

## Identifikasi Senyawa Volatil dari Luka Myiasis dan Responnya terhadap Lalat *Chrysomya bezziana*

APRIL H. WARDHANA<sup>1</sup>, SUKARSIH<sup>1</sup> dan R. URECH<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Balai Penelitian Veteriner, PO Box 151, Bogor 16114

<sup>2</sup>Queensland Department of Primary Industries, Animal Research Institute, Yeerongpilly Q 4105

(Diterima dewan redaksi 22 September 2004)

### ABSTRACT

WARDHANA, A.H., SUKARSIH and R. URECH. 2005. Identification of volatile compounds from myiasis wounds and its responses for *Chrysomya bezziana*. *JITV* 10(1): 41-50.

Development of attractant for screwworm fly was required in myiasis control on livestock. The purpose of this study is to identify of volatile compounds from myiasis wound infested with *Chrysomya bezziana* larvae including to assess their responses in both cage and room assays. Both Friesian-Holstein heifer (FH) (animal 1) and Bali cattle (animal 2) were used as myiasis model. The artificial wounds (8-10 cm) were conducted on the rump of both animals and infested with about 200 eggs of *C. bezziana*. Odours from the infested wound were collected on day 1 and 3 for animal 1 and day 3 and 5 for animal 2, post *C. bezziana* larvae infestation. Two different collection devices were used: firstly, absorption onto Tenax kept in steel tubes, which was attached to a collected bowl. The volatile organic compounds were collected from the wound and the surrounding animal hide by flowing the air through the inlet and outlet. Secondly, a solid phase micro extraction (SPME) device was inserted into bowl with passive (no air flow) odour collection. Gas chromatography/mass spectrometry was used to identify volatile compounds from wound. The compounds of the wound on animal 1, collected on day 1, produced only minor quantities of compounds (nonanal, decanal, hexanal and heptanal). Minor components such as DMS and DMTS were only detected on day 3. The compounds of the wound on animal 2 was more varied and had a peculiar strike-like smell on day 3 and 5. They included indole, phenol, acetone, various sulfides (DMS, DMDS, DMTS), alcohols (butanol, 3-methylbutanol), aldehydes and acids. These compounds were selected and formulated into attractant (B92) then tested in both cage and room assays using SL-2 as control. Respond of flies was analyzed by ANOVA 5% (cage assay) and T test 5% (room assay). The result showed that the fly response to B92 was very low compared to SL-2 in cage assays ( $P < 0.05$ ). The addition of B92 to SL-2 could not increase the catch of flies in the cage assays (SL-2+B92=10:1; 10:3), there was no difference between SL-2 and B92/SL-2 in room assay, the fly response still low ( $P > 0.05$ ).

**Key Words:** Volatile Compound, Myiasis, Wound, *Chrysomya bezziana*

### ABSTRAK

WARDHANA, A.H., SUKARSIH dan R. URECH. 2005. Identifikasi senyawa volatil dari luka myiasis dan responnya terhadap lalat *Chrysomya bezziana*. 2004. *JITV* 10(1): 41-50.

Pengembangan formula pemikat untuk lalat *screwworm* sangat diperlukan dalam program pengendalian penyakit myiasis pada ternak. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi senyawa volatil dari luka myiasis yang diinfestasi dengan larva *C. bezziana* sekaligus untuk mengetahui responnya pada uji sangkar dan semi lapang. Sebanyak dua ekor sapi, yaitu sapi Friesian Holstein betina (FH) (hewan 1) dan sapi Bali jantan (hewan 2) digunakan sebagai model luka myiasis. Luka buatan sepanjang 8-10 cm dibuat pada bagian *rump* dan sebanyak 200 telur *C. bezziana* diinfestasikan pada luka tersebut. Bau yang ter evaporasi dari luka dikoleksi pada hari pertama dan ke-3 untuk hewan 1 sedangkan untuk hewan 2 dikoleksi pada hari ke-3 dan ke-5. Dua jenis alat digunakan untuk mengoleksi bau ini, yaitu adsorpsi ke dalam Tenax yang terdapat dalam tabung tembaga dan disambungkan dengan mangkok *stainless steel*. Alat ini melibatkan aliran udara konstan yang masuk dan keluar dari mangkok sehingga bau dapat tertampung dalam tabung. Cara yang lain adalah tanpa aliran udara, yaitu menggunakan alat *Solid Phase Micro Extraction* (SPME) yang disisipkan ke dalam mangkok. Gas kromatografi/mass spektrometri digunakan untuk menganalisis dan menentukan jenis senyawa volatil. Luka pada hewan 1 menghasilkan senyawa nonanal, dekanal, heksanal dan heptanal (hari pertama) dan variasi senyawa sulfida, yaitu DMS, DMDS dan DMTS (hari ke-3). Senyawa yang lebih beragam berhasil dideteksi pada hari ke-3 dan ke-5 (hewan 2) yang mempunyai bau seperti kasus myiasis alami. Senyawa-senyawa tersebut adalah indol, fenol, aseton termasuk variasi senyawa sulfida (DMS, DMDS dan DMTS), alkohol (butanol, 3-metilbutanol), aldehid dan beberapa jenis asam. Senyawa-senyawa yang teridentifikasi diseleksi dan diformulasi menjadi pemikat (B92) kemudian diuji pada uji sangkar dan semi lapang dengan pemikat SL-2 sebagai pembanding. Respon lalat dianalisis dengan ANOVA 5% (uji sangkar) dan uji T 5% (uji semi lapang). Hasil uji sangkar menunjukkan bahwa respon lalat terhadap B92 sangat rendah jika dibandingkan dengan SL-2 ( $P < 0,05$ ). Penambahan B92 ke dalam SL-2 tidak mampu meningkatkan jumlah lalat yang tertangkap pada uji sangkar (SL-2+B92=10:1; 10:3). Respon lalat pada uji semi lapang juga masih menunjukkan respon yang rendah, secara statistik antara SL-2 dan kombinasi B92/SL-2 tidak menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P > 0,05$ ).

**Kata Kunci:** Senyawa Volatil, Myiasis, Luka, *Chrysomya bezziana*

## PENDAHULUAN

Penyakit myasis atau belatungan masih sering terjadi pada ternak terutama di daerah endemik seperti Makasar, Sumba Timur, Pulau Lombok, Sumbawa, Yogyakarta dan Kediri (SUKARSIH *et al.*, 1989; SUNARYA, 1998; WARDHANA *et al.*, 2003). Diantara berbagai jenis lalat penyebab myasis, *Chrysomya bezziana* merupakan agen primer penyakit ini dan bersifat parasit obligat. Menurut PARTOUTOMO (2000), secara ekonomis lalat *C. bezziana* sangat merugikan peternak karena lebih patogen dan mempunyai daerah penyebaran yang luas, yaitu dari Afrika sampai Asia sehingga lalat ini perlu diwaspadai.

Adanya reseptor pada antena lalat myasis yang digunakan untuk menemukan sumber bau luka, melahirkan pemikiran untuk mengembangkan suatu formula pemikat (*attractant*) yang diletakkan ke dalam perangkap (*trap*). DE VANEY *et al.* (1970) menyebutkan bahwa reseptor pada antena lalat *Cochliomyia hominivorax* (penyebab myasis di Amerika) sangat penting untuk mendeteksi adanya luka pada domba yang diinfestasi oleh larva lalat tersebut. Antena insekta berperan sebagai organ olfaktori (pencium) yang berfungsi untuk mendeteksi sumber bau atau pakan. Pendapat ini didukung oleh CORK *et al.* (1990) yang menyatakan bahwa antena insekta merupakan detektor spesifik yang mempunyai daya sensitifitas dan selektifitas yang tinggi.

Penelitian tentang pemikat lalat myasis telah dilakukan sebelum tahun 70 an dengan tujuan untuk mengganti hati sapi yang secara tradisional mampu memikat lalat jantan. DE VANEY *et al.* (1973) melaporkan bahwa formula pemikat yang terbuat dari darah sapi yang terkontaminasi dengan bakteri, darah steril yang diinokulasi dengan bakteri, darah yang mengalami defibrinasi dan plasma darah mempunyai respon yang cukup tinggi terhadap lalat *C. hominivorax*. GRABBE dan TURNER (1973) berhasil mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa fenol, p-cresol dan indol sebagai komponen utama yang terdapat dalam sediaan darah tersebut. Hasil ini didukung oleh JONES *et al.* (1976) yang mendapatkan respon lalat yang cukup tinggi ketika ketiga senyawa tersebut dicampurkan, tetapi menjadi sangat rendah apabila diuji dalam bentuk tunggal.

Berdasarkan hasil isolasi GRABBE dan TURNER (1973) maka JONES *et al.* (1976) mengembangkan suatu pemikat sintetik untuk lalat *C. hominivorax* yang diberi nama *swormlure*. COPPEDGE *et al.* (1977) meningkatkan daya pikat *swormlure* dengan cara mengurangi proporsi komponen-komponennya dan menambahkan dimetil disulfida (DMDS). Formula baru ini diberi nama *swormlure 2* (SL-2) dan dilaporkan mampu menekan populasi *C. hominivorax* di lapang dengan metode *Screwworm Adult Suppression System* (SWASS)

(COPPEDGE *et al.*, 1980). Metode ini hanya efektif untuk daerah kering dan kurang efektif untuk daerah yang lembab (SNOW *et al.*, 1982). Pemikat SL-2 juga pernah diuji oleh SPRABERY (1979) untuk memonitor lalat *C. bezziana* di Papua New Guinea tetapi lalat yang tertangkap dilaporkan kurang dari 1%. Formula terbaru dikembangkan oleh MACKLEY dan BROWN (1984) sehingga diperoleh *swormlure 4* (SL-4) dan cukup selektif dalam menangkap lalat *C. hominivorax* (WARNES dan GREEN, 1992).

Idealnya, pemikat sintetik yang dikembangkan harus mempunyai daya pikat yang tinggi, spesifik terhadap spesies target dan bersifat ramah lingkungan sehingga mampu menekan populasi lalat di lapang. Oleh karena itu, penelitian pengembangan formula pemikat lalat difokuskan pada respon alamiah lalat jantan dan betina di lapang seperti penggunaan cairan luka akibat aktifitas larva dalam jaringan (HAMMACK *et al.*, 1987; HAMMACK, 1990).

CORK (1994) berhasil mengidentifikasi fraksi *acidic* dan *non-acidic* dari cairan luka domba yang diinfestasi dengan larva *C. hominivorax*. Senyawa-senyawa ini dilaporkan cukup potensial untuk dijadikan bahan formula pemikat. RUMBO dan EISEMANN (1998) juga mengidentifikasi cairan luka segar pada hewan dan mempunyai respon yang positif terhadap lalat *Chrysomya megacephala*.

Sejauh ini, masih belum ada laporan tentang identifikasi senyawa-senyawa kimia yang terkandung dalam luka myasis yang diinfestasi oleh lalat *C. bezziana*. Pengembangan formula pemikat berdasarkan cairan luka myasis diharapkan dapat memikat lalat *C. bezziana* secara lebih spesifik. Makalah ini menguraikan tentang hasil identifikasi senyawa-senyawa tersebut sekaligus responnya pada lalat *C. bezziana* pada uji sangkar di laboratorium dan uji semi lapang.

## MATERI DAN METODE

### Sampel

Larva dan lalat *C. bezziana* diperoleh dari Laboratorium Entomologi, Departemen Parasitologi, Balai Penelitian Veteriner, Bogor. Larva dipelihara berdasarkan metode SUKARSIH *et al.* (2000).

### Pembuatan luka myasis buatan

Dua ekor sapi digunakan untuk model luka myasis buatan, yaitu sapi perah Friesian Holstein (FH) betina (hewan 1) dan sapi Bali jantan berumur 1 tahun (hewan 2). Kedua sapi tersebut dipelihara di kandang percobaan Balai Penelitian Veteriner, Bogor. Luka insisi dibuat pada bagian *rump* sepanjang 8-10 cm dengan kedalaman sekitar 2 cm (WARDHANA *et al.*, 2003).

Sebanyak  $\pm$  200 buah telur *C. bezziana* diinfestasikan ke dalam luka tersebut. Telur akan menetas menjadi larva dan dibiarkan berkembang di dalam jaringan tubuh sampai hari ke-5. Bau yang ditimbulkan dari luka myasis dikoleksi pada hari yang berbeda, yaitu hewan 1 pada hari ke-1 dan ke-3 sedangkan hewan 2 pada hari ke-3 dan ke-5 pasca infestasi.

### Koleksi senyawa volatil

Koleksi senyawa volatil dilakukan dengan dua cara, yaitu:

#### Koleksi dengan aliran udara

Sebuah mangkok *stainless steel* yang dilengkapi dengan 2 buah pipa pendek berlubang digunakan untuk membendung bau yang ditimbulkan dari luka myasis. Letak pipa saling berlawanan dan berfungsi sebagai saluran udara masuk dan keluar. Pipa-pipa tersebut melekat pada dinding bagian luar mangkok dan disambungkan dengan tabung penampung yang mengandung bahan absorben yang *inert*. Mangkok dilekatkan ke tubuh hewan menggunakan perekat (selotip Kenko dan Leukoplast). Mangkok tersebut ditengkurapkan di atas luka sehingga baunya tidak terpapar keluar. Sebuah pompa udara dengan aliran udara yang konstan (60 ml/menit) dihubungkan dengan saluran luar tabung penampung. Udara yang mengalir dari bau tersebut dikoleksi setiap 30 menit. Dua bahan absorben digunakan untuk mengoleksi bau ini, yaitu *Tenax GR* dan *TA*. *Tenax GR* mempunyai daya afinitas yang lebih tinggi terhadap molekul kecil dan polar dibandingkan *Tenax TA* (RUMBO dan EISEMANN, 1998).

#### Koleksi tanpa aliran udara

Koleksi bau luka myasis tanpa aliran udara menggunakan alat *Solid Phase Micro Extraction* (SPME). Alat ini menyerupai *syringe* yang mempunyai serat dan dilapisi silika dalam bentuk polimer untuk mengadsorpsi senyawa organik. Alat SPME disisipkan pada salah satu pipa pendek yang terdapat pada mangkok, sedangkan pipa lainnya ditutup (tidak ada aliran udara). Waktu koleksi bau dengan alat ini adalah 20 menit (RUMBO dan EISEMANN, 1998).

Tabung penampung dan SPME disimpan pada suhu 4°C sampai proses analisis yang dilakukan di *Queensland Department of Primary Industries, Animal Research Institute* Australia, yaitu menggunakan gas kromatografi/mass spektrometri. Seri standar digunakan untuk membantu identifikasi beberapa komponen asam dan komponen-komponen lainnya secara individual yang dideteksi dari bau luka myasis.

### Pembuatan pemikat sintetik

Berdasarkan hasil analisis komponen volatil dari luka myasis maka dipilih beberapa komponen utama untuk membuat formula pemikat. Bahan-bahan kimia pembuat formula ini diperoleh dari Sigma-Aldrich Pty Ltd, Castle Hill NSW 1765. Campuran bahan-bahan tersebut dimasukkan ke dalam botol plastik *polyethylene* 60 ml. Penutup ujung botol diberi lubang untuk menyisipkan sumbu katun agar cairan pemikat dapat terserap dan menyebar keluar. Panjang ujung sumbu yang dipaparkan keluar adalah 25 mm. Botol ditutup dengan penutup yang sudah diberi lubang berdiameter 7 mm. Pemikat yang sudah dikemas dalam botol disimpan pada 4°C sebelum digunakan untuk uji selanjutnya (WARDHANA dan SUKARSIH, 2004). Pemikat standar yang digunakan sebagai pembanding adalah *swormlure* (SL-2) dengan komposisi bahan kimia seperti pada Tabel 1 (SPRADBERY, 1991).

**Tabel 1.** Komposisi bahan kimia *swormlure* (SL-2)

Komponen	(%)
Aseton	8,0
Sek-butyl alkohol	12,5
Iso-butyl alkohol	9,0
Dimetil disulfida	14,3
Asam asetat	12,5
n-asam butirik	17,0
n-asam valerik	12,5
Fenol	3,6
p-kresol	3,6
Asam bensoik	3,5
Indol	3,5

### Uji sangkar

Uji sangkar dilakukan di laboratorium dengan teknik dan kondisi standar yang dikembangkan oleh WARDHANA dan SUKARSIH (2004). Sebelum pengamatan dimulai, pemikat dimasukkan ke dalam perangkap botol selama 10 menit kemudian dimasukkan ke dalam sangkar dan diletakkan 3 cm dari sisi kiri dan kanan sangkar. Uji ini terdiri dari 6 ulangan dan setiap ulangan menggunakan 200 ekor lalat jantan dan betina per sangkar. Setelah 30 menit, perangkap diambil dan lalat yang terjebak dikoleksi, dihitung serta diidentifikasi jenis kelaminnya. Perangkap diletakkan kembali dengan cara dilakukan penukaran tempat secara menyilang untuk ulangan berikutnya.

## Uji semi lapang

Perangkap yang digunakan untuk uji semi lapang adalah perangkap perekat (*sticky trap*) (Starkey Products, Wangara WA 6065), berwarna kuning, bergaris-garis hitam memanjang dan berukuran 21,25 x 24,5 cm. Uji ini terdiri dari 8 ulangan dan memerlukan waktu 30 menit per ulangan. Pelepasan lalat dilakukan 2 kali, yaitu 1400 ekor untuk kebutuhan ulangan ke-1 hingga ke-3 sedangkan untuk meneruskan ke ulangan empat sampai ke-8 ditambahkan 700 ekor lalat baru. Sebelum digunakan, lalat dipingsankan dengan cara dimasukkan ke dalam pendingin  $-20^{\circ}\text{C}$  selama 1 menit kemudian dimasukkan ke dalam botol bervolume 3 liter dan lalat dibiarkan aktif kembali selama 10 menit. Sementara itu, pemikat dipasang di papan dan dibiarkan selama 15 menit sehingga bau menyebar ke ruangan sebelum lalat dimasukkan. Setelah 30 menit, lalat yang terjebak dalam perangkap perekat diambil, dihitung dan diidentifikasi jenis kelaminnya. Perangkap diletakkan kembali dengan cara dilakukan penukaran tempat secara menyilang untuk ulangan berikutnya (WARDHANA dan SUKARSIH, 2004).

## Analisis data

Jumlah lalat yang masuk ke dalam perangkap merupakan respon lalat terhadap pemikat yang diuji. Analisis data pada penelitian ini menggunakan program *Genstat 5*. Data respon lalat ditransformasi ke dalam akar kwadrat selanjutnya dianalisis dengan *one-way ANOVA* untuk uji sangkar sedangkan data uji semi lapang dianalisis dengan uji T 5% (*paired samples*).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Identifikasi komponen volatil dari luka

Koleksi senyawa volatil dari bau yang ditimbulkan oleh luka myasis dilakukan pada hari yang berbeda, yaitu hari ke-1, ke-3 dan ke-5 pasca infestasi. Perlakuan ini didasarkan pada perkembangan masing-masing stadium larva dengan selang dua hari, yaitu dari L1 menjadi L2 hingga L3. Menurut SPRADBERY (1991), pertumbuhan larva *C. bezziana* berkorelasi dengan derajat keparahan atau progresifitas nekrosis jaringan otot dan kulit pada ternak. Semakin tua stadium larva menyebabkan kerusakan jaringan semakin hebat sehingga bau yang ditimbulkan luka semakin menyengat. Hasil identifikasi komponen volatil dari luka myasis pada hari yang berbeda dapat dilihat pada Tabel 2.

Umumnya senyawa volatil yang terdeteksi pada bau luka myasis di hari pertama banyak mengandung

senyawa aldehida, yaitu nonanal, dekanal, heksanal dan heptanal. Hasil analisis ini sama dengan hasil RUMBO dan EISEMANN (1998) yang mengidentifikasi senyawa kimia dari luka segar pada ternak. Kondisi ini membuktikan bahwa pada hari pertama, larva instar I (L1) belum menimbulkan kerusakan jaringan yang nyata. Larva yang baru menetas dari telur akan bergerak menuju ke daerah luka dan mendapatkan sumber energi dari cairan serum. Senyawa yang terdeteksi dari saluran bagian dalam (RU106) mirip dengan saluran bagian luar (RU107) sehingga mengindikasikan bahwa senyawa-senyawa yang terkandung di dalam luka masih sama dengan lingkungan sekitarnya (kondisi di luar luka).

Hasil analisis senyawa volatil terhadap bau luka myasis di hari ke-3 menunjukkan adanya variasi senyawa sulfida, yaitu dimetil sulfida (DMS), dimetildisulfida (DMDS), dimetiltrisulfida (DMTS) dan dimetiltetrasulfida (DMS4). Hasil ini mengindikasikan bahwa senyawa-senyawa tersebut berasal dari luka myasis dan bukan dari lingkungan sekitar karena terdeteksi dari RU110, RU111, RU114 (saluran bagian luar) kecuali RU112 (saluran bagian dalam). Bahan adsorben yang digunakan pada RU112 adalah *Tenax GR* yang mempunyai afinitas lebih tinggi daripada *Tenax TA* (RU110, RU111, RU114).

Senyawa DMDS merupakan salah satu senyawa penyusun formula SL-2. Aktifitas L2 menyebabkan kerusakan jaringan otot menjadi parah karena larva ini membuat terowongan di dalam jaringan dengan cara merobeknya sehingga luka menjadi lebar dan lebih dalam. Sumber energi yang diperoleh digunakan untuk perkembangan dan pematangan organ-organ fisiologis larva. Variasi senyawa sulfida yang terdeteksi diduga berasal dari bau jaringan yang telah rusak akibat aktifitas larva.

Berbeda dengan L2, L3 membutuhkan sumber energi yang lebih banyak untuk disimpan dalam tubuhnya sebagai persiapan menuju stadium pupa. Stadium larva ini mempunyai aktifitas makan dalam jaringan inang yang lebih kuat sehingga semakin memperparah kondisi luka myasis. Akibatnya, cairan luka semakin melimpah dan bau yang ditimbulkan semakin menyengat dibandingkan luka myasis hari pertama dan ke-3. Pendapat ini dibuktikan dengan hasil analisis volatil pada luka myasis hari ke-5, yaitu selain variasi senyawa sulfida, dideteksi juga senyawa indol dan fenol (RU102, RU115 dan RU116). Senyawa-senyawa tersebut diduga akibat aktifitas larva yang semakin aktif atau aktifitas organisme lain yang menyertai infestasi larva, misalnya bakteri. DE VANEY *et al.* (1973) dan BROMEL *et al.* (1983) melaporkan bahwa bakteri *Proteus* dan *Providenci* sering ditemukan di dalam cairan luka yang diinfestasi larva.

**Tabel 2.** Hasil identifikasi komponen volatil yang dikoleksi dari luka myasis buatan pada dua hewan dan komponen media OPM yang diidentifikasi dengan gas kromatografi

Kode	Sampel	Komponen yang teridentifikasi
Hewan 1:		
RU106	Hari ke-1, Tenax TA, saluran bagian dalam	Nonanal, dekanal
RU107	Hari ke-1, Tenax TA, saluran bagian luar	Nonanal, aseton, heksanal, heptanal, dekanal, 3-metilbutanal, komponen berasal dari selotip
RU108	Hari ke-1, Tenax GR, saluran bagian luar	Nonanal, aseton, heksanal, heptanal, dekanal, 3-metilbutanal, komponen berasal dari selotip
RU100	Hari ke-1, SPME	Hanya komponen dari selotip
RU109	Hari ke-3, Tenax TA, saluran bagian dalam	Dekanal, nonanal, 6-metilbutanal (*), hidrokarbon dari udara
RU110	Hari ke-3, Tenax TA, saluran bagian luar	Nonanal, dekanal, 3-metilbutanal (*), aseton, DMDS, heksanal, heptanal, DMTS ( <i>trace</i> ), komponen dari selotip dan banyak hidrokarbon dari udara (*)
RU111	Hari ke-3, Tenax GR, saluran bagian luar	Nonanal, dekanal, 3-metilbutanal (*), aseton, DMDS, 2-metilbutanal (*), heksanal, heptanal, DMTS ( <i>trace</i> ), komponen dari selotip dan banyak hidrokarbon dari udara (*)
Hewan 2:		
RU112	Hari ke-3 dan 5, Tenax GR, saluran bagian dalam	Dekanal, nonanal, DMDS, oktanal, DMTS ( <i>trace</i> ); hidrokarbon dari udara (*)
RU114	Hari ke-3, Tenax TA, saluran bagian luar	DMDS, DMTS, indol, DMS4, DMS, aseton, metiltiolasetat (*), nonanal, dekanal, oktanal
RU115	Hari ke-5, Tenax GR, saluran bagian luar	Indol, DMTS, DMDS, metiltiolasetat (*), aseton, DMS4, butanol, di(metil)metana, 3-metilbutanol, fenol, nonanal, dekanal, oktanal
RU116	Hari ke-5, Tenax TA, saluran bagian luar	Indol, DMTS, DMDS, metiltiolasetat (*), DMS4, aseton, fenol, di(metil)metana, butanol, 3-metilbutanol, DMS, nonanal, dekanal, oktanal
RU102	Hari ke-5, SPME	Fenol, indol, DMTS, DMDS, asam butanoik (*), metiltiolasetat (*), asam 3-metilbutanoik (*), asam 2-metilbutanoik (*)
Media OPM RU117	Media OPM, Tenax TA, 30 menit	DMDS, DMTS, indol, aseton, DMS4, nonanon, metiltiolasetat (*), butanol (*), heksanol atau 3-metilpentanol (*), metil(tiometil) metil disulfida (*), di(metil)metana, metil propil disulfida, 2-pentanon (*), 2-heksanon, benzopenon, 2-nonanon (*)

DMS : Dimetil sulfida;  
OPM : *Oviposition media* (media perangsang bertelur);

DMDS : Dimetil disulfida;

DMTS : Dimetil trisulfida;  
\* Teridentifikasi secara tentatif;

DMS4 : Dimetil tetrasulfida;  
RU : Kode

Disamping menganalisis bau yang ditimbulkan dari luka myasis, analisis juga dilakukan pada media perangsang bertelur (*oviposition media*/OPM). Media ini merupakan hasil fermentasi dari bekas media pertumbuhan larva di laboratorium yang terdiri dari tepung darah, tepung telur, susu skim, *water lock gel*, formalin dan akuades (SUKARSIH *et al.*, 2000). Hasil kromatogram media OPM menunjukkan kandungan yang sama dengan senyawa volatil yang terdapat pada luka myasis (hari kelima) (Tabel 2). Hasil ini membuktikan bahwa sebagian besar komponen kimia

tersebut diproduksi dari aktifitas larva dan atau bakteri selama berkembang di dalam media tersebut.

Senyawa volatil yang terdapat pada selotip kenko dan leukoplast juga terdeteksi dengan analisis gas kromatografi. Umumnya senyawa volatil yang dikeluarkan selotip adalah hidrokarbon. Senyawa ini sangat jelas terdeteksi terutama pada bau luka myasis masih belum menyengat, yaitu pada hari pertama (RU107, RU108 dan RU100).

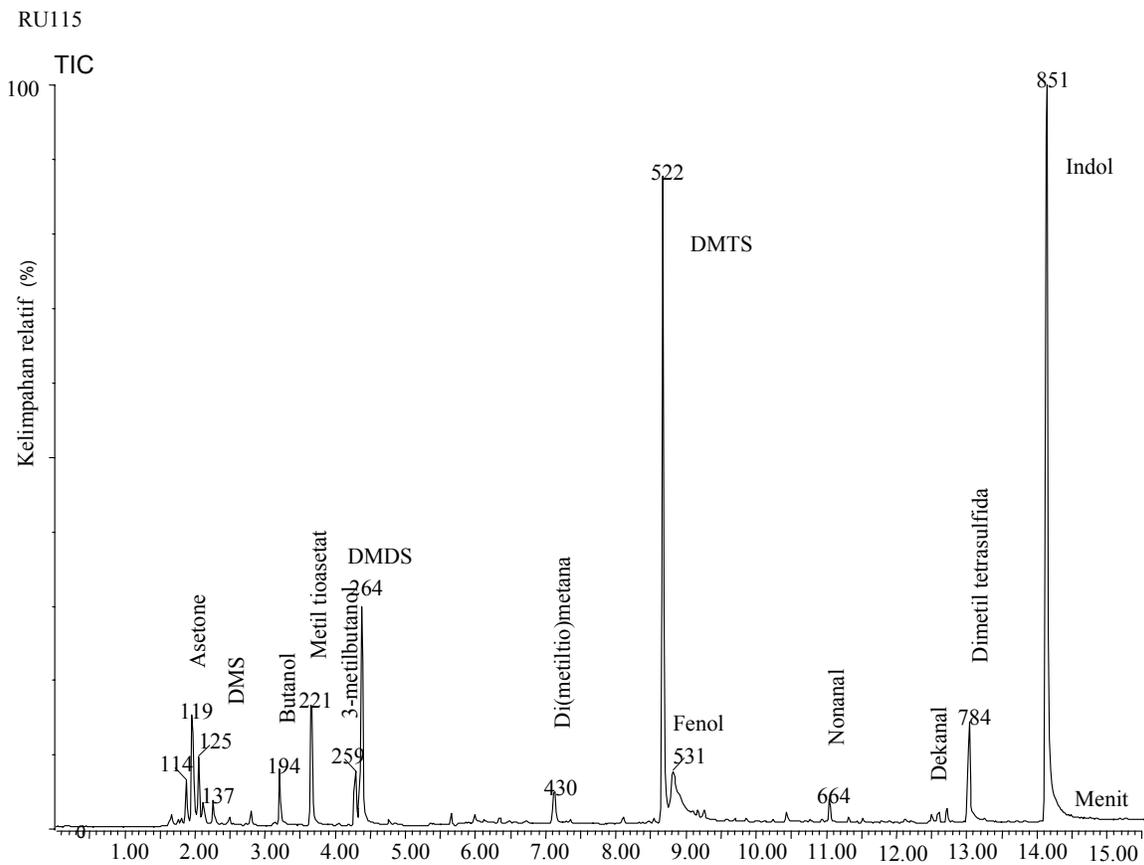
Luka myasis pada hewan 1 menunjukkan jumlah senyawa volatil yang masih sedikit (RU106 dan

RU109) (Tabel 2). Hasil analisis pada hewan ini masih banyak didominasi oleh senyawa-senyawa volatil yang berasal dari selotip dan lingkungan (RU107 sampai RU111). Senyawa DMDS dan DMTS mampu terdeteksi pada hari ke-3 (RU110 dan RU111). Hasil ini membuktikan bahwa senyawa-senyawa tersebut berasal dari luka myasis dan bukan berasal dari selotip atau lingkungan sekitarnya karena hanya terdeteksi dari saluran bagian luar.

Luka myasis pada hewan 2 menunjukkan jumlah senyawa volatil yang lebih banyak dan mempunyai kemiripan bau seperti bau luka myasis alami (Tabel 2). Profil kromatogram *Total Ion Current* (TIC) dari luka myasis hari ke-5 dapat dilihat pada Gambar 1. Hasil ini berbeda dengan analisis CORK (1994) yang banyak mendeteksi senyawa asam pada cairan luka myasis yang disebabkan oleh lalat *C. hominivorax* dengan *Gas*

*Chromatography Linked to an Electroantennograph* (GC-EAG). Perbedaan tersebut disebabkan karena teknik eksperimen yang digunakan juga berbeda. CORK (1994) mengekstrak cairan luka dengan pelarut organik yang selanjutnya diuapkan dengan cara distilasi. Sebanyak 13 senyawa mampu dideteksi dari luka myasis hari ke-5 pasca infestasi larva *C. bezziana*. Sebagian besar kandungan senyawa volatil dalam luka myasis sama dengan formula pemikat SL-2.

Respon TIC terhadap sampel yang diuji tergantung dari komponen-komponen kimia yang mudah diionisasi dan kestabilan ion-ion yang terkandung pada suatu sampel. Respon senyawa sulfida pada analisis ini cenderung lebih tinggi karena senyawa ini mudah diionisasi sehingga menghasilkan ion yang stabil dengan adanya sulfur.



**Gambar 1.** Profil kromatogram TIC dari senyawa volatil yang terdapat pada luka myasis hari ke-5 pasca infestasi larva *C. bezziana* berdasarkan analisis gas kromatografi

Berdasarkan analisis di atas dibuat sebuah formula yang terdiri dari senyawa-senyawa volatil yang telah dideteksi. Campuran dari indol, fenol, DMS, DMDS dan DMTS digunakan untuk menguji respon lalat *C. bezziana* terhadap formula ini (Tabel 3). Penambahan minyak zaitun pada formula B91 dimaksudkan untuk memperoleh profil senyawa volatil yang sama dengan luka myasis pada hewan 2. Disamping itu, respon lalat *C. bezziana* diuji terhadap formula yang dibuat oleh RUMBO dan EISEMANN (1998).

**Tabel 3.** Komposisi bahan kimia berdasarkan analisis volatil dari luka myasis yang diinfestasi larva *C. bezziana* dan digunakan untuk uji sangkar serta semi lapang

Komponen	B89 (%)	B91 (%)	B92 (%)
Indol	-	19,65	18,52
Fenol	-	0,24	11,11
Benzil alkohol	0,2	-	-
Fenetil alkohol	1,07	-	-
Heksanal	1,07	-	-
Heptanal (heptaldehida)	3,21	-	-
Oktanal (oktil aldehida)	8,57	-	-
Nonanal (nonil aldehida)	42,83	-	-
Dekanal (dekil aldehida)	51,39	-	-
6-metil-5-hepten-2-one	0,2	-	-
Dimetil sulfida (DMS)	-	0,08	3,70
Dimetildisulfida (DMDS)	-	0,24	11,11
Dimetiltrisulfida (DMTS)	-	1,18	55,55
Minyak zaitun	-	78,62	-

B 89 : Formula yang identik dengan formula RUMBO dan EISEMANN (1998)

B 91 : Formula berdasarkan analisis dari luka myasis dan dilarutkan dalam minyak zaitun

B 92 : Formula berdasarkan analisis dari luka myasis

### Uji sangkar dan semi lapang

Hasil uji sangkar dan semi lapang pada respon lalat *C. bezziana* terhadap formula pemikat dapat dilihat pada Tabel 4. Pengujian kondisi standar dilakukan pada awal uji sangkar untuk mengevaluasi respon lalat *C. bezziana* terhadap SL-2 di antara kedua sangkar. Hasil evaluasi menunjukkan bahwa lalat mempunyai respon yang sama di antara kedua sangkar pada kondisi laboratorium (CA191199 dan CA131299). Jumlah lalat jantan dan betina yang masuk dalam perangkap tidak berbeda nyata diantara kedua sangkar ( $P > 0,05$ ) sehingga mengindikasikan bahwa kondisi laboratorium dalam keadaan optimal.

Respon lalat *C. bezziana* terhadap formula RUMBO dan EISEMANN (1998) sangat rendah (Tabel 4). Respon lalat jantan turun hingga 99,6% dan untuk lalat betina turun hingga 98,2% dibandingkan responnya terhadap SL-2 (CA271199). Uji dilanjutkan dengan mengencerkan formula tersebut ke dalam parafin dengan perbandingan 1:10. Jumlah lalat yang masuk perangkap tidak berbeda nyata antara formula asli (B89) dengan formula yang diencerkan ( $B89^{-1}$ ) ( $P > 0,05$ ). Kendati demikian, respon lalat terhadap formula ini tetap rendah (CA261199).

Langkah selanjutnya adalah mencampur formula SL-2 dan B89 dengan perbandingan 1:1 dan 10:1. Campuran ini menggambarkan kombinasi antara luka segar dengan pemikat standar. Hasil uji sangkar menunjukkan bahwa formula campuran SL-2 dan B89 menurunkan respon lalat hingga 57,5% (perbandingan 1:1, CA150300) dan 67,9% (perbandingan 10:1, CA290300) ( $P < 0,05$ ). Hasil-hasil di atas mengindikasikan bahwa formula yang dideteksi oleh RUMBO dan EISEMANN (1998) tidak mampu meningkatkan respon lalat *C. bezziana* baik sendiri maupun dikombinasi dengan SL-2. Kondisi ini sesuai dengan pendapat SPRADBERRY (1994) yang menyatakan bahwa bau luka yang diinfestasi oleh larva *screwworm* lebih atraktif untuk lalat dewasa daripada bau luka segar.

Formula yang dibuat berdasarkan analisis senyawa volatil luka myasis diformulasi menjadi 2 jenis, yaitu dicampur dengan minyak zaitun (B91) dan tanpa campuran (B92). Kedua formula ini menghasilkan bau yang sangat menyengat. Uji sangkar pada SL-2 dan  $B91^{-1}$  ( $B91$  dalam parafin 1:10) menunjukkan respon yang berbeda nyata ( $P < 0,05$ ). Total respon lalat pada perangkap dengan formula  $B91^{-1}$  hanya mampu menangkap lalat 1,8% dibandingkan dengan SL-2 (CA140300). Perbandingan respon lalat antara  $B91^{-1}$  dan B91 tidak menunjukkan perbedaan yang nyata (CA150300) ( $P > 0,05$ ). Hasil yang sama juga diperoleh ketika B91 diencerkan hingga 100 kali ( $B91^{-2}$ ) (CA080300). Rendahnya respon lalat terhadap formula B91,  $B91^{-1}$  dan  $B91^{-2}$  membuktikan bahwa gabungan senyawa-senyawa volatil yang berasal dari luka myasis yang dilarutkan dalam minyak zaitun tidak mampu memikat lalat *C. bezziana* untuk masuk ke dalam perangkap.

Lalat yang masuk perangkap turun hingga 98,8% ketika formula B92 (formula senyawa volatil luka tanpa campuran) dimasukkan ke dalam sangkar dibandingkan dengan SL-2 (CA270300). Untuk mengurangi bau yang terevaporasi maka formula B92 dituang ke dalam botol kaca dan memperkecil lubang botol menjadi 2 mm. Hasil yang diperoleh masih menunjukkan respon yang rendah dibandingkan dengan SL-2, yaitu turun hingga 94,5% (CA180400).

**Tabel 4.** Rataan jumlah lalat yang masuk ke dalam perangkap pada uji sangkar dan uji semi lapang

Kode	T1	T2	Jenis kelamin lalat						Total			Keterangan
			Betina			Jantan			T1	T2	p	
			T1	T2	p	T1	T2	p				
<b>Uji sangkar</b>												
CA191199	SL-2	SL-2	14,2	13,0	0,61	8,56	6,05	0,25	23,5	19,5	0,30	Pengujian kondisi standar
CA271199	SL-2	B89	14,8	0,06	<0,001	9,83	0,18	<0,001	25,1	0,23	<0,001	B89 = formula RUMBO dan EISEMANN (1998)
CA261199	B89	B89 <sup>-1</sup>	0,53	0,06	0,17	0,15	0,06	0,63	0,62	0,11	0,24	B89 <sup>-1</sup> = B89 dalam cairan parafin (1:10)
CA150300	SL-2	SL-2+B89	4,66	1,96	0,008	2,73	1,06	0,002	7,46	3,17	<0,001	SL-2 + B89 (1:1)
CA290300	SL-2	SL-2+B89	2,47	0,50	0,004	1,21	0,71	0,21	3,74	1,20	0,008	SL-2 + B89 (10:1)
CA131299	SL-2	SL-2	8,86	8,03	0,73	3,99	2,96	0,28	13,3	11,3	0,53	Pengujian kondisi standar
CA140300	B-91 <sup>-1</sup>	SL-2	0,30	33,0	<0,001	0,46	7,50	<0,001	0,78	41,2	<0,001	B91 <sup>-1</sup> = B91 dalam parafin (1:10)
CA080300	B91 <sup>-1</sup>	B91 <sup>-2</sup>	0,47	0,27	0,42	1,31	0,99	0,33	1,92	1,21	0,06	B91 <sup>-1</sup> = (1:10)    B91 <sup>-2</sup> = (1:100)
CA150300	B91 <sup>-1</sup>	B91	0,52	0,50	0,947	0,58	1,38	0,07	1,11	1,90	0,24	
CA270300	SL-2	B92	13,3	0,13	<0,001	7,22	0,11	<0,001	20,8	0,25	<0,001	B92 = formula volatil dari luka myasis (7 mm)
CA180400	SL-2	B92*	16,6	0,60	<0,001	9,08	0,78	<0,001	25,8	1,43	<0,001	B92* = B92 dalam botol dengan diameter lubang 2 mm
CA020500	SL-2/B92*	SL-2	7,17	2,56	0,002	2,81	1,93	0,28	10,3	4,69	0,002	B92*
CA080500	SL-2	SL-2+B92	17,1	13,5	0,07	6,52	6,00	0,75	24,0	19,1	0,16	SL-2+B92 (10:1)
CA150500	SL-2+B92	SL-2	5,70	10,3	0,005	2,13	6,70	0,002	8,33	17,5	<0,001	SL-2+B92 (10:3)
CA230500	SL-2+B92	SL-2+B92	5,55	5,07	0,73	3,70	3,26	0,73	9,54	8,50	0,64	T1 = (10:1) ; T2 = (10:3)
<b>Uji semi lapang</b>												
RA220500	SL-2/B92*	SL-2	5,31	3,99	0,18	5,60	6,58	0,52	11,1	10,7	0,88	Respon lalat tidak berbeda nyata

Uji sangkar juga dilakukan dengan cara meletakkan dua pemikat dalam satu perangkap, yaitu SL-2 dan B92 (diameter 2 mm) dibandingkan dengan SL-2 yang diletakkan secara sendiri (CA020500). Respon lalat betina menunjukkan hasil yang sama ( $P>0,05$ ) tetapi terdapat perbedaan respon yang nyata pada lalat jantan ( $P<0,05$ ). Metode ini mampu meningkatkan respon lalat total (jantan dan betina) hingga 54,5% dibandingkan dengan perangkap yang hanya berisi SL-2.

Campuran formula SL-2 dan B92 dengan perbandingan 10:1 tidak mampu meningkatkan respon lalat untuk masuk ke dalam perangkap ( $P>0,05$ ) (CA080500). Sebaliknya, campuran dengan perbandingan 10:3 justru menurunkan respon lalat hingga 52,4% (CA150500). Rendahnya respon lalat pada campuran ini diduga karena bau formula yang semakin menyengat dibandingkan dengan SL-2. Namun demikian, hasil perbandingan antara campuran 10:1 (T1) dan 10:3 (T2) tidak menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P>0,05$ ) (CA230500).

Uji semi lapang dimaksudkan sebagai perantara antara kondisi laboratorium dengan lapang (WARDHANA dan SUKARSIH, 2004). Berdasarkan uji sangkar maka uji semi lapang dilakukan dengan cara membandingkan perangkap yang berisi 2 formula yaitu, SL-2 dan B92 dengan perangkap yang hanya berisi SL-2. Respon lalat tidak menunjukkan perbedaan yang nyata antara SL-2/B92 dengan SL-2 ( $P>0,05$ ). Hasil ini mengindikasikan bahwa formula yang diformulasi berdasarkan analisis senyawa volatil luka myasis mempunyai respon yang sama dengan pemikat standar (SL-2).

## KESIMPULAN

Senyawa indol, fenol, DMS, DMDS dan DMTS adalah komponen-komponen utama yang berhasil diisolasi dari luka myasis yang diinfeksi larva *C. bezziana* selama 3-5 hari. Formula pemikat yang disusun berdasarkan senyawa-senyawa tersebut mempunyai respon lalat yang rendah pada uji sangkar baik secara tunggal atau dikombinasi dengan SL-2. Pada uji semi lapang menunjukkan respon yang sama. Uji-uji lanjutan perlu dilakukan dengan mengkombinasi konsentrasi tiap-tiap komponen dan penambahan beberapa komponen volatil lainnya.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada *Australian Quarantine and Inspection Service* (AQIS) yang telah memberikan dukungan dana untuk penelitian ini. Ucapan terima kasih juga ditujukan kepada Bapak Ishak, Eko dan Ukat yang telah memberikan bantuan teknis selama penelitian.

## DAFTAR PUSTAKA

- BROMEL, M., F. M. DUH, G. R. ERDMANN, L. HAMMACK and G. GASSNER. 1983. Bacteria associated with the screwworm fly *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel) and their metabolites. *Endocytobiology* 2: 791-800.
- COPPEDGE, J. R., E. AHRENS, J. L. GOODENOUGH, F. S. GUILLOT and J. W. SNOW. 1977. Field comparisons of liver and a new chemical mixture as attractants for screwworm fly. *Environ. Entomol.* 6: 66-68.
- COPPEDGE, J. R., H. E. BROWN, J. L. GOODENOUGH, F. H. TANNAHILL, J. W. SNOW, H. D. PETERSEN and H. D. HOFMAN. 1980. Field performance of a new formulation of the screwworm adult suppression system. *J. Econom. Entomol.* 73: 411-414.
- CORK, A., P. S. BEEVOR, A.J.E. GOUGH and D. R. HALL. 1990. Gas chromatography linked to electroantennography: a versatile technique for identifying insect semiochemicals. *Chromatography and Isolation of Insect and Pheromones*. Plenum Press. London. pp. 271-279.
- CORK, A. 1994. Identification of electrophysiologically-active compounds for New World Screwworm, *Cochliomyia hominivorax*, in larval wound fluid. *Med. Vet. Entomol.* 8: 151-159.
- DE VANEY, J. A., G. W. EDDY, B. D. HANDKE and E. LOPEZ. 1970. Olfactory responses of the adult screwworm after removal of the antennae, mouthparts, tarsi, and legs. *J. Econom. Entomol.* 63: 1816-1819.
- DE VANEY, J. A. G. W. EDDY, E. M. ELLIS and R. JR. HARRINGTON. 1973. Attractancy of inoculated and incubated bovine blood fractions to screwworm flies (Diptera: Calliphoridae): role of bacteria. *J. Med. Entomol.* 10: 591-595.
- GRABBE, R. R. and J. P. TURNER. 1973. Screwworm attractants: isolation and identification of organic compounds from bacterially inoculated and incubated blood. *Fol. Entomol. Mexican.* 25-26: 120-121.
- GREEN, C. H. and M. L. WARNERS. 1992. Responses of female New World screwworm flies, *Cochliomyia hominivorax*, to coloured targets in the laboratory. *Med. Vet. Entomol.* 6: 103-109.
- HAMMACK, L., M. BROMEL, F. M. DUH and G. GASSNER. 1987. Reproductive factors affecting responses of the screwworm fly, *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae), to an attractant of bacterial origin. *Annals. Entomol. Soc. America.* 86: 775-780.
- HAMMACK, L. 1990. Protein feeding and oviposition effects on attraction of screwworm flies (Diptera: Calliphoridae) to host fluid. *Annals. Entomol. Soc. America.* 83: 97-102.
- JONES, C. M., D.D. OCHLER, J. W. SNOW and R.R. GRABBE. 1976. A chemical attractant for screwworm flies. *J. Econom. Entomol.* 69: 389-391.
- MACKLEY, J.W., and H.E. BROWN. 1984. Swormlure-4: A new formulation of the swormlure-2 mixture as an attractant

- for adult screwworms, *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae). *J. Econom. Entomol.* 77: 1264-1268.
- PARTOUTOMO, S. 2000. Epidemiologi dan pengendalian myasis di Indonesia. *Wartazoa* 10: 20–27.
- RUMBO, E. and C. H. EISEMANN. 1998. An improved synthetic bait for old world screwworm fly, *Chrysomya bezziana*. Report to Australian Quarantine and Inspection Service (AQIS). Australia.
- SNOW, J. W., J. R. COPPEDGE, A. B. BROCE, J. L. GOODENOUGH and H. E. BROWN. 1982. Swormlure: development and use in detection and suppression systems for adult screwworm (Diptera: Calliphoridae). *Bull. Entomol. Soc. America*. 28: 277-284.
- SPRADBERY, J.P. 1979. The reproductive status of *Chrysomya* species (Diptera: Calliphoridae) attracted to liver-baited blowfly traps in Papua New Guinea. *J. Aust. Entomol. Soc.* 18:57-61.
- SPRADBERY, J.P. 1991. A Manual for the Diagnosis of Screwworm Fly. CSIRO Division of Entomology. Canberra. Australia.
- SPRADBERY, J.P. 1994. Screwworm fly: a tale of two species. *Agric. Zool. Rev.* 6.
- SUNARYA, M.I.G.M. 1998. Penyakit *Myiasis* di Propinsi NTB. Sistem Informasi Kesehatan Hewan Nasional Bantuan EIVSP Pemerintah Australia. Dinas Peternakan Propinsi Daerah Tingkat I NTB. Mataram.
- SUKARSIH, R. S. TOZER and M. R. KNOX. 1989. Collection and case incidence of the old world screwworm fly, *Chrysomya bezziana*, in three localities in Indonesia. *Penyakit Hewan* 21(38): 114–117.
- SUKARSIH, S. PARTOUTOMO, R. TOZER, E. SATRIA, G. WIFFELS and G. RIDDING. 2000. Establishment and maintenance of a colony of the old world screwworm fly, *Chrysomya bezziana* at Balitvet in Bogor, West Java, Indonesia. *JITV* 5: 144-149.
- WARDHANA, A. H., S. MUHARSINI dan SUHARDONO. 2003. Metode pengawetan larva dan lalat *Chrysomya bezziana* (Diptera: Calliphoridae) untuk analisis DNA mitokondria. *JITV* 8: 264-275.
- WARDHANA, A. H. dan SUKARSIH. 2004. Pengembangan teknik uji pemikat lalat *Chrysomya bezziana* (Diptera: Calliphoridae) dalam kondisi laboratorium dan semi lapang. *JITV* 9: 37-45.
- WARNES, M. L and C. H. GREEN. 1992. Responses of female new world screwworm flies, *Cochliomyia hominivorax*, to swormlure-4 in the laboratory. *Med. Vet. Entomol.* 6: 98-102.