



# Jurnal Bioshell

ISSN: 2623-0321

Doi: 10.56013/bio.v12i2.2317

<http://ejournal.uinj.ac.id/index.php/BIO>



## Pengujian Kemampuan Larva Ulat Bambu (*Omphisa fuscidentalis*) sebagai Hewan Uji Virulensi Bakteri *Klebsiella pneumoniae*

<sup>1</sup>Maulin Inggraini\*, <sup>2</sup>Vega Aulia Romadhona, <sup>3</sup>Noor Andryan Ilsan, <sup>4</sup>Reza Anindita

\*Corresponding Author: Maulin Inggraini

Email Corresponding Author: [maulin.inggraini@stikesmitrakeluarga.ac.id](mailto:maulin.inggraini@stikesmitrakeluarga.ac.id)

<sup>1,2,3,4</sup>STIKes Mitra Keluarga, Bekasi

### ABSTRAK

#### Article History

Revised: 14 October, 2023

Accepted: 19 October, 2023

Published: 24 October, 2023

Corresponding Author\*

**Maulin Inggraini**

E-mail:

[maulin.inggraini@stikesmitrakeluarga.ac.id](mailto:maulin.inggraini@stikesmitrakeluarga.ac.id)

[stikesmitrakeluarga.ac.id](http://stikesmitrakeluarga.ac.id)

No. HP/WA: 081296473661

Pneumonia dapat menyebabkan inflamasi berlebihan pada paru-paru maupun inflamasi secara sistemik sehingga bisa menyebabkan kematian pada penderita. Bakteri utama penyebab pneumonia diantaranya *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pneumoniae* dan *Klebsiella pneumoniae*. *K. pneumoniae* memiliki faktor-faktor virulensi yang dapat mempengaruhi tingkat keparahan penyakit. Pengujian virulensi suatu bakteri dapat dilakukan salah satunya dengan cara *in vivo* menggunakan hewan uji. Hewan uji yang umum digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*), mencit (*Mus musculus*), nematoda transparan (*Caenorhabditis elegans*), ikan zebra (*Danio rerio*), ngengat lilin (*Galleria mellonella*) dan ulat bambu (*Omphisa fuscidentalis*). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menguji kemampuan *Omphisa fuscidentalis* sebagai hewan alternatif untuk menguji virulensi *Klebsiella pneumoniae*. Jenis penelitian yang digunakan adalah kuantitatif dengan desain penelitian eksperimental. Perlakuan yang dilakukan berupa penyuntikkan *Klebsiella pneumoniae* ke larva *Omphisa fuscidentalis* dengan konsentrasi  $10^4$ ,  $10^5$ ,  $10^6$  CFU/larva. Semua perlakuan dilakukan sebanyak 10 kali pengulangan. Larva *O.fuscidentalis* diamati pola kematiannya sampai jam ke 72. Hasil yang didapat adalah terdapat pengaruh antara konsentrasi *K. pneumoniae* dengan jumlah kematian larva ulat *O.fuscidentalis*. Uji virulensi *K. pneumoniae* pada konsentrasi  $10^6$  CFU/larva adalah konsentrasi yang tercepat dalam membunuh *O.fuscidentalis*, pada jam ke 24 sejumlah 8 larva dengan kategori 2 Mati Putih (MP), 5 Mati Coklat (MC) dan 1 Mati Hitam (MH).

**Kata kunci:** Hewan uji, *Klebsiella pneumoniae*, larva ulat bambu, *Omphisa fuscidentalis*, pneumonia.

## ABSTRACT

Pneumonia can cause excessive inflammation in the lungs and systemic inflammation which can cause death in sufferers. The main bacteria that cause pneumonia include *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pneumoniae* and *Klebsiella pneumoniae*. *K. pneumoniae* has virulence factors that can influence the severity of the diseases. Testing the virulence of a bacteria can be done *in vivo* using test animals. Commonly used test animals are white rats (*Rattus norvegicus*), Mice (*Mus musculus*), transparent nematodes (*Caenorhabditis elegans*), zebrafish (*Danio rerio*), wax moths (*Galleria mellonella*) and mealworms (*Omphisa fuscidentalis*). The aim of this research was to test the ability of *Omphisa fuscidentalis* as an alternative animal for testing *Klebsiella pneumoniae* virulence. The type of research used is quantitative with an experimental research design. The treatment consisted of injecting *Klebsiella pneumoniae* into *Omphisa fuscidentalis* larvae with concentrations of  $10^4$ ,  $10^5$ ,  $10^6$  CFU/larvae. All treatments were carried out 10 times in repetition. The death pattern of *O. fuscidentalis* larvae was observed until 72 hours. The results obtained were that there was an influence between the concentration of *K. pneumoniae* on the number of deaths of *O. fuscidentalis* larvae. *K. pneumoniae* virulence test at a concentration of  $10^6$  CFU/larvae is the fastest concentration in killing *O. fuscidentalis*, within 24 hours there were 8 larvae with categories 2 Dead White (MP), 5 Dead Brown (MC) and 1 Dead black (MH).

Keywords: Test Animal , *Klebsiella pneumoniae*, mealworm larvae, *Omphisa fuscidentalis*, pneumonia

## I. PENDAHULUAN

Pneumonia merupakan peradangan pada parenkim paru yang disebabkan oleh mikroorganisme. Pneumonia dapat menyebabkan inflamasi berlebihan pada paru-paru maupun inflamasi secara sistemik sehingga bisa menyebabkan kematian pada penderita (Reviono, 2017). Menurut WHO tahun 2019 kasus pneumonia menyumbang 14% dari total kematian balita. Angka kejadian pneumonia tertinggi dialami oleh negara-negara berkembang dan menyerang sekitar 450 juta orang setiap tahunnya. Kematian akibat pneumonia di Indonesia sebesar 34.8%. (Kemenkes, 2019)

Pneumonia dapat disebabkan oleh virus, bakteri dan jamur. Bakteri utama penyebab pneumonia diantaranya *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pneumoniae* dan

*Klebsiella pneumoniae* (Dahlan, 2014). Menurut Anderson, *et al.* (2007) dalam (Tarina dan Kusuma, 2017) *K. pneumoniae* merupakan bakteri Gram negatif berbentuk batang pendek, memiliki kapsul dan tidak memiliki spora.

*K. pneumoniae* merupakan bakteri Gram negatif terbanyak yang ditemukan pada infeksi nosokomial. *K. pneumoniae* memiliki faktor-faktor virulensi yang dapat mempengaruhi tingkat keparahan penyakit. Pengujian virulensi suatu bakteri dapat dilakukan salah satunya dengan cara *in vivo* menggunakan hewan uji (Dewi dkk., 2019). Hewan uji yang umum digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*), mencit (*Mus musculus*), nematoda transparan (*Caenorhabditis elegans*), ikan zebra (*Danio rerio*), ngengat lilin (*Galleria mellonella*) dan ulat bambu (*Omphisa fuscidentalis*) (Ilsan *et al.*, 2023).

Tikus sudah umum digunakan sebagai hewan uji karena tikus memiliki fungsi anatomi yang mirip dengan manusia, genomnya dapat dimanipulasi dan mudah dirawat dan ditenakkan. Kekurangan tikus sebagai hewan uji adalah sudah terlalu banyak resisten terhadap patogen manusia, untuk penggunaan patogen infeksi pernafasan dibutuhkan pembedahan. Penggunaan ikan zebra sebagai hewan uji memiliki keuntungan embrio yang terinfeksi bakteri akan terlihat transparan selama 3 minggu, tetapi ikan dewasa kurang rentan terhadap infeksi bakteri (Ilsan dkk., 2021).

*Omphisa fuscidentalis* memiliki keuntungan yang sama dengan *G. mellonella*, yaitu harganya terjangkau, mudah ditemukan, siklus hidup mudah untuk ditentukan, dapat diinkubasi pada suhu 37 °C seperti suhu tubuh normal manusia (Tsai et al., 2016). Uji virulensi merupakan langkah utama untuk menentukan tingkat keparahan gejala yang dialami oleh inang. *O. Fuscidentalis* dapat digunakan sebagai hewan uji, seperti ulat lebah (*Galleria mellonella*) karena berasal dari ordo yang sama yaitu lepidoptera. Sistem imun *O. Fuscidentalis* memiliki kesamaan dengan *G. Mellonella* yaitu memiliki enam jenis hemosit diantaranya prohemosit, sel granular, koagulosit, sferulosit dan eonositoid (Browne et al., 2013). Selain itu juga terdapat kesamaan pada komponen humoral di antaranya peptida antimikroba, enzim litik dan melanin (Tsai et al., 2016). Berdasarkan latar belakang tersebut, maka peneliti ingin menguji kemampuan *Omphisa fuscidentalis* sebagai hewan alternatif untuk menguji virulensi

*Klebsiella pneumoniae* pada konsentrasi  $10^4$ ,  $10^5$ ,  $10^6$  CFU/larva.

## II. METODOLOGI PENELITIAN

Jenis penelitian yang digunakan adalah kuantitatif dengan desain penelitian eksperimental. Perlakuan yang dilakukan berupa penyuntikkan *Klebsiella pneumoniae* ke larva *Omphisa fuscidentalis* dengan konsentrasi  $10^4$ ,  $10^5$ ,  $10^6$  CFU/larva. Semua perlakuan dilakukan sebanyak 10 kali pengulangan. Larva *O. fuscidentalis* diamati pola kematiannya sampai jam ke 72.

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah tabung reaksi, pipet ukur, neraca analitik (Adam PW254), autoklaf (Hiramaya HG-50), *Hot plate and stirrer* (fka HS 110), *shaker incubator* (shaker rotator H-SR-200), spektrofotometer (Genesys 10S UV-VIS) dan spuit. Bahan yang digunakan adalah isolat bakteri *Klebsiella pneumoniae* dari sampel klinis RS pendidikan di Bekasi, larva ulat bambu *Omphisa fuscidentalis*, media Endo Agar, media *Brain Heart Infusion Broth* (BHIB), NaCl 0,9%, alkohol dan aquadest steril.

### a. Peremajaan Isolat Bakteri

Isolat *Klebsiella pneumoniae* diambil 1 ose kemudian di gores pada media Endo Agar. Media diinkubasi pada suhu 37 °C selama 2x24 jam.

### b. Pembuatan Kultur *K. pneumoniae*

Isolat *K. pneumoniae* dimasukkan ke dalam 3 ml media *Brain Heart Infusion Broth* (BHIB) kemudian diinkubasi selama 24 jam pada *incubator shaker* dengan kecepatan 100 rpm. Kultur bakteri yang sudah berusia

24 jam, diambil 1 ml kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 2 menit pada suhu 20 °C. Natan yang terbentuk diencerkan dengan 500 µl NaCl 0,9%. Suspensi diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 600 nm dan OD 1 agar didapatkan kepadatan bakteri 10<sup>9</sup> CFU/ml. Suspensi dibuat pengenceran agar didapatkan konsentrasi 10<sup>4</sup>, 10<sup>5</sup>, 10<sup>6</sup> CFU/larva (Ilsan, Lee, et al., 2021).

### c. Penyuntikan *K. pneumoniae* pada *O. fuscidentalis*

*O. fuscidentalis* ditimbang dan dipilih dengan bobot 250-350 mg. Setiap konsentrasi *K. pneumoniae* disuntikkan pada 10 larva ulat *O. fuscidentalis* sebagai ulangan. Kelompok kontrol disuntikkan dengan NaCl 0,9%. *O. fuscidentalis* diletakkan di atas tisu yang sudah disemprot dengan alkohol 70%, kemudian disuntikkan sebanyak 10 µl suspensi bakteri pada kaki kiri terakhir. *O. fuscidentalis* diamati dan dicatat pola kematiannya pada jam ke 12, 24, 36, 48, 60 dan 72.

## III. HASIL DAN PEMBAHASAN

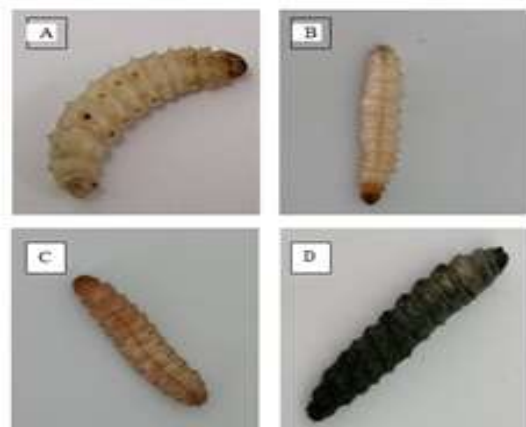
Isolat bakteri *K. pneumoniae* pada media Endo Agar akan menghasilkan koloni yang berwarna merah muda, karena *K. pneumoniae* mampu memfermentasi laktosa yang terkandung di dalam media Endo Agar. Media Endo Agar merupakan media selektif untuk bakteri Gram negatif, karena kandungan fucshin dan sodium sulfit mampu menghambat

pertumbuhan bakteri Gram positif. Pertumbuhan bakteri *K. pneumoniae* pada media Endo Agar dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. *K. pneumoniae* pada media Endo Agar

*O. fuscidentalis* yang sudah disuntik *K. pneumoniae* dan NaCl 0,9% sebagai kontrol kemudian diamati pertumbuhannya dan pola kematiannya sampai 72 jam. Kategori *O. fuscidentalis* dibagi menjadi 4 kategori seperti pada gambar 2. Hasil jumlah kematian *O. fuscidentalis* dapat dilihat pada tabel 1 di bawah ini.



Gambar 2. A) Hidup Putih (HP), B) Mati Putih (MP), C) Mati Coklat (MC), D) Mati Hitam (MH)

Tabel 1. Kategori Jumlah Kematian *Omphisa fuscidentalis*

Konsentrasi <i>K. pneumoniae</i>	Waktu	Kode			
		HP	MP	MC	MH
Kontrol	12	10			
	24	10			
	36	10			
	48	10			
	60	10			
	72	10			
10 <sup>4</sup> CFU/larva	12	9	1		
	24	9	1		
	36	9	1		
	48	9	1		
	60	8	1	1	
	72	8	1	1	
10 <sup>5</sup> CFU/larva	12	7	3		
	24	6	4		
	36	5	5		
	48	4	3	3	
	60	4	1	2	3
	72	4	1	2	3
10 <sup>6</sup> CFU/larva	12	7	2		1
	24	2	2	5	1
	36	2	2	3	3
	48	2	2	3	3
	60	2	2	3	3
	72	2	1	3	4

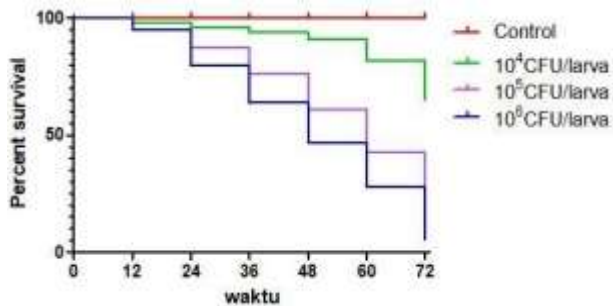
Hasil penyuntikkan *K. pneumoniae* pada larva ulat *O. fuscidentalis* pada tabel 1 menunjukkan kontrol tidak terjadi kematian pada jam ke 12 sampai jam ke 72. Pada konsentrasi 10<sup>4</sup> CFU/larva terjadi kematian pada jam ke 12 sebanyak 1 ulat dengan kategori MP dan kematian bertambah pada jam ke 60 dengan kategori 1 ulat MP dan 1 ulat MC. Pada konsentrasi 10<sup>5</sup> CFU/larva larva ulat *O. fuscidentalis* mengalami kematian dengan kategori MP pada

jam ke 12 sebanyak 3 ulat, jam ke 24 bertambah menjadi 4 ulat dan jam ke 36 sebanyak 5 ulat. Pada jam ke 48 terjadi perubahan kategori menjadi 3 ulat MP dan 3 ulat MC. Jam ke 60 dan 72 kategori kematian menjadi 1 ulat MP, 2 ulat MC dan 3 ulat MH. Konsentrasi 10<sup>6</sup> CFU/larva mengalami kematian pada jam ke 12 sebanyak 2 ulat dengan kategori MP dan 1 ulat kategori MH. Jam ke 24 sebanyak 2 ulat mati dengan kategori MP, 5 ulat kategori MC dan 1 ulat kategori MH. Jam ke 36 sampai 60 sebanyak 2 ulat dengan kategori MP, 3 ulat MC dan 3 ulat MH. Pada jam ke 72 sebanyak 1 ulat dengan kategori MP, 3 ulat MC dan 4 ulat MH.

Kematian tercepat adalah pada konsentrasi 10<sup>6</sup> CFU/larva, dengan masa inkubasi selama 24 jam sudah mampu membunuh *O. fuscidentalis* sebanyak 8 ulat. Semakin tinggi konsentrasi *K. pneumoniae* semakin banyak juga larva *O. fuscidentalis* yang mengalami melanisasi.

Sistem imun lepidoptera atau serangga diperantarai oleh hemosit yang dapat melindunginya dari bakteri patogen dengan cara fagositosis, melanisasi dan sekresi peptida antimikroba. Perubahan warna pada larva menjadi coklat hingga hitam diakibatkan oleh proses melanisasi. Proses melanisasi adalah respon dasar sistem humoral pada lepidoptera yang akan diaktifkan ketika ada benda asing

masuk ke dalam tubuh larva. Sintesis melanin yang disintesis oleh fenoloksidase dapat membatasi penyebaran mikroorganisme (Durieux MF, et al, 2021). Kurva kelangsungan hidup Kaplan-Meier pada larva *O. fuscidentalis* dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Kurva Kelangsungan Hidup Kaplan-Meier pada Larva *O. fuscidentalis* yang Disuntikkan *K.pneumoniae* pada Waktu 12, 24, 36, 48, 60 dan 72 jam.

Kelangsungan hidup larva *O. fuscidentalis* dengan konsentrasi 10<sup>4</sup> CFU/larva pada waktu 12, 24, 36, 48 jam yaitu 90%, pada waktu 60 dan 72 jam yaitu 80%. Sedangkan kelangsungan hidup *O. fuscidentalis* pada konsentrasi 10<sup>5</sup> CFU/larva pada waktu 12 jam yaitu 70%, pada waktu 24 jam yaitu 60%, pada waktu 36 jam yaitu 50%, pada waktu 48, 60, 72 jam yaitu 40%. Kelangsungan hidup ulat bambu konsentrasi 10<sup>6</sup> CFU/larva pada waktu 12 jam yaitu 70%, pada waktu 24, 36, 48, 60, 72 jam yaitu 20%. Hal ini sesuai dengan penelitian Ilsan et al., (2023) menyatakan bahwa konsentrasi suspensi bakteri patogen yang lebih tinggi akan mengakibatkan kematian larva yang lebih banyak dan cepat.

Virulensi bakteri merupakan faktor utama dalam mempengaruhi tingkat

keparahan penyakit yang diakibatkan oleh mikroorganisme (Sarowska, et al., 2019) Faktor virulensi yang paling berperan dalam proses patogenitas *K. pneumoniae* adalah kapsul lipopolisakarida dan kemampuannya dalam membentuk biofilm yang tebal (Riwu, et al., 2022). *K. Pneumoniae* juga memiliki dua organela fibriae, yaitu tipe 1 dan 3. Proses penempelan bakteri pada permukaan sel inang merupakan langkah esensial dalam patogenitas *K. Pneumoniae* (Dewi et al., 2019).

#### IV. KESIMPULAN

Kesimpulan pada penelitian ini adalah terdapat pengaruh antara konsentrasi *K. pneumoniae* dengan jumlah kematian larva ulat *O. fuscidentalis*. Uji virulensi *K. pneumoniae* pada konsentrasi 10<sup>6</sup> CFU/larva adalah konsentrasi yang tercepat membunuh *O. fuscidentalis*, pada jam ke 24 sejumlah 8 larva dengan kategori 2 MP, 5 MC dan 1 MH.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Browne, N., Heelen, M., & Kavanagh, K. (2013). An analysis of the structural and functional similarities of insect hemocytes and mammalian phagocytes. *Virulence*, 4(7), 597–603. <https://doi.org/doi:10.4161/viru.25906>
- Dahlan, Z. (2014). *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam* (M. Setiati, Siti Alwi Idrus Sudoyo, Aru Simadibrata, B. Stiyohadi, & F. Syam, Ari (eds.); 6th ed.). InternaPublishing.
- Dewi, N. M. R. ., Tarini, N. M. ., & Fatmawati, N. N. . (2019). Deteksi Gen fimH pada Isolat Klinis *Klebsiella pneumoniae* di RSUP

- Sanglah Denpasar. *E-Jurnal Medika*, 8(4), 1-6.
- Durieux MF, Melloul É, Jemel S, Roisin L, Dardé ML, Guillot J, Dannaoui É, B. F. (2021). *Galleria mellonella* as a screening tool to study virulence factors of *Aspergillus fumigatus*. *Virulence*, 12(1), 818-834. <https://doi.org/10.1080/21505594.2021.1893945>
- Ilsan, N. ., Lee, Y. ., Kuo, S. ., Lee, I. ., & Huang, T. . (2021). Antimicrobial Resistance Mechanisms and Virulence of Colistin-and Carbapenem - Resistant *Acinetobacter baumannii* Isolated from a Teaching Hospital in Taiwan. *Microorganisms*, 9(6), 1295. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/microorganisms9061295>
- Ilsan, N. ., Nurfajria, S., & Inggraini, M. (2021). HEWAN SEBAGAI MODEL PENYAKIT INFEKSI PERNAFASAN YANG DISEBABKAN OLEH BAKTERI. *Jurnal Mitra Kesehatan*, 4(1), 48-56.
- Ilsan, N. ., Yunita, M., Dewi, N. ., Irham, L. M., Sipriyadi, Nurfajriah, S., & Inggraini, M. (2023). Potentially Virulent Multi- Drug Resistant *Escherichia fergusonii* Isolated from Inanimate Surface in a Medical University: *Omphisa fuscidentalis* as an Alternative for Bacterial Virulence Determination. *Diagnostics*, 13(2), 1-10.
- Kemenkes. (2019). *Profil Kesehatan Indonesia*. [www.kemendes.go.id](http://www.kemendes.go.id)
- Reviono. (2017). *Pneumonia* (Harsini (ed.); 1st ed.). UNS Press.
- Riwu KHP, Effendi MH, Rantam FA, Khairullah AR, W. A. (2022). A review: Virulence factors of *Klebsiella pneumonia* as emerging infection on the food chain. *Vet World*, 15(9), 2172-2179. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2022.2172-2179>
- Sarowska, J., Futoma-Koloch, B., Jama-Kmiecik, A., Frej-Madrzak, M., Ksiazczyk, M., Bugla-Ploskonska, G., & Choroszy-Krol, I. (2019). Virulence factors, prevalence and potential transmission of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* isolated from different sources: recent reports. *Gut Pathogens*, 11(10), 2-6. <https://doi.org/https://doi.org/10.1186/s13099-019-0290-0>
- Tarina, N. T. I. Kusuma, S. A. . (2017). Deteksi Bakteri *Klebsiella pneumoniae*. *Farmaka*, 15(1), 119-126.
- Tsai, C. J. ., Loh, J. M. ., & Proft, T. (2016). *Galleria mellonella* infection models for the study of bacterial diseases and for antimicrobial drug testing. *Virulence*, 7(3), 214-229. <https://doi.org/https://doi.org/10.1080/21505594.2015.1135289>