

POTENSI BAKTERI KITINOLITIK SUMBER AIR PANAS SEBAGAI PENGENDALI HAYATI LARVA *Aedes aegypti* L.

Potential of Isolate Chitinolytic Bacteria from Hot springs, as Biological Control of *Aedes aegypti* L larva.

Fitria Ardani, Yekki Yasmin, Lenni Fitri

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Syiah Kuala
e-mail: v13_4@ymail.com

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi bakteri kitinolitik isolat asal air panas sebagai pengendali hayati larva *Aedes aegypti* L. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak lengkap (RAL) faktorial, yang terdiri dari dua faktor yaitu jenis isolat dan konsentrasi bakteri kitinolitik isolat lokal. Adapun prosedur penelitian meliputi pemeliharaan larva *Aedes aegypti* L., isolasi dan seleksi bakteri kitinolitik dan uji hayati. Data diolah dengan menggunakan Analisis Varian (ANOVA). Hasil penelitian diperoleh empat isolat untuk diuji pada larva nyamuk *Aedes aegypti* L. instar II. Pemberian isolat dan konsentrasi bakteri berbeda menunjukkan tidak adanya perbedaan yang nyata dalam menyebabkan kematian larva ($P>0,05$). Rata-rata kematian larva tertinggi yaitu pada perlakuan isolat bakteri IS 2 dan IS 3 dengan konsentrasi 1%. Pemberian isolat bakteri kitinolitik mempengaruhi proses pembentukan pupa, hal ini terlihat dari tidak terbentuknya pupa dari masing-masing konsentrasi maupun isolat. Pemberian isolat bakteri kitinolitik juga mengakibatkan kematian pada larva yang diawali bagian tubuh dan siphon larva memucat serta menghitamnya saluran pencernaan.

Kata kunci: Bakteri kitinolitik, Larva *Aedes aegypti* L., Sumber Air Panas.

Abstract

The purpose of this study was to discover the potential of isolate chitinolytic bacteria, hot springs, as biological control of *Aedes aegypti* L. larva. This research used Completed Randomized Designed (RAL) factorial with two factor, isolate types and concentration of isolate chitinolytic bacteria. The research procedure includes the maintenances of *Aedes aegypti* L. larva, isolation and selection of chitinolytic bacteria, and biological test. Data were processed by using Varian Analysis (ANOVA). The result of this study indicated that four isolates were test on larva of *Aedes aegypti* L. mosquito, instar II. Giving different isolate chitinolytic bacteria and concentration showed no significant differences in larva death ($P>0,05$). The highest average of larva death was exhibited at the treatments of 1% of IS 2 and IS 3 isolate. The occurrence of chitinolytic bacteria influenced the growth of pupa, it can be showed that the pupa was not formed from each concentration and isolate that caused the death in larva signed by the part of body and larva siphon were pale and digestive tract was dark.

Keywords: Chitinolytic bacteria, *Aedes aegypti* L. larva, Hot Springs.

PENDAHULUAN

Nyamuk *Aedes aegypti* L. merupakan vektor dari beberapa penyakit salah satunya demam berdarah dengue. Tindakan pencegahan yang biasa dilakukan dengan memberantas sarang nyamuk dan membunuh larva serta nyamuk dewasa. Pengendalian larva merupakan kunci strategi program pengendalian vektor di seluruh dunia (Okumu *et al.*, 2007).

Pemberantasan yang dilakukan dapat meliputi modifikasi pada habitat-habitat larva atau pengendalian dengan menggunakan pestisida kimiawi atau sintetis. Penggunaan pestisida kimiawi membutuhkan biaya yang tinggi. Selain itu penggunaan pestisida ini mengakibatkan munculnya resistensi dari berbagai macam spesies nyamuk yang menjadi vektor penyakit (Ndione *et al.*, 2007). Adanya dampak negatif yang ditimbulkan dari penggunaan pestisida

kimiawi menyebabkan perlu dicari alternatif larvasida yang lebih ramah terhadap lingkungan. Larvasida yang mulai dikembangkan adalah dengan memanfaatkan larvasida hayati, yaitu makhluk hidup yang mampu mengendalikan populasi larva nyamuk.

Bakteri juga diketahui dapat dijadikan larvasida hayati yaitu dari kelompok bakteri kitinolitik. Bakteri kitinolitik merupakan bakteri yang mampu menghasilkan enzim kitinase untuk mengurai zat kitin (Yuniarti dan Blondine, 2005). Enzim kitinase yang dihasilkan oleh bakteri kitinolitik mempunyai potensi tinggi untuk mendegradasi zat kitin yang terdapat pada eksoskeleton nyamuk dewasa dan larva.

Di Indonesia, Isolat bakteri kitinolitik yang berasal dari air dilaporkan mampu mematikan 86% larva *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae) dalam waktu 7 hari (Pujiyanto *et al.*, 2008). Namun pemanfaatan bakteri kitinolitik isolat air panas belum banyak dilakukan, khususnya sebagai pengendali hayati larva *Aedes aegypti* L. Melihat besarnya potensi sumber air panas yang terdapat di Aceh, maka perlu dilakukan penelitian tentang penggunaan bakteri kitinolitik sebagai pengendali hayati bagi larva *Aedes aegypti* L.

METODE

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dimulai dari bulan November 2011 sampai Agustus 2012. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Syiah Kuala.

Bahan dan Alat

Alat yang digunakan adalah alat pengaduk, autoklaf, botol sampel, bunsen, cawan petri, corong glass, erlenmeyer, gelas ukur, gunting, *hot plate*, inkubator, jarum inokulasi, jarum inokulasi, kaca objek, keranjang alat, mistar, masker, mikroskop, oven, pipet tetes, rak tabung reaksi, kulkas, sarung tangan, *vortex*, *magnetic stirrer*, tabung reaksi, timbangan, termometer, pH meter, sentrifuse, inkubator, alat penciduk, wadah pemeliharaan larva, kandang pemeliharaan imago, mikroskop, kamera digital, alat tulis, air dari sumber air panas Ie Seeum sebagai sumber pengambilan isolat, larva nyamuk *Aedes aegypti* L., air, ragi, aquadest, larutan gula 10%, darah mencit, kulit udang, aluminium foil, kapas, kertas label, kertas pembungkus, kertas saring, plastik wrap, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, K_2HPO_4 , ekstrak yeast, agar, HCl, dan NaOH.

Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimental dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan pola Faktorial. Sebagai perlakuan adalah jenis isolat dan konsentrasi bakteri kitinolitik isolat lokal dari sumber air panas Ie Seuum, Aceh Besar. Waktu pengamatan adalah selama tujuh hari setelah perlakuan.

Prosedur Penelitian

Pemeliharaan Larva *Aedes aegypti* L.

Pengumpulan larva nyamuk dari lapangan dilakukan dengan menggunakan perangkap berupa kaleng kecil yang dicat hitam (ovitrap) yang diberi papan sebagai tempat meletakkan telur. Larva yang didapat dari lapangan dimasukkan ke dalam wadah pemeliharaan yang berisi air sebanyak 10 ml. Larva dipelihara sampai menjadi pupa. Selama dipelihara, larva diberi pakan berupa ragi tape sebanyak 1 gram yang dimasukkan ke dalam wadah pemeliharaan. Setiap dua hari sekali air diganti dengan yang baru. Ketika masa pupa, wadah pemeliharaan larva dimasukkan ke dalam kandang pemeliharaan imago. Setelah menjadi imago, maka imago jantan diberi pakan berupa campuran larutan gula 10% sedangkan imago betina diberi darah mencit. Pemberian darah mencit dilakukan dengan memasukkan mencit yang telah dicukur bulunya dan diletakkan kedalam kandang pemeliharaan nyamuk selama 1 jam (Yasmin dan Fitri, 2010).

Setelah 3 hari, ke dalam kandang pemeliharaan imago dimasukkan kertas saring yang telah dibasahi dan dibentuk seperti kerucut. Kertas saring ini diletakkan pada wadah yang berisi air. Kertas saring ini digunakan sebagai tempat peletakan telur oleh nyamuk betina *Aedes aegypti*. Telur yang telah diletakkan oleh nyamuk betina, dimasukkan kembali ke dalam wadah pemeliharaan larva. Telur dibiarkan hingga menetas. Setelah menetas, larva dipelihara hingga mencapai larva instar II. Sebagian larva instar II diambil untuk perlakuan, dan sebagian lagi digunakan untuk pemeliharaan selanjutnya (Yasmin dan Fitri, 2010).

Isolasi dan Seleksi Bakteri Kitinolitik

Bakteri kitinolitik diisolasi dari sampel air panas Ie Seuum di kawasan Aceh Besar. Sampel diambil di sumber air panas pada tiga titik yang berbeda. Kemudian disimpan dalam botol sampel yang telah disterilkan.

Sampel yang diperoleh sebanyak 1 ml lalu dicawakan pada media agar kitin dan diinkubasi selama 48-72 jam pada suhu 60°C. Koloni yang tumbuh dan membentuk zona

bening disekitar koloni merupakan isolat bakteri kitinolitik. Isolat yang diperoleh kemudian disimpan pada suhu 4°C untuk pemeliharaan (Pujiyanto *et al.*, 2008). Bakteri kitinolitik ditumbuhkan kembali pada media agar kitin untuk diperoleh biakan murni. Isolat murni diinkubasi pada suhu 60°C selama 1-5 hari. Zona bening yang terbentuk kemudian diukur dengan menggunakan jangka sorong (Dewi, 2008).

Pembuatan Media Agar Kitin

Media agar kitin terdiri dari 0,1% MgSO₄.7H₂O, 0,02% K₂HPO₄, 0,1% ekstrak yeast, dan 1,5% agar. Bahan media agar kitin dan 0,5 % koloid kitin di sterilisasi dengan menggunakan *autoclave* selama 15 menit pada suhu 121°C tetapi dalam wadah yang berbeda. Setelah dingin kemudian koloid kitin dicampur dengan bahan media agar kitin dalam keadaan steril. Media agar kitin steril dituang ke dalam cawan petri. Media kemudian disimpan dalam inkubator dengan posisi terbalik sebelum digunakan (Pujiyanto *et al.*, 2008).

Uji Hayati

Larva *Aedes aegypti* L. dimasukkan dalam wadah pemeliharaan sebanyak 20 individu dalam 200 ml air untuk tiap perlakuan. Biakkan bakteri yang sudah didapat dimasukkan kedalam tabung reaksi yang telah berisi aquadest kemudian divortex sampai tingkat kekeruhan 0,5 Mc Farland. Larutan yang telah berisi bakteri tersebut kemudian dimasukkan dengan konsentrasi 1%, 2% dan 3% ke dalam wadah pemeliharaan larva dan diamati selama tujuh hari setelah perlakuan.

Parameter Penelitian

Adapun parameter dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Rata-rata jumlah kematian larva
2. Rata-rata larva yang mampu menjadi pupa
3. Morfologi larva sebelum dan sesudah perlakuan

Analisis Data

Data besarnya kematian (mortalitas) larva *Aedes aegypti* L. diolah dengan Analisis Varian (ANOVA) menggunakan SPSS.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Bakteri Kitinolitik Termofilik

Isolat bakteri yang diperoleh pada penelitian ini berasal dari sampel air panas Ie Seuum, Aceh Besar. Jumlah isolat yang mampu tumbuh pada media agar kitin sebanyak empat

isolat. Dua isolat bakteri dari titik satu (IS 1 dan IS 2), satu isolat bakteri dari titik kedua (IS 3) serta satu isolat bakteri dari titik ketiga (IS 4). Isolat bakteri yang didapat membentuk zona bening dengan luas diameter yang berbeda-beda, IS 1 (4,3 mm), IS 2 (5,0 mm), IS 3 (3,0 mm), dan IS 4 (5,5 mm). Wijaya (2002) menyatakan bahwa besarnya zona bening yang dihasilkan tergantung pada jumlah monomer N-asetilglukosamin yang dihasilkan dari proses hidrolisis kitin dengan memutus ikatan 1, 4 homopolimer N-Asetilglukosamin. Semakin besar jumlah monomer N-asetilglukosamin yang dihasilkan maka akan semakin besar zona bening yang terbentuk di sekitar koloni. Zona bening yang terbentuk dapat dilihat dari perubahan warna medium menjadi bening pada sekeliling bakteri.

Kematian Larva *Aedes aegypti* L.

Hasil analisis varian yang didapat setelah perlakuan selama 7 hari menunjukkan bahwa pemberian jenis isolat dan konsentrasi yang berbeda tidak menunjukkan perbedaan yang nyata dalam menyebabkan kematian larva ($P < 0,05$). Tabel 1 memperlihatkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang nyata terhadap jumlah larva nyamuk yang mengalami kematian, pada perlakuan berbagai jenis isolat bakteri. Hal ini diduga karena masing-masing isolat mempunyai nilai parameter fisik (suhu, pH) yang tidak jauh berbeda. Menurut Lehninger (1997) aktivitas enzim dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu, pH, suhu, konsentrasi substrat dan enzim serta adanya aktivator dan inhibitor.

Tabel 1 Rata-rata jumlah kematian larva *Aedes aegypti* L. dengan berbagai isolat

Isolat	Rata-rata kematian larva <i>Aedes aegypti</i> L. (individu)
IS 1	17,74 ^a
IS 2	18,74 ^a
IS 3	18,65 ^a
IS 4	17,62 ^a

Keterangan: Nilai rata-rata yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata

Berdasarkan hasil pengamatan selama dilakukan penelitian, kematian larva nyamuk *Aedes aegypti* L. pada masing- masing perlakuan isolat sudah mulai terjadi pada hari pertama. Larva yang diberi perlakuan dengan isolat IS 2 menunjukkan rata-rata kematian yang lebih tinggi yaitu 18,74 individu (93,7%). Pada hari kelima, isolat ini telah dapat menyebabkan mortalitas larva sebesar 16,4 individu (82,1%), lebih banyak dibandingkan isolat lainnya.

Kematian larva seterusnya meningkat mencapai 18,77 individu (93,7%) pada hari ketujuh. Berdasarkan hal tersebut, terlihat bahwa isolat IS 2 berpotensi digunakan sebagai bioinsektisida. Hasil penelitian didapatkan jumlah rata-rata kematian larva pada penelitian ini lebih tinggi dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan Pujiyanto *et al.*, (2008) dari sepuluh isolat yang diuji cobakan pada larva nyamuk *Aedes aegypti* L., terdapat satu isolat bakteri kitinolitik berpotensi menyebabkan kematian larva nyamuk yaitu 86,7% selama tujuh hari pengamatan.

Tabel 2 Hubungan isolat (I) dan konsentrasi (K) terhadap rata-rata jumlah kematian larva *Aedes aegypti* L. dengan berbagai isolat.

I/K	Rata-rata kematian larva <i>Aedes aegypti</i> L. (individu)
I ₁ K ₁	17,66 ^a
I ₁ K ₂	17,33 ^a
I ₁ K ₃	18,00 ^a
I ₂ K ₁	19,66 ^a
I ₂ K ₂	17,33 ^a
I ₂ K ₃	19,33 ^a
I ₃ K ₁	19,66 ^a
I ₃ K ₂	18,66 ^a
I ₃ K ₃	17,66 ^a
I ₄ K ₁	16,66 ^a
I ₄ K ₂	18,00 ^a
I ₄ K ₃	18,33 ^a

Keterangan: Nilai rata-rata yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata; I₁ = Isolat IS1, I₂ = Isolat IS2, I₃ = Isolat IS3, I₄ = Isolat IS 4, K₁ = Konsentrasi 1, K₂ = Konsentrasi 2, K₃ = Konsentrasi 3

Hubungan antara jenis isolat dan konsentrasi terhadap jumlah rata-rata kematian larva nyamuk *Aedes aegypti* L. juga tidak berbeda nyata. Interaksi yang paling baik yaitu pada isolat IS 2 dan IS 3 dengan konsentrasi 1% (19,66 individu) (Tabel 2). IS 4 memiliki zona bening yang lebih besar dibandingkan dengan isolat IS 2 dan IS 3, tetapi aktivitas enzim kitinase IS 2 dan IS 3 lebih besar dibandingkan dengan IS 4 terlihat dari besarnya rata-rata kematian larva *Aedes aegypti* L. (Tabel 2). Diduga zona bening yang terbentuk saat itu kecil disebabkan karena kondisi suhu yang diinginkan isolat IS 2 dan IS 3 tidak optimum. Hal ini sama dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Dewi (2008) bahwa isolat TR3 yang memiliki zona bening besar ternyata memiliki kemampuan menghasilkan enzim kasar yang rendah,

sebaliknya isolat TR1 memiliki zona bening yang relatif kecil jika dibandingkan TR3, tetapi memiliki enzim yang tinggi pada suhu diatas 70°C.

Morfologi Larva *Aedes aegypti* L.

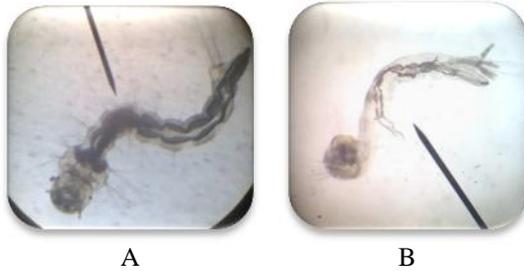
Gejala keracunan oleh bakteri kitinolitik yang terjadi pada larva *Aedes aegypti* L. dapat dilihat melalui pengamatan morfologi pada tubuh larva sebelum dan sesudah perlakuan. Sebelum diberikan perlakuan, larva bergerak aktif, pengamatan dengan menggunakan mikroskop tubuh larva terlihat segar dan berwarna hitam, siphon (alat pernapasan), caput dan saluran pencernaan terlihat normal. Setelah pemberian isolat bakteri pergerakan larva mulai lambat. Pengamatan dengan mikroskop, bagian tubuh dan siphon memucat, dan saluran pencernaan menghitam. Hari pertama setelah diberikan perlakuan sudah mulai terdapat larva yang mati walaupun dalam jumlah yang sedikit.

Pemberian isolat bakteri kitinolitik menyebabkan kematian pada larva nyamuk yang dimulai dengan menghitamnya saluran pencernaan dan akhirnya alat pencernaan larva lepas (Gambar 1). Diduga isolat bakteri bersifat sebagai racun perut. Menurut Puri (2006) makanan larva di alam adalah mikroorganisme yang terdapat pada habitatnya seperti alga, protozoa, bakteri, atau spora jamur. Widarto (2009) menyatakan bahwa racun lambung atau racun perut adalah insektisida yang membunuh serangga sasaran dengan cara masuk ke pencernaan melalui makanan yang dimakan. Insektisida masuk ke organ pencernaan serangga dan diserap oleh dinding usus kemudian ditranslokasikan ke tempat sasaran yang mematikan sesuai dengan jenis bahan aktif insektisida.

Melalui pengamatan dengan mikroskop setelah mengalami kerusakan pada saluran pencernaan, bakteri mulai menyerang struktur eksoskeleton larva yang tersusun dari kitin. Menurut Pujiyanto *et al.* (2008) kerusakan eksoskeleton pada larva diakibatkan oleh terdegradasinya kitin yang merupakan polimer utama eksoskeleton oleh aktivitas kitinase yang dihasilkan bakteri kitinolitik. Hal ini diperkuat dengan pernyataan Gooday (1990), bahwa degradasi kitin terutama dilakukan oleh mikroorganisme, dimana kitin dapat merupakan sumber karbon dan nitrogen untuk pertumbuhannya.

Hasil pengamatan yang dilakukan menunjukkan tidak terdapatnya larva yang mampu menjadi pupa meskipun sudah melewati tujuh hari pengamatan. Pemberian bakteri kitinolitik terhadap larva diketahui berpengaruh

pada proses pergantian dari stadium larva menjadi pupa. Bakteri kitinolitik diduga mempengaruhi proses pembentukan pupa, hal ini terlihat dari tidak terbentuknya pupa dari masing-masing konsentrasi maupun isolat. Hal ini sesuai dengan yang dilaporkan oleh Pujiyanto *et al.* (2008) bahwa bakteri kitinolitik selain berpengaruh terhadap kematian larva juga mempengaruhi proses perubahan morfologi larva, yaitu pada saat terbentuknya pupa.



Gambar 1. Larva *Aedes aegypti* L. instar II; (A) Larva sebelum diberikan perlakuan bakteri kitinolitik, (B) Larva setelah diberikan perlakuan bakteri kitinolitik

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, maka didapat pemberian isolat bakteri dan konsentrasi yang berbeda menunjukkan tidak adanya perbedaan yang nyata dalam menyebabkan kematian larva ($P > 0,05$). Rata-rata kematian larva tertinggi terjadi pada perlakuan isolat bakteri IS 2 dan IS 3 dengan konsentrasi 1%. Pemberian isolat bakteri kitinolitik mempengaruhi proses pembentukan pupa.

DAFTAR PUSTAKA

Dewi, I. M. 2008. Isolasi Bakteri dan Uji Aktivitas Kitinase Termofilik Kasar dari Sumber Air Panas Tinggi Raja, Simalungun Sumatra Utara. *Tesis*. Universitas Sumatra Utara, Medan.

- Gooday, G.W. 1990. Physiology of Microbial Degradation of Chitin and Chitosan. *Biodegradation* 1 (2-3): 177-190.
- Lehninger, A. L. 1997. *Dasar-dasar Biokimia*, Jilid 1. Terjemahan dari Principles of Biochemistry oleh Maggy Thenawijaya. Erlangga, Jakarta.
- Ndione, R. D., O. Faye, M. Ndiaye, A. Dieye, and J.M. Afoutou. 2007. Toxic Effects of Neem Products (*Azadirachta indica* A. Juss) on *Aedes aegypti* Linnaeus 1762 Larvae. *Biotechnology* 6 (24): 2846-2854.
- Okumu, F. O., B. G. J. Knols and U. Fillinger. 2007. Larvicidal Effect of a Neem (*Azadirachta indica*) Oil Formulation on the Malaria Vector *Anopheles gambiae*. *Malaria* 6 : 63.
- Pujiyanto, S., E. Kusdiyantini, dan M. Hadi. 2008. Isolasi dan Seleksi Bakteri Kitinolitik Isolat Lokal yang Berpotensi untuk Mengendalikan Larva Nyamuk *Aedes aegypti* L. *Biodiversitas* 9(1):5-8.
- Puri, E. R. 2006. Isolasi , Karakterisasi, dan Penapisan sianobakteria sebagai Pakan Larva *Aedes aegypti*. *Skripsi*. Bogor: Institut pertanian Bogor.
- Widarto, H. 2009. Uji aktivitas Minyak Atsiri Kulit Durian (*Durio zibethinus* Murr) sebagai Obat Nyamuk Elektrik Terhadap Nyamuk *Aedes aegypti*. *Skripsi*. Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.
- Wijaya, S. 2002. Isolasi Kitinase dari *Scleroderma columnare* dan *Trichoderma harzarium*. *Ilmu Dasar* 3(1): 30-35.
- Yasmin, Y. dan L. Fitri. 2010. The Effect of *Metharrizium anisopliae* Fungi on Mortality of *Aedes aegypti* L. Larvae. *Natural* 10(1): 32-35.
- Yuniarti, R. A. dan Ch. P. Blondine. 2005. Efektivitas Vectobac dan Predator *Mesocyclops aspericornis* sebagai Jasad Penedali Hayati Jentik *Aedes aegypti* dalam Gentong Air. *Kedokteran Yarsi* 13(1): 102-110.