

## ISOLASI DAN UJI BIOASSAY BAKTERI KOTORAN CICAK YANG BERPOTENSI SEBAGAI PENGENDALI LARVA *Aedes sp.*

Tulus Ariyadi, SKM, M.Si

Dosen Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Unimus

e-mail. [mustoels@gmail.com](mailto:mustoels@gmail.com)

### Abstrak

Demam Berdarah Dengue (DBD) merupakan penyakit endemik yang sampai saat ini belum ditemukan obat maupun vaksinya, sehingga salah satu cara pencegahannya adalah pengendalian vektor. Pengendalian secara biologi biasanya bersifat predator, parasitik atau patogenik misalnya menggunakan *Bacillus thuringiensis H-14*, jamur *Lagenidium giganteum* dan beberapa bakteri tanah. Pengembangan potensi hayati dilakukan untuk memperoleh suatu formulasi dalam rangka penanggulangan penyakit DBD. Kotoran cicak banyak mengandung mikroorganisme. Salah satu usaha yang belum pernah dilakukan adalah pengembangan potensi hayati dari kotoran cicak karena kedekatannya dengan nyamuk. Tujuan penelitian adalah untuk mendapatkan isolat bakteri dari kotoran cicak yang kemungkinan memiliki kemampuan untuk mengendalikan populasi larva *Aedes sp.*. Obyek penelitian adalah kotoran cicak yang diambil dari hasil pemeliharaan pada suatu kandang yang telah diberi umpan nyamuk *Aedes sp* yang berasal dari daerah endemis. Hasil Penelitian didapatkan 3 buah koloni bakteri yaitu bakteri *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli* dan *Salmonella paratyphi B*, hasil uji Bioassay bakteri *Proteus mirabilis* paling berpotensi dalam menyebabkan kematian Larva. Berdasarkan uji statistik Chi square, bahwa bakteri *Proteus mirabilis* menunjukkan hasil berbeda nyata antara volume inokulum 0.1, 0.5 dan 1 ml terhadap kematian larva *Aedes sp.* Sedangkan pada bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella paratyphi B* tidak ada perbedaan nyata antara volume 0.1, 0.5 dan 1 ml inokulum terhadap kematian larva.

**Kata Kunci:** Kotoran Cicak, Uji *Bioassay*, *Aedes sp*

## PENDAHULUAN

Demam Berdarah Dengue (DBD) merupakan penyakit endemik yang disebabkan oleh virus *dengue* melalui gigitan nyamuk *Aedes aegypti*. Sampai saat ini belum ditemukan obat maupun vaksin, sehingga salah satu cara pencegahan adalah dengan pengendalian vektor. Pengendalian ini memerlukan pengetahuan tentang kebiasaan spesies, topografi dan iklim, keadaan dan sosial ekonomi penduduk. Secara umum dapat dibedakan menjadi pengendalian secara fisik - mekanik, biologi dan kimia (Damar, 2008)

Pengendalian biologi yang sudah dikembangkan adalah melakukan pemberantasan dengan *Bacillus thuringiensis H- 14* karena bersifat spesifik target, tidak toksik terhadap lingkungan dan organisme bukan sasaran serta aman bagi manusia. Sifat yang ditunjukkan oleh bakteri *Bacillus thuringiensis H- 14* adalah dengan adanya kristal pada spora yang terbentuk selama pertumbuhan spora di luar eksosporium ( Mulla. et.al. 1986 ). Pengendalian hayati yang telah dilaporkan pada larva nyamuk ini antara lain menggunakan jamur air *Lagenidium giganteum* (Banani et. al.,2002; Axtell dan Guzman, 1987 ; May dan Geynst, 2002 ). Beberapa bakteri tanah seperti : *Streptomyces* ( Okazaki et.al.1995 ), *Bacillus* (Mitsutomi. et.al.,1995), *Aeromonas* ( Ueda et.al., 1996 ), *Serratia* ( Krishnan. et.al. 1999 ), *Enterobacter* ( Cherniri et.al., 1995 ), *Pseudomonas* ( Wang. et.al., 1997 ), *Arthrobacter* ( Okazaki et.al.,1999 ) dan *vibrio* (Svitil et.al., 1997), (Pujiyanto et.al. 2004).

Cicak (*Cosymbotus pialyurus* ) tergolong ke dalam suku *Gekkonidae* dan terdiri atas puluhan jenis. Merupakan hewan reptile yang biasa memakan serangga terutama nyamuk, berukuran sekitar 10 cm, berwarna abu - abu atau coklat kehitaman. Kotoran cicak banyak mengandung mikroorganisme yang dikeluarkan dan proses pencernaannya. Beberapa jenis cicak yang umumnya bisa dijumpai di Indonesia adalah : Cicak tembok (*Cosymbotus platyurus*) atau dalam bahasa inggris disebut *flat-tailed house-gecko*, Cicak kayu (*Hemidaclylus frenatus*) atau dalam bahasa inggris disebut *common house-gecko* atau ada pula yang menyebut *Darwin house-gecko*. Cicak mi berukuran sekitar 120 mm dan Cicak gula (*Gehyra mutilata*) atau dalam bahasa Inggris disebut dengan berbagai nama seperti *Pacific gecko*, *sugar lizard*, *tender-skinned house-gecko*, *four-clawed gecko*, atau *stump-toed gecko*. (Hidayat. 2005).

Uji bioassay adalah suatu uji daya kemampuan dari masing - masing isolat untuk membunuh larva *Aedes sp*. Sebagai perlakuan adalah jenis isolat bakteri dan konsentrasi inokulum mikroba, pada perlakuan diulang sebanyak 3 kali. Sepuluh ekor larva nyamuk *Aedes sp* dalam 100 ml aquades diinokulasi dengan biakan bakteri dengan konsentrasi 0,1 , 0,5, dan 1 ml, parameter yang diamati adalah mortalitas larva selama 3 - 5 hari. (May dan Gheynst, 2002 ).

Menurut Amir (2008), yang melakukan identifikasi pada kotoran cicak menemukan beberapa bakteri diantaranya yaitu, *Bacillus sp*, *Enterobacter aerogenes*, *Citrobacter diversus* dan *shigella sonnei*. Dengan adanya penelitian ini maka ada suatu potensi hayati dari kotoran cicak yang mungkin

bisa dikembangkan untuk pengendali hayati nyamuk *Aedes sp.* Sampai saat ini penelitian tentang potensi bakteri dan kotoran cicak belum pernah dilakukan, maka perlu dilakukannya penelitian tentang isolasi dan uji bioassay kotoran cicak yang berpotensi sebagai pengendali larva nyamuk *Aedes sp.*

## **METODE PENELITIAN**

Jenis penelitian yang dilakukan adalah eksperimen yaitu dengan mengisolasi bakteri yang terdapat pada kotoran cicak pemangsa nyamuk dengan pendekatan belah lintang ( *cross sectional*), karena data diambil pada saat penelitian berlangsung tanpa melakukan penelusuran ke masa lain maupun masa mendatang. Obyek penelitian ini adalah kotoran cicak yang diambil dari hasil pemeliharaan pada suatu kandang yang telah diberi umpan nyamuk *Aedes sp* yang berasal dari daerah endemis.

Alat dan bahan pada penelitian ini adalah Cawan petri, Erlenmeyer, Autoklave, obyek glass, Ose, Lampu spirtus, nampan, blue tip, yellow tip, pipet automatic, Aspirator larva, lampu senter, kandang nyamuk , kandang cicak,nampan plastic, dan saringan halus. Media BAP, MC, BHI, Cat Gram, Media Uji Biokimia, Aquades, NaCl fisiologis, Alkohol 70 %, Spirtus, dan Kotoran Cicak.

### **Pengambilan Sampel Kotoran Cicak**

Sample di ambil dari kotoran cicak yang dengan sengaja ditangkap dan dimasukkan dalam kandang dan diberi umpan nyamuk. Setiap ada kotoran cicak segera diambil untuk dilakukan identifikasi bakterinya.

### **Isolasi dan Seleksi bakteri**

Sample kotoran cicak dimasukkan dalam media BHI dan inkubasi selama 48 - 72 jam pada suhu 37 °C. koloni - koloni yang tumbuh kemudian dilakukan pengecatan Gram ,dilakukan identifikasi dan masing - masing koloni dan uji biokimia sehingga bisa mengidentifikasi jenis bakterinya. Isolat terpilih dilakukan uji kemampuan ( *Bioassay* ) dalam mengendalikan larva nyamuk *Aedes sp.*

### **Uji Bioassay**

Sebagai perlakuan adalah jenis isolat bakteri dan konsentrasi inokulum, setiap perlakuan diulang sebanyak 3 kali. Sepuluh ekor larva *Aedes sp* instar III dalam 100 ml aquades di dalam wadah diinokulasi biakan mikroba dengan volume masing - masing 0,1 , 0,5 , dan 1 ml ( May dan Gheynst, 2002 ). Parameter yang diamati adalah mortalitas larva selama 1 – 5 hari.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Isolasi bakteri pada pewarnaan Gram didapatkan bentuk batang, gram negatip, sedangkan hasil isolasi bakteri pada media BAP didapatkan 2 bentuk koloni swarming, warna kelabu, bau khas

busuk ( telur busuk ) dan non hemolisa. Koloni yang lain berukuran besar, warna kelabu, konsistensi smooth, elevasi cembung dan berifat beta hemolisa.

Pada media uji biokimia setelah di inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam didapatkan spesies bakteri berupa *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli* dan *Salmonella paratyphi B*. Hasil ini berbeda dengan yang dilakukan oleh Amir (2008) setelah melakukan penelitian dari kotoran cicak yang diambil dari rumah tanpa di pelihara dahulu ( liar ) di dapatkan spesies bakteri *Bacillus sp*, *Enterobacter aerogenes*, *Citrobacter diversus* dan *shigeila sonnnei*. Hal ini mungkin pengaruh dari lingkungan tempat habitat serangga mencari makan ataupun jenis makanan yang di mangsa cicak tersebut. Ada perbedaan karakter kotoran antara cicak peliharaan dan cicak liar, dimana kotoran cicak liar agak berair, lembek dan ada sedikit titik putih, sehingga hal ini mungkin yang menyebabkan perbedaan kandungan bakteri dari kedua kotoran cicak tersebut.

Hasil Uji bioassay dengan 10 ekor larva *Aedes sp* pada masing - masing spesies bakteri didapatkan hasil :

Tabel 1. Kematian larva Nyamuk *Aedes sp* pada perlakuan dengan bakteri *Proteus mirabilis*

Hari ke	Vol. 0,1 ml	Vol. 0,5 ml	Vol. 1,0 ml
1	4	2	9
2	6	4	10
3	8	6	10
4	9	9	10
5	10	10	10

Tabel 2. Kematian larva Nyamuk *Aedes sp* pada perlakuan dengan bakteri *Escherichia coli*

Hari ke	Vol. 0,1 ml	Vol. 0,5 ml	Vol. 1,0 ml
1	0	0	1
2	1	1	1
3	2	2	2
4	3	2	2
5	3	3	4

Tabel 3. Kematian larva *Aedes sp* pada perlakuan dengan bakteri *Salmonella paratyphi B*

Hari ke	Vol. 0,1 ml	Vol. 0,5 ml	Vol. 1,0 ml
1	0	0	1
2	1	1	1
3	3	2	2
4	3	3	2
5	3	3	3

Dari hasil pengujian menunjukkan isolat kuman *Proteus mirabilis* paling berpotensi dalam menyebabkan kematian Larva *Aedes sp.* Pada perlakuan dengan 0,1 ml inokulum, setelah 1 hari mampu mengendalikan pertumbuhan larva sebesar 2 % dan terus meningkat sampai 90 % dalam waktu 5 hari pengamatan. Kecenderungan meningkat ini juga ditunjukkan dalam perlakuan yaitu semakin pekat inokulum yang ditambahkan, semakin meningkat pula mortalitas larva. Kemampuan mengendalikan kematian larva juga ditunjukkan oleh isolat kuman *Escherichia coli* dan *Salmonella paratyphi B*. Pada perlakuan dengan aquades sebagai kontrol tidak ditemukan kematian larva.

Berdasarkan uji statistik Chi —square, bahwa bakteri *Proteus mirabilis* menunjukkan hasil berbeda nyata antara volume inokulum 0.1, 0.5 dan 1 ml terhadap kematian larva nyamuk *Aedes aegypti*. Sedangkan pada bakteri *Eseherichia coli* dan *Salmonella paratyphi B* tidak ada perbedaan nyata antara volume 0.1, 0.5 dan 1 ml inokulum terhadap kematian larva *Aedes sp.*

#### **SIMPULAN**

Berdasarkan hasil penelitian didapatkan 3 buah koloni bakteri dari spesies *Proteus mirabilis*, *Escherichia coil* dan *Salmonella paratyphi B*. Uji Bioassay terhadap larva *Aedes sp.* isolat kuman *Proteus mirabilis* paling berpotensi dalam menyebabkan kematian Larva *Aedes sp.* Berdasarkan uji statistik Chi square, bahwa bakteri *Proteus mirabilis* menunjukkan hasil berbeda nyata antara volume inokulum 0.1, 0.5 dan 1 ml terhadap kematian larva *Aedes sp.* Sedangkan pada bakteri *Escherichia coil* dan *Salmonella paratyphi B* tidak ada perbedaan nyata antara volume 0.1, 0.5 dan 1 ml inokulum terhadap kematian larva.

#### **SARAN**

Mengingat kemungkinan potensi dari bakteri kotoran cicak terutama *Proteus mirabilis*, diharapkan ada penelitian lebih lanjut tentang potensi bakteri ini dalam mengendalikan larva *Aedes sp.* Diharapkan ada penelitian lebih lanjut tentang potensi hayati dan kotoran cicak dengan volume perlakuan yang diperbanyak. Perlu dikaji dan dikembangkan keamanan penggunaan isolat *Proteus mirabilis* dan kotoran cicak untuk di aplikasikan di lapangan sehingga dapat digunakan sebagai alternative pecegahan wabah demam berdarah.

#### **UCAPAN TERIMA KASIH**

Kami ucapkan terima kasih kepada Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi, Kementerian Pendidikan Nasional Republik Indonesia ( Dirjen DIKTI ) atas dana penelitian Dosen Muda tahun 2010

Axtell,R.C. and D.R. Guzman, 1987. *Encapsulation of the mosquito fungal pathogen Lagenidium giganteum (Oomycetes; Lagenidiales) in calcium alginate*. Journal of the American Mosquito Control Association.

Amir C.2008. *Identifikasi Bakteri Pada Kotoran Cicak di Berbagai Perumahan di Semarang*. Karya Tulis Ilmiah Belum Terpublikasi.

Banani S.,V. Bthari, A. Shanna and AK Joshi.2002. *Studies on Physiology, Zoospore Morfology and Entomopathogenic Potential of The Aquatic Oomycete. Lagenidium giganteum Mycophthologia*.

Damar Tri Boewono, 2008. *Diktat Kuliah Entomologi Kesehatan Aplikasi Fendendalian Vektor*. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Vektor dan Reservoir Penyakit, Salatiga.

Hidayat. 2005. *Pengenalan Ordo Beberapa Famili Serta Anggota Spesies*. Bogor Isroi. 2009. *Cara Lebih Arif Menangani Demam Berdarah Dengue (DBD)*. <http://isroi.wordpress.com>J2009.

May, B A.,and J S Vander Gheynst.2002. *A Predictor Variable for Efficacy of Lagenidium giganteum Produced in Solid — state Cultivacion*. Journa of Industrial Microbiology and Biotechnology

Mulla M.S., Darwazeh A.M. dan My C. *Laboratory and Field Studies on new Formulation of Iwo microbial control agent mosquito*. Bull.soc. Vector Ecol. 1986

Oka, I.N. 1995. *Pengendalian Hama Terpadu, dan Implementasznya di Indonesia*. Gadjah Mada University Press.

Pujiyanto,S.,D.A Suprihadi.,Wijanarko dan S Purwantisari. 2004. *Potensi Bakteri Kitinolitik Isolat Lokal Untuk Memproduksi Enzim Kitinase dan Mengendalikan Kapang Pathogen*. [Laporan Penelitian]. Semarang.FMIPA Undip.

WHO. 1980. *Everinmental control for vector control. Fourth Repport of the WHO Expert Commette on Vector Biology and Control*. Geneva. WHO Technical Repport Series, No. 649.