Efektifitas Bacillus thuringiensis terhadap larva Culex quinquefasciatus pada berbagai media hidup larva

Effectivity of bacillus thuringiensis to culex quinquefasciatus larvae in some kinds of living media

Tri Wulandari Kesetyaningsih¹, Lilis Suryani²

¹Bagian Parasitologi Fakultas Kedokteran UMY, ²Bagian Mikrobiologi FK UMY

Abstract

One of mosquito that transmitted this disease is Culex quinquefasciatus. Insecticide commonly use for vector control because it can reduce mosquito population easily and rapidly, but have a high risk to pollution and resistancy. Bacillus thuringiensis (Bti) is bacteria that produce toxic crystal to larvae of Coleoptera, Diptera and Lepidoptera. The purpose of this study is to know the efficacy of Bti as larvicide to Cx. quinquefasciatus (L3) that live in media biologic water, rice field water and cesspool water and compare the larvae's death among those groups.

Subject of this study is Bti (strain H-14) Vectobac 12 US in liquid formula from Abott, USA, then examined its effectivity as larvicide to Cx quinquefasciatus. Twenty larvaes (L3) entered into every group that filled 100 ml of 1,2,3,4,5, and 6 ppm Bti solution and negative group. Observation was carried out after 24 hours exposure to get % of larvae's death. Larvae's death was decided if there is no movement by stick touched. Probit analysis used to decide LD50 and LD 95 and One way anova used to know the significancy difference of % larvae's death among research groups.

The result shows that Bti is effective to Cx, quinquefasciatus larvae with LD50 1,43 ppm in aquades group, 2,28 ppm in field water group and 4,56 ppm in cesspool water group. There is no significant difference of % larvae's death among research groups.

Key words: Bacillus thuringiensis, Culex quinquefasciatus, bioinsecticide

Abstrak

Salah satu nyamuk vektor filariasis adalah Culex quinquefasciatus. Pengendalian vektor dengan insektisida digunakan karena dapat menurunkan populasi nyamuk secara cepat, mudah dan dalam jumlah banyak, namun dapat menyebabkan pencemaran lingkungan dan beresiko terjadi resistensi. Bacillus thuringiensis (Bti) adalah bakteri pembentuk spora menghasilkan kristal toksik terhadap larva Coleoptera, Diptera dan Lepidoptera. Penelitian ini bertujuan mengetahui efektifitas Bti terhadap larva Cx quinquefasciatus (L3) pada tiga macam media hidup larva yaitu comberan, air sawah dan akuades serta membandingkan diantara ketiganya.

Subyek penelitian adalah Bii (strain H-14) Vectobac 12 AS formula cair dari Abott, diuji efektifitasnya sebagai larvisida Cx quinquefasciatus yang hidup pada media air biologis comberan, air sawah dan akuades. Tiap kelompok terdiri atas enam konsentrasi Bti (1, 2, 3, 4, 5 dan 6 ppm) dan kontrol negatif (tanpa Bti) yang dilarutkan dalam 100 ml air media hidup larva dan diisi 200

ekor L3 Cx. quinquefasciatus. Pengamatan dilakukan 24 setelah pemaparan dengan menghitung prosentase kematian larva. Larva dinyatakan mati bila sama sekali tidak bergerak setelah diusik dengan ujung pipet larva. Analisis Probit digunakan untuk menentukan LD50 dan LD95 dan analisa varians digunakan untuk menentukan signifikansi perbedaan prosen kematian diantara ketiga kelompok perlakuan.

Hasil penelitian menunjukkan Bti efektif sebagai larvisida Cx. quinquefasciatus dengan LD50 1,43 ppm pada akuades, 2,28 ppm .pada air sawah dan 4,56 ppm pada comberan sebagai media hidup larva. Tidak ada perbedaan bermakna diantara ketiga media hidup larva yang diujikan.

Kata kunci: Bacillus thuringiensis, Culex quinquefasciatus, bioinsektisida

Pendahuluan

Penyakit filariasis limfatik merupakan masalah kesehatan masyarakat, baik di dunia maupun di Indonesia, terutama di daerah rural. Salah satu jenis nyamuk yang dapat menularkan penyakit ini adalah Culex quinquefasciatus 1.

Penanggulangan dan pencegahan penyakit filariasis limfatik mengandalkan pada pemutusan rantai penularannya yaitu melalui pengendalian nyamuk vector dan pengobatan masal².

Penggunaan insektisida untuk pengendalian vector nyamuk dengan berbagai cara seperti pengasapan (thermal fogging) dan pengabutan (ultra low volume/ ULV) telah banyak digunakan. Aplikasi ULV telah dievaluasi dan hasilnya menunjukkan penggunaan ULV dapat menurunkan populasi nyamuk secara cepat, mudah dan dalam jumlah yang tinggi³. Namun perlu diwaspadai bahwa penggunaan insektisida kimiawi dapat menyebabkan pencemaran lingkungan dan berisiko terjadinya resistensi nyamuk terhadap insektisida⁴.

Di Indonesia, insektisida kimiawi telah digunakan sejak tahun 1972 sebagai pengendali vector. Namun pada tahun 1987 telah dilaporkan terjadinya resistensi nyamuk vector beberapa penyakit terhadap beberapa jenis insektisida kimiawi. ⁵ Oleh karena itu dipandang perlu untuk dilakukan pengembangan bioinsektisida yang relative aman, ramah lingkungan dan tidak menimbulkan resistensi nyamuk vektor.

Bacillus thuringiensis adalah bakteri pembentuk spora yang banyak tersebar di tanah. Selama proses sporulasi, bakteri ini menghasilkan kristal paraspora yang dikenal sebagai endotoksin. Delta endotoksin mempunyai sifat toksik terhadap larva serangga terutama dari kelompok Coleoptera, Diptera dan Lepidoptera^{6,7}.

Nyamuk Culex quinquefasciatus termasuk serangga dari Ordo Diptera, bersama dengan nyamuk dan lalat. Nyamuk ini mempunyai tempat perindukan di air-air yang kotor dan menggenang atau relative tenang. Genangan air comberan dan air sawah menjadi tempat yang sering didatangi nyamuk ini untuk bertelur^a.

Indonesia dengan iklim tropis dan curah hujan yang cukup tinggi merupakan tempat yang cocok bagi pertumbuhan dan perkembangbiakan berbagai mikroorganisme tanah. Pada lokasi penumpukan sampah, banyak tertimbun daun-daun dan hewan-hewan mati serta berbagai sisa bahan organik lainnya yang merupakan media yang baik untuk pertumbuhan bakteri ini. Di dalam tanah, bakteri ini berperan sebagai dekomposer berbagai bahan organik.

Penelitian mengenai efektivitas bakteri Bacillus thuringiensis sebagai larvisida telah banyak dilakukan tetapi sejauh ini belum pernah dilakukan efektivitas bakteri ini terhadap larva Culex quinquefasciatus yang hidup pada berbagai media hidup larva.

Penelitian ini bertujuan mengetahui LD50 dan LD 95 Bacillus thuringiensis terhadap larva Culex quinquefasciatus (L3) pada media hidup larva: air comberan, air sawah dan akuades serta membandingkan prosentase kematian larva antara ketiga macam media hidup larva setelah pemaparan Bacillus thuringiensis pada berbagai konsentrasi.

Bahan dan Cara

Subyek penelitian ini adalah Bacillus thuringiensis yang didapat dari Balai Penelitian Vektor dan reservoir Penyakit di Salatiga, Jawa Tengah. Bakteri yang didapat adalah Bacillus thuringiensis israelensis (strain H-14) Vectobac 12 AS dengan formula cair dari Abott, USA yang akan diuji efektifitasnya sebagai larvisida Culex quinquefasciatus yang hidup pada berbagai media air biologis. Penentuan spesies larva nyamuk berdasarkan morfologi secara mikroskopis sesuai kunci identifikasi dari DepKes.

Variabel bebas: B. thuringiensis israelensis pada konsentrasi 1, 2, 3, 4, 5, 6 ppm, variabel tergantung: LD50 dan LD90, variabel dikendalikan: volume media hidup, jumlah larva, umur / stadium larva, homogenisasi: suhu ruangan, kelembaban udara, variabel tak dikendalikan: pH media hidup larva.

Bahan penelitian adalah larva (L3)
Culex quinquefasciatus, Bacillus
thuringiensis israelensis (strain H-14)
Vectobac 12 AS dengan formula cair dari
Abott, USA, media hidup larva nyamuk : air
comberan, air sawah, akuades, pellet pakan
ikan sebagai pakan larva.

Alat penelitian adalah perangkat penangkap larva nyamuk (larvitrap), lampu senter, gayung dengan tangkai panjang dan plastik untuk tempat larva. Perangkat pemeliharaan larva yaitu: nampan plastik, pipet pengambil larva, gelas plastik. Alat untuk tempat hidup Bti: botol plastic dimasukkan dalam lemari es, alat untuk pengenceran Bti: mikropipet, pipet ukur, dan tabung rekasi. Mikroskop cahaya dan buku kunci identifikasi nyamuk Culex sp. untuk menentukan jenis larva.

Tahap persiapan penelitian meliputi penyediaan Bacillus thuringiensis, kolonisasi nyamuk Culex quinquefasciatus.

Tahap pengujian meliputi uji pendahuluan untuk mendapatkan konsentrasi yang sesuai untuk dapat mengungkap LD 50 dan LD90, pengujian terhadap L3 nyamuk Culex quinquefasciatus pada 3 kelompok media hidup larva yaitu air comberan, air sawah

dan akuades. Masing-masing kelompok terdiri atas 7 gelas berisi media 100 ml dengan konsentrasi B. thuringiensis 1, 2, 3, 4, 5, 6 ppm dan 1 control kemudian masing-masing dimasuki L3 20 ekor, pengulangan dilakukan 2 kali untuk tiap kelompok, sebagai control adalah Culex quiquefasciatus pada media tersebut tanpa diberi pemaparan B. thuringiensis.

Data yang diambil berupa prosen kematian larva pada tiap-tiap gelas setelah pemaparan *Bti* selama 24 jam. Prosen kematian larva kemudian dianalisis Probit untuk mendapatkan LD50 dan LD90 dan juga dianalisis Anova satu jalan untuk mengetahui perbedaan rerata prosen kematian larva dari ketiga jenis media hidup larva.

Hasil

Penelitian mengenai efektifitas Bacillus thuringiensis sebagai larvisida terhadap larva nyamuk Culex quinquefasciatus ini terdiri atas empat kelompok, yaitu tiga kelompok perlakuan berupa jenis media hidup larva yaitu air comberan, air sawah dan akuades dan satu kelompok control. Setiap kelompok diulangi (replikasi) sebanyak 2 kali.

Berdasarkan hasil penelitian pendahuluan, maka ditentukan konsentrasi yang akan digunakan untuk penelitian adalah 1, 2, 3, 4, 5, dan 6 ppm. Konsentrasi ini berbeda dengan penentuan konsentrasi vang direncanakan. Hal ini dilakukan karena ada banyak kemungkinan yang mungkin mempengaruhi efektifitas B.thuringiensis yang peneliti dapat, seperti penyimpanan selama perjalanan sampai penelitian, dan perbedaan formulasi dari yang direncanakan semula. Formula yang direncanakan adalah berupa serbuk, tetapi kenyataan di lapangan yang tersedia adalah dalam bentuk cair.

Hasil pengamatan yang dilakukan setelah 24 jam pemaparan larva dengan B. thuringiensis berupa prosentase kematian larva disajikan dalam Tabel 1. Larva dikategorikan mati apabila sudah tidak ada pergerakan sama sekali setelah diusik dengan pengaduk

Tabel 1. Prosen Kematian Larva Culex quinquefasciatus pada Berbagai Media Hidup Larva Setelah 24 Jam Pemaparan dengan Bacillus thuringiensis pada Konsentrasi 1, 2, 3, 4, 5, dan 6 ppm.

Media Hidup	Konsentrasi B. thuringiensis (ppm)											Kontrol		
	1		2		3		4		5		6			
Larva	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	п	%	n	%
Aquades I	9	45	10	50	11	55	12	60	11	55	12	60	2	10
II	11	55	9	45	13	65	12	60	12	60	17	85	4	20
Rerata	10	50	9,5	47,5	12	60	12	60	11,5	57,5	14,5	72,5	3	15
Sawah I	10	50	11	55	5	25	10	50	13	65	12	60	1	5
11	12	60	13	65	10	50	11	55	13	65	10	50	0	0
Rerata	11	55	12	60	7,5	37,5	10,5	52,5	13	65	11	55	0,5	2,
Comberan	0	0	12	60	10	50	10	50	10	50	10	50	0	0
	4	20	11	55	6	30	8	40	9	45	11	55	0	0
II Rerata	2	10	11,5	57,5	8	40	9	45	9,5	47,5	10,5	52,5	0	0

Adapun hasil analisis Probit menunjukkan LD 50 dan LD 90 pada ketiga kelompok media hidup larva sebagaimana tercantum dalam table 2 berikut.

Tabel 2. Nilai LD50 dan LD95 B. thuringiensis terhadap larva Culex quinquefasciatus pada berbagai media hidup larva (comberan, air sawah dan akuades)

Lathet Danie	Media hidup larva						
Lethal Dosis	akuades	sawah	comberan				
LD50	1,43	2,28	4,56				
LD95	361,05	5,87	103,68				

Diskusi

Dari Tabel 1 tampak bahwa ada kecenderungan peningkatan prosen kematian larva seiring dengan meningkatnya konsentrasi B. thuringiensis yang dipaparkan. Prosen kematian tertinggi dicapai pada kelompok aqudes pada konsentrasi 6 ppm. Hal ini kemungkinan karena akuades bukan merupakan tempat yang baik untuk pertumbuhan larva, meskipun dapat hidup. Hasil ini juga diperlihatkan pada kelompok control, prosen kematian pada kelompok akuades paling tinggi diantara jenis media yang lain.

Tabel 2 di atas menunjukkan bahwa LD 50 B.thuringiensis untuk larva yang hidup pada media akuades paling rendah (1,43 ppm) dibandingkan dengan LD50 B.thuringiensis untuk larva yang hidup di air sawah (2,28 ppm) maupun air comberan (4,56 ppm). Hal ini menunjukkan bahwa untuk membunuh larva yang hidup di air comberan atau di air sawah, dibutuhkan konsentrasi Bti yang lebih tinggi daripada larva yang hidup di akuades. Hal ini kemungkinan karena larva yang hidup di air comberan dan air sawah mempunyai kemampuan hidup lebih baik daripada larva yang hidup di akuades karena tersedianya nutrisi yang cukup di air comberan dan air sawah bagi larva Culex quinquefasciatus. Namun pada nilai LD95, diketahui bahwa nilai terendah terdapat pada larva pada media air sawah.(5,87 ppm). Hal ini menunjukkan bahwa kemungkinan larva di air sawah paling sensitive terhadap B. thuringiensis pada konsentrasi yang lebih tinggi.

Hasil analisis statistic anava satu jalan pada data prosen kematian larva setelah pemaparan B. thuringiensis menunjukkan adanya perbedaan signifikan antara kelompok perlakuan dengan kelompok control (p< 0,05) baik pada media akuades, media air sawah maupun media comberan dibandingkan, tetapi tidak ada perbedaan yang signifikan pada prosen kematian larva antar kelompok perlakuan (p>0,05). Hal ini menunjukkan bahwa Bti terbukti dapat digunakan sebagai larvisida terhadap larva Culex quinquefasciatus yang hidup pada berbagai media air. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Blondine dan Yuniarti tahun 2004 yang menyatakan bahwa B. thuringiensis galur lokal masih efektif sebagai larvisida setelah beberapa lama penyimpanan terhadap nyamuk laboratorium. 9

Kesimpulan

Hasil penelitian ini dapat disimpulkan sebagai berikut:

- Rerata prosen kematian tertinggi setelah pemaparan B. thuringiensis pada larva Culex quinquefasciatus terjadi pada kelompok larva yang hidup di akuades
- Ada perbedaan bermakna pada prosen kematian larva Cx. Quiquefasciatus antara kelompok perlakuan dengan kelompok control
- Tidak ada perbedaan bermakna pada prosen kematian Cx. Quiquefasciatus antar kelompok perlakuan.
- LD50 terendah dicapai juga pada kelompok larva dengan media akuades (1,34 ppm) dan tertinggi dicapai pada kelompok larva dengan media comberan (4,56 ppm).

Saran

Dari hasil penelitian di atas, disarankan penelitian lebih lanjut untuk mengungkap efektifitas B.thuringiensis sebagai larvisida untuk larva nyamuk atau serangga lain terutama yang hidup di alam, bukan di laboratorium.

Daftar Pustaka

- Markell, EK, M.Voge, and John, D.T., 1986. Medical Parasitology. W.B. Saunders Company, Philadelphia, London, Toronto, Mexico city, Rio de janeiro, sydney, Tokyo, Hongkong. P. 243.
- Kesetyaningsih, T.W., 2004. Efek antimikrofilaria Albendazole terhadap Brugia malayi pada Meriones unguiculatus secara invivo. MKI. Vol. 54. No.2. hal 43-47.
- WHO, 1992. Informal Consultation on the Development of Bacillus sphaericus as a microbial larvicide. TDR/BC/ sphaericus/85.pp 11-17.
- Depkes, 1987. Pemberantasan vector dan cara-cara evaluasinya. Ditjen PPM dan PLP, Depkes. RI., Jakarta. Hal. 13-34
- Suharyono, 1987. Penaggulangan DBD dengan fogging malathion pada tempat penularan potensial di Jakarta. Majalah kesehatan. DerKes., Jakarta.
- WHO, 1999. Environmental health criteria : Bacillus thuringiensis, EHC 217,.
- Jenssen,G.B, Larsen,P.,Jacobsen,B., et al. 2002. Bacillus thuringiensis in fecal samples fromm green house workers after exposure to B. thuringiensisbased pesticides. Journal Virology Applied and Environmental Microbiology. Vol 68. No. 10. pp 490-495
- Service, M.W., 1996. Medical Entomology. Chapman and Hall, London, pp 75-130
- Blondine, ChD. dan Yuniarti, 2004. Lama penyimpanan galur local Bacillus thuringiensis H-14 dalam buah kelapa dan uji efikasinya terhadap berbagai jentik nyamuk vector di laboratorium. Proceeding Seminar Trocical medicine, Universitas Airlangga, Surabaya.