

UJI EFEKTIVITAS BAKTERI KITINOLITIK SEBAGAI LARVASIDA NYAMUK *Aedes aegypti*

Kamal Musthofa, Wahyuriza Oktavia

Akademi Analis Kesehatan Delima Husada Gresik

Abstract

Dengue fever is a disease caused by *Aedes aegypti* mosquito. The use of chemical larvicides has often been carried out and has caused insecticide resistance, therefore it is necessary to control the vector that causes dengue naturally. Chitinolytic bacteria are bacteria that can produce chitinase enzymes that play a role in degrading chitin and have the potential to kill *Aedes aegypti* larvae. Alternative media that can be used for breeding is chitin agar media. This research is experimental type of research using bacterial sources from shrimp shell immersion water and river water, with different concentrations (1%, 2%, and 3%) based on the results of statistical tests obtained a significance value <0.05 with total mortality *Aedes aegypti* larvae in water immersion shrimp shells as many 50 and in river water as many 58 larvae from 80 larvae tested with the highest mortality at a concentration of 3%. This shows that there is a difference between isolates of chitinolytic bacteria, and a difference between in the variations concentration of chitinolytic bacteria in causing the death of *Aedes aegypti* larvae. Based on this, chitinolytic bacteria can degrade the exoskeleton of *Aedes aegypti* larvae and cause death in *Aedes aegypti* larvae.

Key words: *Aedes aegypti*, chitinolytic bacteria, shrimp waste

Pendahuluan

Penyakit yang ditularkan oleh nyamuk hingga saat ini masih mejadi masalah kesehatan di Indonesia. Demam Berdarah Dengue banyak ditemukan di daerah tropis dan sub-tropis. Nyamuk *Aedes aegypti* adalah vektor yang membawa virus dangue. Berdasarkan data kementerian kesehatan tahun 2020 tampak bahwa Kasus DBD tersebar di 472 kabupaten/kota di 34 Provinsi. Kematian Akibat DBD terjadi di 219 kabupaten/kota. Kasus DBD sampai dengan Minggu Ke-49 sebanyak 95.893, sementara jumlah kematian akibat DBD sampai dengan minggu ke 49 sebanyak 661 (Kemenkes, 2021).

Pengendalian vektor penyakit dengan mencegah pertumbuhan nyamuk *Aedes aegypti* dengan cara menekan populasi nyamuk perlu dilakukan. Pencegahan pertumbuhan larva nyamuk *Aedes aegypti* dapat dilakukan dengan menggunakan larvasida. Penggunaan larvasida berbahan kimia membutuhkan biaya yang tinggi,

selain itu penggunaan pestisida ini mengakibatkan munculnya resistensi dari berbagai macam spesies nyamuk yang menjadi vektor penyakit (F. Ardani *et al.*, 2012). Oleh karena itu perlu dilakukan upaya alternatif penggunaan pestisida alami atau disebut dengan biolarvasida.

Penggunaan larvasida alami cukup efektif untuk menekan pertumbuhan larva nyamuk *Aedes aegypti* (Cahyaningrum *et al.*, dan Yekki Y *et al.*). Salah satu makhluk hidup yang potensial sebagai larvasida adalah dari kelompok bakteri kitinolitik. Bakteri kitinolitik merupakan bakteri penghasil enzim kitinase yang berperan dalam proses degradasi kitin. Kitin merupakan komponen utama dari eksoskeleton dimana komponen ini berfungsi sebagai komponen penyokong dan pelindung pada larva nyamuk (Rianta Pratiwi, 2014) sehingga Kerusakan eksoskeleton pada larva nyamuk

diakibatkan oleh terdegradasinya kitin akibat aktifitas enzim kitinase yang dihasilkan bakteri kitinolitik (Dyah,Dewi,2016).

Wilayah di Indonesia sebagian besar terdiri dari kawasan perairan yang sangat luas, dengan besarnya perairan yang ada memungkinkan untuk melakukan isolasi bakteri kitinolitik dari air. Pujianto et al. (2008) mengatakan sel bakteri kitinolitik yang berasal dari sumber air dalam mengendalikan larva nyamuk *Aedes aegypti* (Nur K,et al..2015). Aktivitas kitinolitik juga terjadi pada air dan tanah yang tercemar limbah cangkang hewan *crustaseae*, dimana sebagian besar mikroorganisme pada air tersebut adalah pendegradasi kitin yang baik. Sebagian mikroorganisme tersebut memanfaatkan kitin sebagai sumber nitrogen dan karbon (Muh.Natsir,et al..2012).

Isolasi bakteri kitinolitik dari air rendaman udang dan air sungai dapat dilakukan karena air rendaman kulit udang merupakan sumber penghasil kitin, sedangkan air sungai merupakan tempat pembuangan limbah domestik dan tempat hidup mikroorganisme yang dapat mendegradasi kitin. Kepala dan kulit udang yang cenderung di buang begitu saja tanpa di olah lebih lanjut juga dapat menyebabkan masalah seperti pencemaran lingkungan. Melalui pemanfaatan isolasi bakteri kitinolitik ini ternyata itu bisa dimanfaatkan menjadi sesuatu yang memiliki nilai guna yang tinggi. Media untuk pertumbuhan bakteri kitinolitik sulit untuk dilakukan karena harganya yang cukup mahal. dengan adanya udang sebagai penghasil kitin maka kulit udang dapat diguakan sebagai alternatif media pertumbuhan bakteri kitinolitik. Selain sumber dari bakteri kitinolitik yang perlu diperhatikan lagi adalah penggunaan konsentrasi dalam pemberian bakteri

kitinolitik, karena kita perlu mengetahui dosis yang tepat sebagai larvasida nyamuk *Aedes aegypti*.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui Isolat bakteri kitinolitik dan konsentasi bakteri kitinolitik mana yang lebih efektif membunuh larva *Aedes aegypti*.

Bahan dan Metode

Penelitian ini dilakukan di laboratorium Mikrobiologi Akademi Analis Kesehatan Delima husada Gresik. Menggunakan metode penelitian eksperimental dengan teknik sampling yang dilakukan secara acak atau random. Populasi penelitian ini adalah larva *Aedes aegypti* yang diambil di bak kamar mandi rumah kos pangsud gang 10 dalam Gresik, Jawa Timur, isolate bakteri kitinolitik air rendaman kulit udang yang direndamn selama satu minggu dan isolate bakteri kitinolitik air sungai yang di ambil di dekat daerah pesawahan desa dekat kulon, Lamongan.

Isolate bakteri kitinolitik dari air rendaman kulit udang dan isolate bakteri kitinolitik dari air sungai di isolasikan kedalam media kusus yaitu media agar kitin untuk memperbanyak biakan bakteri dan mengetahui bakteri tersangka yang kemudian akan digunakan sebagai larvasida alami nyamuk *Aedes aegypti*.

Pembuatan kitin

Sampel yang digunakan dalam pembuatan kitin adalah kulit udang yang telah di cuci bersih dan di keringkan di bawah sinar matahari selama kurang lebih 2-3 hari. Kulit udang kering kemudian di blender dan di saring sampai menjadi serbuk halus. Serbuk kulit udang selanjutnya di proses kembali melalui tahap deproteinasi untuk menghilangkan protein dan tahap demineralisasi untuk menghilangkan sisa mineral (Yekki Y. Leni F.2013).

Tahap deproteinasi

Ditimbang 50 gram serbuk kulit udang lalu dimasukkan ke dalam erlenmeyer, kemudian larutkan dengan NaOH 3,5% sebanyak 250 ml. Diaduk dengan suhu 60°C selama 2 jam kemudian di saring. Residu yang didapatkan di cuci dengan aquades sampai pH netral. selanjutnya di residu di keringkan dalam oven selama 4 jam dengan suhu 60°C.

Tahap demineralisasi

Kulit udang kering hasil deproteinasi sebanyak 20 gram di rendam dalam HCl 2 N sebanyak 200 ml. Campuran kemudian di diamkan selama 2 hari dalam suhu kamar. Residu yang diperoleh di cuci dengan aquades sampai pH netral kemudian keringkan dalam oven selama 4 jam dengan suhu 60°C hingga di peroleh kitin.

Kitin sebanyak 7,5 gram di rendam dalam 150 ml HCl pekat kemudian simpan dalam lemari pendingin semalaman kemudian disaring lalu di tambahkan 75 ml aquades dingin. Pindahkan ke dalam tabung reaksi kemudian centrifus selama 15 menit dengan kecepatan 4000 rpm. Diambil residunya ditambahkan aquades dingin lalu netralkan pH dengan NaOH 12 N. centrifus kembali selama 15 menit dengan kecepatan 4000 rpm, supernatant di buang dan endapan di tambah 75 ml aquades dingin homogenkan kemudian centrifus kembali. Koloidal kitin yang di dapatkan di simpan dalam lemari pendingin.

Pembuatan media agar kitin

Ditimbang bahan media yang akan di gunakan yaitu, 2,5 gram koloidal kitin yang di larutkan dengan 5 ml aquadest. masukan 0,5 gram $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,1 gram KH_2PO_4 , 0,5 gram yeast ekstrak, dan 7,5 gram bacto agar ke dalam Erlenmeyer, tambahkan 495 ml aquades lalu aduk sampai homogen. Kemudian panaskan di atas kompor menggunakan api kecil jangan sampai mendidih. Setelah itu steril bahan media dalam autoclave selama 15 menit dengan suhu 121°C. Kemudian campur bahan media dengan koloidal kitin

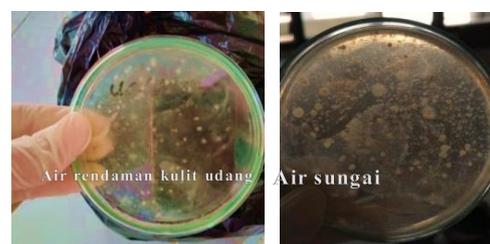
dan aduk sampai homogen. Setelah itu tuang kedalam petri disk kemudian masukan ke dalam lemari pendingin sebelum digunakan.

Isoasi Bakteri kitinolitik

Dimasukan media kitin agar ke dalam oven terlebih dahulu sebelum digunakan untuk mengkondens air embun pada media. Setelah itu beri label pada media agar tidak tertukar. Kemudian pipet 1ml air sungai dengan pipet steril lalu masukan ke dalam petri disk, putar petri disk membentuk angka 8 agar pertumbuhan bakteri merata. Setelah itu pipet air rendaman kulit udang menggunakan pipet steril sebanyak 1ml, putar petri disk membentuk angka 8 agar pertumbuhan bakteri merata. Kemudian masukan petri disk ke dalam incubator selama 24 jam dengan suhu 37°C.

Karakteristik bakteri dan pewarnaan gram

Setelah di inkubasi selama 24 jam dalam suhu 37°C terlihat koloni bakteri kitinolitik memiliki gambaran makroskopis pada isolate air rendaman kulit udang berbentuk bulat kecil, tepian rata, berwarna putih susu, bentuk sel coccus gram negative sedangkan pada isolate air sungai berbentuk bulat tepian rata, berwarna putih kekuningan, bentuk sel coccus gram negative. (Gambar 1).



Gambar 1. gambar makroskopis bakteri kitinolitik isolatr air rendaman kulit udang dan air sungai.

Kemudian ambil satu mata ose koloni bakteri lalu buat sediaan tunggu sampai kering dan lakukan pewarnaan gram. Letakkan sediaan dalam jembatan pewarnaan, kemudian genangi sediaan dengan gentian violet selama 1 menit, bilas dengan air mengalir kemudian genangi

dengan lugol selama 1 menit, bilas dengan air mengalir, kemudian genangi dengan alkohol 76% selama 30 detik, bilas dengan air mengalir kemudian genangi dengan safranin selama 1 menit, bilas dengan air mengalir dan tunggu hingga kering. Kemudian beri 1 tetes oil imersi lalu amati

Uji Perlakuan

Larva nyamuk *Aedes aegypti* dimasukkan ke dalam wadah sebanyak 10 ekor dalam 100 ml air. Dibuat suspensi bakteri dengan standrat kekeruhan Mc Farland. Dimasukan suspensi bakteri sebanyak 1%, 2% dan 3% kedalam wadah uji, diamati jumlah larva yang mati dan perubahan morfologi pada larva *Aedes aegypti* selama 7 hari.

Hasil

hasil pengamatan pada tingkat kematian larva *Aedes aegypti* yang diberi perlakuan isolat bakteri kitinolitik air rendaman kulit udang dan isolate bakteri kitinolitik air sungai dengan konsentrasi 1%, 2%, dan 3%. Kematian larva *Aedes aegypti* terjadi pada konsentrasi 1% tetapi tidak sebanyak kematian larva *Aedes aegypti* pada konsentrasi 2% dan 3%. Larva *Aedes aegypti* mengalami kerusakan eksoskeleton.

Larva nyamuk yang digunakan dalam penelitian ini adalah larva nyamuk *Aedes aegypti* yang memiliki sifon gemuk dan pendek, kait panjang pada thorak serta gigi sisir berbentuk mahkota (Gambar 2).

Kematian larva *Aedes aegypti* mulai terjadi pada pemberian bakteri kitinolitik dengan konsentrasi 1% dan tingkat kematian semakin meningkat pada konsentrasi bakteri kitinolitik yang lebih tinggi. Sampai hari ke 7 rata-rata kematian paling tinggi terjadi pada konsentrasi 3% bakteri kitinolitik air sungai dengan presentase kematian sebanyak 90%.

Perbedaan morfologi larva *Aedes aegypti* sebelum dan sesudah perlakuan menunjukkan kerusakan pada bagian kepala, thorak, abdomen dan sifon. Kerusakan larva *Aedes aegypti* pada isolat bakteri kitinolitik air rendaman kulit udang

sediaan dengan mikroskop perbesaran 1000x. Bakteri kitinolitik yang terdapat dalam air sungai dan air rendaman udang termasuk bakteri coccus gram negative atau bakteri berbentuk bulat berwarna merah.

dan air sungai tidak jauh berbeda, namun pada isolat bakteri kitinolitik air rendaman kulit udang bagian kepala pada larva masih terlihat (Gambar 3) sedangkan pada isolate bakteri kitinolitik air sungai bagian sifon masih terlihat (Gambar 4).

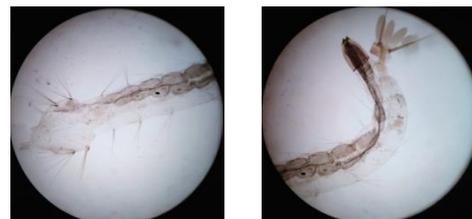
Isolat yang paling banyak menimbulkan kematian pada larva *Aedes aegypti* adalah isolate bakteri kitinolitik dari air sungai (Tabel 1).



Gambar 2. Gambar bagian tubuh larva *Aedes aegypti* normal.



Gambar 3. Larva *Aedes aegypti* yang mati akibat pemberian bakteri kitinolitik air rendaman kulit udang.



Gambar 4. Larva *Aedes aegypti* yang mati akibat pemberian bakteri kitinolitik air sungai.

Tabel 1 hasil kematian larva *Aedes aegypti*

NO	Sumber bakteri	Ulangan	Jumlah larva yang mati pada konsentrasi		
			1%	2%	3%
1	Air Rendaman Kulit udang	I	3	6	8
		II	2	6	7
		III	2	7	9
% kematian			23%	63%	80%
Rata-rata			2.3	6.3	8
2	Air sungai	I	4	6	9
		II	3	7	8
		III	4	7	10
% kematian			37%	67%	90%
Rata-rata			3.7	6.7	9

Pembahasan

Bakteri kitinolitik merupakan bakteri yang dapat menghasilkan enzim kitinase yang mampu mendegradasi kitin. Pada larva nyamuk, kitin berfungsi sebagai pelindung tubuh dan mekanisme utama dalam membatasi kehilangan air melalui dinding tubuh. Menurut pujianto et al. kerusakan eksoskeleton pada larva diakibatkan oleh terdegradasinya kitin yang merupakan polimer utama eksoskeleton oleh aktivitas kitinase yang dihasilkan bakteri kitinolitik.

Hasil data yang diperoleh dari bakteri kitinolitik air rendaman kulit udang terhadap jumlah kematian larva *Aedes aegypti* yaitu sebanyak 50 ekor dari 90 ekor larva *Aedes aegypti* dapat terbunuh. Sedangkan hasil data pada bakteri kitinolitik air sungai yaitu sebanyak 58 ekor dari 90 ekor larva *Aedes aegypti* terbunuh. Berdasarkan data di atas bakteri kitinolitik air rendaman kulit udang dan bakteri kitinolitik air sungai mampu membunuh larva *Aedes aegypti* dengan tingkat kematian yang lebih besar pada bakteri kitinolitik air sungai. Kandungan kitin dari limbah udang yang terdiri dari (kepala, kulit dan ekor) mencapai 50% dari berat udang (Shofia LI, Catur R.W,2015). Kitin juga diketahui terdapat pada kulit keong, kepiting, kerang dan cangkang bekicot (E.Rakhmawati,2007).

Berdasarkan pernyataan di atas dapat di simpulkan bahwa isolate bakteri

kitinolitik yang berasal dari air sungai memiliki ketersediaan zat kitin yang berlimpah dari hewan-hewan yang mengandung kitin.

Penggunaan bakteri kitinolitik air rendaman kulit udang dan air sungai cukup efektif dalam membunuh larva *Aedes aegypti*, adapun perbedaan konsentrasi pada masing-masing sumber yaitu konsentrasi 1%, konsentrasi 2% dan konsentrasi 3%. Berdasarkan hasil data yang diperoleh pada konsentrasi 1% bakteri kitinolitik air rendaman kulit udang persentase kematian larva *Aedes aegypti* adalah 23%, pada konsentrasi 2% persentase kematian larva *Aedes aegypti* adalah 63% dan pada konsentrasi 3% persentase kematian larva *Aedes aegypti* adalah 80%. Sedangkan pada konsentrasi 1% bakteri kitinolitik air sungai persentase kematian larva *Aedes aegypti* adalah 37%, pada konsentrasi 2% persentase kematian larva *Aedes aegypti* adalah 67% dan pada konsentrasi 3% persentase kematian larva *Aedes aegypti* 90%.

Pada konsentrasi bakteri kitinolitik yang lebih tinggi terdapat kandungan enzim kitinase yang lebih banyak daripada konsentrasi yang lebih rendah. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Rahmayanti et al. (2016) bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang digunakan maka semakin tinggi pula kematian larva *Aedes aegypti*, hal ini sesuai dengan teori Hoedojo dan Zulhasril (2004)

bahwa khasiat insektisida untuk membunuh serangga sangat bergantung pada bentuk, cara masuk ke dalam tubuh serangga, konsentrasi dan jumlah (dosis) insektisida.

Tidak semua larva yang di uji mengalami kematian selama rentang waktu pengamatan, sebagian dari larva yang tidak mati mengalami kondisi abnormalitas dan perkembangan yang tidak semestinya akibat perlakuan bakteri kitinolitik. Keberadaan vektor nyamuk *Aedes aegypti* dari fase telur sampai dengan imago dapat dipengaruhi oleh lingkungan biotik maupun abiotik (Elva yulianti et al, 2020), sehingga dapat diketahui bahwa larva yang tidak mati tidak dapat mengalami perkembangan menjadi nyamuk dewasa karena kondisi lingkungan yang kurang mendukung, lingkungan yang dimaksud adalah penambahan bakteri kitinolitik pada media pertumbuhan larva *Aedes aegypti*. Dalam hal ini bakteri kitinolitik dianggap cukup efektif digunakan sebagai larvasida alami *Aedes aegypti*.

Kesimpulan

Dari penelitian ini dapat di simpulkan sebagai berikut :

1. Terdapat pengaruh perbedaan sumber bakteri kitinolitik antara air rendaman kulit udang dan air sungai terhadap efektivitasnya sebagai larvasida *Aedes aegypti*.
2. Terdapat pengaruh perbedaan variasi konsentrasi bakteri kitinolitik terhadap efektivitasnya sebagai larvasida *Aedes aegypti*.
3. Isolat bakteri kitinolitik air sungai lebih efektif dalam membunuh larva nyamuk *Aedes aegypti*.
4. Semakin tinggi variasi konsentrasi semakin tinggi kemampuan bakteri kitinolitik dalam membunuh larva nyamuk *Aedes aegypti*.

Daftar Pustaka

Ardani, F., Yasmin, Y., & Fitri, L. (2012). **Potensi Bakteri Kitinolitik Sumber Air Panas Sebagai Pengendali Hayati Larva *Aedes***

aegypti. *Jurnal Biologi Edukasi*, 4(2), 77-81.

Cahyaningrum, S. E., Agustini, R., & Herdyastuti, N. (2007). **Pemakaian kitosan limbah udang windu sebagai matriks pendukung pada imobilisasi papain**. *Jurnal Aktakimindo*, 2(2), 93-98.

Ihsani, S. L., & Widyastuti, C. R. (2015). **Sintesis biokoagulan berbasis Kitosan dari kulit udang untuk pengolahan air sungai yang tercemar limbah industri jamu dengan kandungan Padatan Tersuspensi Tinggi**. *Jurnal Bahan Alam Terbarukan*, 3(2), 66-70.

Kemenkes RI. (2021). **Data Kasus Terbaru DBD di Indonesia**.

Muh. Natsir, Kurniawati, D & Utamy, S. P. **Isolasi dan Identifikasi Bakteri Kitinolitik Asal Sungai Pohara Sulawesi Tenggara serta Optimasi Produksi Enzim Kitinase**. *Jurnal Progres Kimia Sains*, 2(2).

Nur Khikmah & Luluk Setiyaningsih (2015). **The Potensial o Indigenous Chitinolytic Bacteria as Larvacidae of *Aedes aegypti*** (*Akademi Analisis Kesehatan Manggala Yogyakarta*).

Pratiwi, R. (2014). **Manfaat Kitin dan Kitosan bagi Kehidupan Manusia**. Bidang Sumber daya Laut, Pusat Penelitian Oseanografi-LIPI, *Jakarta* 39(1), 35-43.

Rahmayanti, R., Putri, S. K., & Fajarna, F. (2016). **Uji Potensi Kulit Bawang Bombay (*Allium cepa*) Sebagai Larvasida Terhadap Kematian Larva Nyamuk *Aedes aegypti***. *Jurnal Edukasi dan Sains Biologi*, 5(1), 77794.

Rakhmawati, E. (2007). **Pemanfaatan Kitosan Hasil Deasetilasi Kitin Cangkang Bekicot sebagai Adsorben Zat Warna Remazol Yellow**. Jurusan Kimia Fakultas

Matematika dan Ilmu Pengetahuan
Alam Universitas Sebelas
Maret, *Skripsi*.

- Widiastuti, D., & Marbawati, D. (2016). **Efek Larvasida Bakteri Kitinolitik dari Limbah Kulit Udang terhadap Larva *Aedes aegypti***. *ASPIRATOR-Journal of Vector-borne Disease Studies*, 8(1), 47-54.
- Yasmin, Y., & Fitri, L. (2013). **Perubahan morfologi larva nyamuk akibat pemberian larvasida bakteri kitinolitik**. *Jurnal Entomologi Indonesia*, 10(1), 18-23.
- Yulianti, E., & Abdurrivai, A. (2020). **Perilaku Bertelur dan Siklus Hidup Nyamuk *Aedes aegypti* pada Berbagai Media Air (Studi Literatur)**. *Sulolipu: Media Komunikasi Sivitas Akademika dan Masyarakat*, 20(2), 227-239.