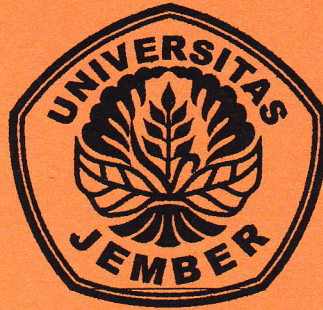


732

KESEHATAN

LAPORAN PENELITIAN HIBAH BERSAING



PEMURNIAN TOKSIN BARU YANG DIISOLASI DARI  
BAKTERI *PHOTORHABDUS* ISOLAT LOKAL UNTUK  
MEMBRANTAS LARVA NYAMUK *AEDES AEGYPTI*

Ketua Peneliti:  
DR. DWI WAHYUNI, M.KES.

Dibiayai oleh Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan  
Nasional, Surat Perjanjian Pelaksanaan Hibah Penelitian Tahun Anggaran 2007  
Nomer: 040/SP2H/PP/DP2M/III/2007 tertanggal 29 Maret 2007

UNIVERSITAS JEMBER  
NOPEMBER 2007

suk 2008

LP. 2007

M

732

TIDAK DIPINJAM KE LUAR

KESEHATAN

LAPORAN PENELITIAN HIBAH BERSAING



PEMURNIAN TOKSIN BARU YANG DIISOLASI DARI  
BAKTERI *PHOTORHABDUS* ISOLAT LOKAL UNTUK  
MEMBRANTAS LARVA NYAMUK *AEDES AEGYPTI*

Ketua Peneliti:  
DR. DWI WAHYUNI, M.KES.

Dibiayai oleh Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan  
Nasional, Surat Perjanjian Pelaksanaan Hibah Penelitian Tahun Anggaran 2007  
Nomer: 040/SP2H/PP/DP2M/III/2007 tertanggal 29 Maret 2007

UNIVERSITAS JEMBER  
NOPEMBER 2007

ASAL : HADIAH / PEMBELIAN  
TERIMA : TUL  
NO INDUK :

K L A S

## HALAMAN PENGESAHAN

1. Judul Penelitian : Pemurnian toksin baru yang diisolasi dari bakteri *Photorhabdus* isolat lokal untuk membrantas larva nyamuk *Aedes aegypti*
2. Ketua Peneliti
- a. Nama Lengkap : Dr. Dwi Wahyuni, M.Kes
  - b. Jenis Kelamin : Perempuan
  - c. NIP : 131 660 781
  - d. Jabatan Fungsional : Pembina
  - e. Jabatan Struktural : Ketua Pusat Penelitian Kesehatan
  - f. Bidang Keahlian : Parasitologi
  - g. Fakultas / Jurusan : FKIP / P.MIPA/Biologi
  - h. Perguruan Tinggi : Universitas Jember
  - i. Tim Peneliti

No	Nama	Bidang Keahlian	Fakultas	Perguruan Tinggi
1..	Dr. Dwi Wahyuni, M.Kes.	Toksikologi	FKIP	Universitas Jember
2.	Prof. Soedarto, Ph.D, dr	Biopestisida	F.Kedokteran	Universitas Airlangga
3.	Dr. Joko Waluyo, M.Si	Mikrobiologi/ Bioteknologi	FKIP	Universitas Jember

3. Pendanaan dan jangka waktu penelitian
- a. Jangka Waktu Penelitian yang diusulkan : 2 [dua] tahun, Tahun 2006 s/d 2007
  - b. Biaya total yang diusulkan : Rp 90.000.000,- [Sembilan ratus juta rupiah]
  - c. Biaya yang disetujui tahun Pertama : Rp 40.000.000,- [Lima puluh juta rupiah]

Jember, 6 Nopember 2007  
Ketua Peneliti

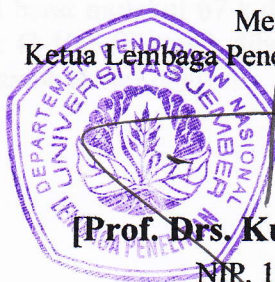
Mengetahui  
Dekan FKIP UNEJ



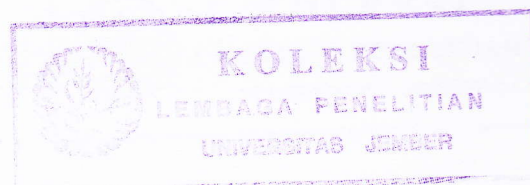
[Drs. Imam Muchtar, SH, M.Hum]  
NIP. 130 810 936

[Dr. Dwi Wahyuni, M.Kes.]  
NIP. 131 660 781

Mengetahui  
Ketua Lembaga Penelitian Universitas Jember



[Prof. Drs. Kusno, DEA, Ph.D]  
NIP. 131 592 357



## RINGKASAN

### PEMURNIAN TOKSIN BARU YANG DIISOLASI DARI BAKTERI PHOTORHADDUS ISOLAT LOKAL UNTUK MEMBERANTAS LARVA NYAMUK *Aedes Aegypti*

Tujuan dalam penelitian tahun kedua adalah untuk mendapatkan protein tunggal / murni yang patogenik/ toksik terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*.

Penelitian ini dilakukan di laboratorium P.Biologi FKIP dan Laboratorium Biologi Molekuler Universitas Jember dan Laboratorium Dasar Bersama Universitas Airlangga. Metode penelitian ini meliputi pemisahan protein toksin kompleks dengan menggunakan kromatografi kolom DEAE Sephacel (anion exchanger), dilanjutkan dengan pemisahan protein toksin dengan Kromatografi kolom Sephadex G-100 (Filtrasi), kemudian dilakukan pemurnian protein toksin dengan Native-PAGE. langkah berikutnya dilakukan karakterisasi protein murni yang meliputi penentuan BM dengan SDS-PAGE, penentuan konsentrasi protein toksin dengan metode Bradford dan uji toksisitas protein toksin.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa supernatan bakteri *Photorhabdus luminescens* isolat Indonesia berupa protein kompleks yang terdiri dari beberapa macam protein, besarnya konsentrasi protein adalah 0,155 µg /ml, mempunyai aktifitas enzim proteolitik dan mempunyai toksisitas terhadap larva instar IV nyamuk *Aedes aegypti*, dengan waktu dedah 24 jam, diperoleh besarnya toksisitas (LC<sub>50</sub>) adalah 0,0129, sedangkan untuk masa dedah 48 jam besarnya LC<sub>50</sub> adalah 0,0119.

Hasil pemisahan protein supernatan bakteri *Photorhabdus luminescens* isolat Indonesia yang bersifat entomopatogen terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* menunjukkan adanya 3 protein utama dengan berat molekul 67 kDa, sedangkan dua band yang kurang jelas menunjukkan berat molekul 29 kDa dan 97 kDa. Protein ini mempunyai toksisitas terhadap larva instar IV nyamuk *Aedes aegypti*. Tiga protein utama ini mempunyai daya toksik terhadap larva sasaran yang berbeda

Hasil fraksinasi protein dengan kromatografi kolom DEAE didapatkan 3 fraksi. Pengukuran kandungan protein dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 280 nm menghasilkan tiga puncak kelompok protein. Ketiga puncak kelompok protein tersebut diuji aktivitasnya. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa puncak I dan puncak II tidak mempunyai aktivitas, sedang puncak ke III mempunyai aktivitas terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*.

Hasil pemisahan Protein toksin dengan Kromatografi Kolom DEAE Sephacel (*Anion Exchanger*) diperoleh satu komponen protein yang mempunyai toksisitas terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*. Hasil SDS-PAGE protein toksin menunjukkan satu band dengan berat molekul 67 kDa. Pemisahan Protein Dengan Kromatografi Kolom Sephadex G-100 (Filtrasi) dihasilkan satu komponen protein yang toksik terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*



## ABSTRACT

*Photorhabdus luminescens* strains isolated from Indonesia is enteric bacterium that is found in association with entomopathogenic nematodes *Heterorhabditis indicus* isolated in the Ngadas- Jawa Timur, Indonesia . When grown in peptone broth, in the absence of the nematodes, the bacteria produce a protein toxin complex that is lethal when given orally into the hemolymph of *Aedes aegypti* larvae.

The supernatant character of *Photorhabdus luminescens* strains isolated from Indonesia as a protein complex and contains protease activity, sensitive to heat, protein concentration is 0,155 µg / ml.

The toxin purified by analyses of the protein by sodium dodecyl sulfate – polyacrylamide gel electrophoreses (SDS – PAGE) showed to the three components is protein sub unit 29 kDa, 67 kDa and 97 kDa, as a pure protein which has an estimated molecular weight of 67 kDa, The protein concentration is 0,615 µg / ml. The purified toxin possesses as entomopathogenic when given orally into *Aedes aegypti* larvae.

The toxic protein purification the lethal into *Aedes aegypti* larvae. With the 24hour exposed,  $LC_{50} = 0,00112$  . For the 48 hour exposed,  $LC_{50} = 0,00131$  differs with supernatant that is lethal into *Aedes aegypti* larvae . With the 24hour exposed,  $LC_{50} = 0,0129$  . For the 48 hour exposed,  $LC_{50} = 0,0119$ .

The toxin produced by the bacterium *Photorhabdus luminescens* strains isolated from Indonesia present potential alternatives of new bioinsecticide replacing for insect resistance to insecticidal *Bacillus thuringiensis* toxins expressed in transgenic plant.

Key words: *Photorhabdus*, *Thuringiensis*, *Aedes aegypti*, *Heterorhabditis indicus* Entomopathogenic nematode.