakukan sebanyak 3 kali. Pengamatan dilakukan 24 jam sesudah perlakuan. Uji hayati terhadap Culex quinquefasciatus dilakukan seperti cara yang sama.

Sampel tanah yang beratnya kira-kira 100 gram, diambil 1 gram kemudian ditambah dengan 10 ml air suling dan didiamkan 5-

6 menit. Dari sampel tersebut dibuat pengenceran 10^{-1} - 10^{-5} , masing-masing dipanaskan pada suhu 70° C selama 15 menit. Pemanasan tersebut bertujuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri lain terutama bakteri non spora. Cara kerja selanjutnya sama seperti pemeriksaan sampel jentik nyamuk.

Alat yang dipakai untuk mengambil predator adalah ciduk email bundar (volume 350 ml) dan jaring plankton di habitat sawah dan kolam. Predator yang diperoleh diidentifikasi untuk mengetahui spesiesnya.

HASIL PENELITIAN

Dari pengambilan sampel jentik nyamuk di desa Candran (sawah) diperoleh 358 ekor jentik Anopheles vagus dan 182 ekor jentik Culex bitaeniorhynchus, masing-masing spesies terinfeksi oleh patogen berturut-turut 2,0 % dan 2,7 %. Sedangkan di desa Banyuputih (sawah) diperoleh sebanyak 157 ekor jentik An. vagus. Dari jumlah tersebut 3,8 % terinfeksi oleh patogen (Tabel 1). Spesies jentik nyamuk An. vagus, Cx. bitaeniorhynchus dan Cx. vishnui yang ditemukan di desa Kauman Kidul belum ada yang terinfeksi patogen, begitu pula dengan jentik nyamuk Cx. vishnui yang ditemukan di desa Candran dan Banyuputih (Tabel 1).

Isolasi sampel jentik nyamuk yang terinfeksi patogen dari desa Candran dan Banyuputih, menemukan bakteri patogenik B. thuringiensis (Tabel 1). Dari hasil pengecatan terlihat bahwa kristal protein toksik B. thuringiensis tercat hitam, sedangkan sporanya tercat ungu (Gambar 1). Hasil isolasi dari jentik nyamuk yang tampak sehat (tidak terinfeksi patogen) ternyata negatif.

Setelah dilakukan uji hayati/patogenisitas dari 3 isolat B. thuringiensis, masing-masing mempunyai patogenisitas lebih dari 50 % terhadap jentik Ae. aegypti dan Cx. quinquefasciatus (Tabel 2).

Dari 4 sampel tanah yang diperiksa diperoleh 8 isolat B. thuringiensis yaitu 5 isolat berasal dari habitat sawah dan 3 isolat dari habitat sampah (penampungan daun-daun kering dari pohon di sekitarnya)

Uji patogenisitas 8 isolat B. thuringiensis terhadap jentik Ae. aegypti instar III (berumur 6 - 7 hari), memperoleh 2 isolat yang mempunyai patogenisitas lebih dari 50 % dan 6 isolat dengan patogenisitas kurang dari 50 %. Sedangkan uji patogenisitas 8 isolat tersebut terhadap jentik Cx. quinquefasciatus menunjukkan bahwa kedelapan isolat ini mempunyai patogenisitas kurang dari 50 % (Tabel 3).

Disamping patogen diperoleh juga 2 jenis predator jentik nyamuk yaitu Nympha Odonata sp. dan Mesocyclops sp (Tabel 4).

PEMBAHASAN

Dari hasil pengambilan sampel jentik nyamuk di desa Candran dan Banyuputih ternyata jentik An. vagus ditemukan paling dominan dibandingkan spesies lain sehingga kemungkinan/peluang untuk mendapatkan jentik yang terinfeksi lebih besar. Patogen juga ditemukan pada Cx. bitaeniorhynchus di desa Candran. Walaupun jumlah sampel spesies jentik nyamuk yang terkumpul dari desa Kauman Kidul cukup banyak tetapi belum ditemukan patogen. Hal ini dipengaruhi oleh faktor lingkungan misalnya pH, komposisi kimia,

temperatur dan kualitas air. ³. Culex vishnui dari desa Candran dan Banyuputih belum ditemukan patogen karena jumlah sampel yang diambil kurang banyak.

Dari 3 isolat positif B. thuringiensis yang telah diuji patogenisitasnya diperoleh 3 isolat (100 %) yang mempunyai patogenisitas lebih dari 50 % (70,7 - 100,0 %) terhadap jentik Ae. aegypti dan Cx. quinquefasciatus.

Penemuan bakteri patogen pada sampel-sampel tanah juga dipengaruhi oleh komposisi kimia tanah, pH tanah dan cahaya/sinar matahari³. Pada habitat yang tidak terlindung dalam arti langsung kena sinar matahari terus menerus akan menyebabkan matinya bakteri patogen yang ada di habitat tersebut. Oleh karena itu pada pengambilan sampel, tanah yang diambil adalah lapisan yang berada pada kedalaman 0,5 - 2 cm dari permukaan tanah (DR. Pillai, komunikasi pribadi).

Dari 8 isolat B. thuringiensis yang diuji patogenisitasnya, 2 isolat (25 %) mempunyai patogenisitas lebih dari 50 % (80 - 97,33 %) dan 6 isolat (75 %) dengan patogenisitas kurang dari 50 % (12,0 - 17,33 %) terhadap jentik Ae. aegypti instar III. Sedangkan kedelapan isolat tersebut mempunyai patogenisitas kurang dari 50 % (2,67 - 46,67 %) terhadap jentik Cx. quinquefasciatus instar III. Perbedaan patogenisitas tersebut antara lain disebabkan oleh banyak sedikitnya toksin (kristal) yang termakan dan adanya perbedaan serotipe ⁴. Mengingat bahwa 100 % dan 25 % dari isolat yang masing-masing berasal dari sampel jentik dan tanah mempunyai patogenisitas tinggi, maka serologi akan dilakukan guna mengetahui serotipenya, untuk kemudian dikembangkan di laboratorium.

Jenis predator (*Nympha Odonata* sp. dan *Mesocyclops* sp.) yang ditemukan akan dikembangkan lebih lanjut di laboratorium untuk kemudian digunakan dalam pengendalian jentik nyamuk.

KESIMPULAN DAN SARAN

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa lokasi penelitian desa Candran dan Banyuputih dan Pabelan mempunyai potensi sebagai sumber bakteri patogen lokal yang kemungkinan dapat digunakan sebagai jazad pengendali jentik nyamuk. Oleh karena itu pencarian bakteri patogen di lokasi tersebut perlu dilanjutkan untuk kemudian dikembangkan di Laboratorium SPVP Salatiga.

DAFTAR PUSTAKA

1. Blondine Ch. P., U. Widyastuti dan Widiarti (1992). Laporan Penelitian Rutin 1991-1992. Isolasi patogen nyamuk dan inventarisasi predator. Badan Litbang. Kes. SPVP. Salatiga. 9 h.
2. 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.
3. WHO, (1987). Report of an informal consultation on the detection, isolation, identification and ecology of biocontrol agents of disease vectors. TDR/BCV/IC-GE/87.3.
4. WHO, (1979). Data sheet on the biological control agent. *Bacillus thuringiensis* serotype H-14 WHO/VBC/79.750.13p.

Tabel 1. Hasil isolasi Bacillus thuringiensis dari jentik nyamuk dan tanah di empat lokasi penelitian.

No.	L o k a s i	Habitat	Spesies nyamuk	Jumlah jentik			Jumlah sampel tanah	Hasil isolasi	
				Terkumpul	Diduga terinfeksi patogen (%)			<u>B. thuringiensis</u>	<u>Bacillus sp</u>
1.	Kauman Kidul	Sawah	<u>An. vagus</u>	342	0	(0,0)		-	-
			<u>Cx. bitaeniorhynchus</u>	256	0	(0,0)		-	-
			<u>Cx. vishnui</u>	190	0	(0,0)		-	-
2.	Candran	Sawah	<u>An. vagus</u>	358	7	(2,0)		+	-
			<u>Cx. bitaeniorhynchus</u>	182	5	(2,7)		+	-
			<u>Cx. vishnui</u>	46	0	(0,0)		-	-
3.	Banyuputih	Sawah	<u>An. vagus</u>	157	6	(3,8)		+	-
			<u>Cx. vishnui</u>	93	0	(0,0)		-	-
4.	Pabelan	Sawah					3	+	-
		sampah*					1	+	-

(IV-10.A) T1LPRBP.92

* Penapungan daun-daun kering dari pohon di sekitarnya.

Tabel 2. Uji patogenisitas Bacillus thuringiensis yang ditemukan terhadap jentik Aedes aegypti dan Culex quinquefasciatus instar III selama 24 jam

No.	L o k a s i	Habitat: jentik	Spesies nyamuk asal isolat	Jumlah sampel/ isolat positif	Kematian jentik nyamuk terhadap <u>B. thuringiensis</u> *			
					I		II	
					<u>Aedes</u> <u>aegypti</u>	<u>Culex</u> <u>quinquefasciatus</u>	<u>Aedes</u> <u>aegypti</u>	<u>Culex</u> <u>quinquefasciatus</u>
1.	Candran	Sawah	<u>An. vagus</u>	1/1	1 (78,7)	1 (100,0)	-	-
			<u>Cx. bitaeniorhynchus</u>	1/1	1 (70,7)	1 (74,7)	-	-
2.	Banyuputih	Sawah	<u>An. vagus</u>	1/1	1 (81,3)	1 (96,0)	-	-
Jumlah				3/3	3 (70,7-81,3)	3 (74,7-100,0)	-	-

(IV-10.A) T2LP-RBP.92

* Rata-rata dari 3 ulangan

I > 50 %

II < 50 %

Tabel 3. Hasil uji patogenisitas isolat Bacillus thuringiensis yang ditemukan dari tanah terhadap jentik Aedes aegypti dan Culex quinquefasciatus instar III selama 24 jam

No.	L o k a s i	Habitat	Jumlah sampel diperiksa/ Jumlah isolat	Isolat <u>B. thuringiensis</u> *			
				I		II	
				<u>Aedes aegypti</u>	<u>Culex quinquefasciatus</u>	<u>Aedes aegypti</u>	<u>Culex quinquefasciatus</u>
1.	Pabelan	Sawah	3/5	2 (80-97,33)	0,0	3 (12,0-17,33)	5 (2,67-46,67)
		sampah *	1/3	0,0	0,0	3 (13,3-21,33)	3 (4,0-21,33)
J u m l a h			4/8	2 (80,97,33)	0,0	6 (12,0-17,33)	8 (2,67-46,67)

(IV-10.A) T3LPRBP.92

I = Jumlah isolat dengan kematian jentik nyamuk selama 24 jam > 50 %.

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

* = Penampungan daun-daun kering dari pohon di sekitarnya.

Tabel 4. Jentik predator yang diperoleh selama pengambilan

No.	Jenis predator	Habitat/Jumlah		Keterangan
		Sawah	Kolam	
1.	<i>Nympha Odonata</i> sp.	25		
2.	<i>Mesocyclops</i> sp.		250	Kolam yang tidak terawat dan tidak ada ikan

