

**TOKSISITAS METABOLIT SEKUNDER ISOLAT *STREPTOMYCES* SP.
STRAIN AB8 DAN *SERRATIA MARCESCENS* STRAIN MBC1
TERHADAP KEMATIAN LARVA *ANOPHELES* SP.**

(Skripsi)

**Oleh
MESY MIRANDA AR
NPM 1717021002**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2021**

ABSTRAK

TOKSISITAS METABOLIT SEKUNDER ISOLAT *STREPTOMYCES* SP. STRAIN AB8 DAN *SERRATIA MARCESCENS* STRAIN MBC1 TERHADAP KEMATIAN LARVA *ANOPHELES* SP.

Oleh

Mesy Miranda AR

Malaria merupakan penyakit yang disebabkan oleh parasit *Plasmodium* melalui perantara vektor nyamuk *Anopheles* sp. betina. Upaya dalam mengurangi kasus malaria ialah dengan cara pengendalian vektor menggunakan mikroorganisme. *Streptomyces* sp. dan *Serratia marcescens* adalah kandidat mikroorganisme yang memiliki potensi dijadikan sebagai larvasida. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh ekstrak metabolit sekunder *Streptomyces* sp. strain AB8 dan *S. marcescens* strain MBC1 pada berbagai konsentrasi (125, 250, 500, 1000 ppm) dan nilai toksisitas ekstrak metabolit sekunder *Streptomyces* sp. strain AB8 dan *S. marcescens* strain MBC1 sebagai larvasida *Anopheles* sp.. Penelitian dilakukan secara eksperimental dengan rancangan penelitian Faktorial Blok (2x6) terdiri dari dua faktor yaitu 2 jenis bakteri dan 6 perlakuan. Konsentrasi yang digunakan yaitu 125, 250, 500, dan 1.000 ppm ekstrak metabolit sekunder *Streptomyces* sp. strain AB8 dan *S. marcescens* strain MBC1 dengan kontrol positif menggunakan 1 % Temefos (Abate) serta kontrol negatif menggunakan air yang diperoleh dari tempat perindukan. Setiap perlakuan diulang sebanyak 4 kali dan setiap unit percobaan membutuhkan 20 ekor larva *Anopheles* sp. instar III. Pengamatan terhadap jumlah kematian larva selama 3-72 jam. Data dikoreksi menggunakan rumus Abbot, kemudian dianalisis menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) dengan uji lanjut BNT, $\alpha = 5\%$ serta analisis probit untuk mengetahui nilai LC₅₀ dan LC₉₀. Hasil analisis ANOVA menunjukkan Ekstrak metabolit sekunder *S. marcescens* strain MBC1 pada konsentrasi 250 dan 500 ppm dan *Streptomyces* sp. strain AB8 pada konsentrasi 1.000 ppm memiliki pengaruh yang sama, sehingga lebih baik digunakan Ekstrak *S. marcescens* strain MBC1 dengan konsentrasi 250 ppm. Hasil analisis probit diketahui ekstrak *S. marcescens* strain MBC1 memiliki daya toksik yang lebih tinggi pada nilai LC₅₀ (1,304 ppm) dan LC₉₀ (138,147 ppm) dibandingkan *Streptomyces* sp. strain AB8 dengan nilai LC₅₀ (327,806 ppm) dan LC₉₀ (654,328 ppm), sehingga pada penelitian ini ekstrak *S. marcescens* strain MBC1 lebih efektif dijadikan sebagai larvasida *Anopheles* sp. instar III.

Kata Kunci: Larvasida, Larva *Anopheles* sp., Malaria, *Serratia marcescens*, *Streptomyces* sp.

ABSTRACT

TOXICITY OF SECONDARY METABOLITES OF *STREPTOMYCES* SP. STRAIN AB8 AND *SERRATIA MARCESCENS* STRAIN MBC1 AGAINST *ANOPHELES* SP.

By

Mesy Miranda AR

Malaria is a disease caused by the *Plasmodium* parasite through the *Anopheles* sp. female. Efforts to reduce malaria cases are vector control using microorganisms. *Streptomyces* sp. and *Serratia marcescens* are candidate microorganisms that have the potential to be used as larvicides. The purpose of this study was to determine the effect of the secondary metabolite extract of *Streptomyces* sp. strains AB8 and *S. marcescens* strain MBC1 at various concentrations (125, 250, 500, 1000 ppm) and the toxicity value of the secondary metabolite extract of *Streptomyces* sp. strain AB8 and *S. marcescens* strain MBC1 as larvicides of *Anopheles* sp. The concentrations used were 125, 250, 500, and 1,000 ppm secondary metabolite extract of *Streptomyces* sp. strain AB8 and *S. marcescens* strain MBC1 with positive control using 1% Temefos (Abate) and negative control using water obtained from the broodstock. Each treatment was repeated 4 times and each experimental unit required 20 larvae of *Anopheles* sp. instar III. Observation of the number of larval deaths for 3-72 hours. The data were corrected using Abbot's formula, then analyzed using Analysis of Variance (ANOVA) with further test of BNT, = 5% and probit analysis to determine the values of LC₅₀ and LC₉₀. The results of ANOVA analysis showed that the secondary metabolite extract of *S. marcescens* strain MBC1 at concentrations of 250 and 500 ppm and *Streptomyces* sp. strain AB8 at a concentration of 1,000 ppm had the same effect, so it is better to use the extract of *S. marcescens* strain MBC1 with a concentration of 250 ppm. The results of probit analysis showed that the extract of *S. marcescens* strain MBC1 had a higher toxicity at the values of LC₅₀ (1,304 ppm) and LC₉₀ (138,147 ppm) than *Streptomyces* sp. strain AB8 with values of LC₅₀ (327.806 ppm) and LC₉₀ (654.328 ppm), so that in this study the extract of *S. marcescens* strain MBC1 was more effective as a larvacide of *Anopheles* sp. instar III.

Keywords: Larvicides, *Anopheles* sp. larvae, Malaria, *Serratia marcescens*, *Streptomyces* sp.

**TOKSISITAS METABOLIT SEKUNDER ISOLAT *STREPTOMYCES* SP.
STRAIN AB8 DAN *SERRATIA MARCESCENS* STRAIN MBC1
TERHADAP KEMATIAN LARVA *ANOPHELES* SP.**

Oleh

MESY MIRANDA AR

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA SAINS**

Pada

**Jurusan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2021**

Judul Skripsi : **TOKSISITAS METABOLIT SEKUNDER
ISOLAT *STREPTOMYCES* SP. STRAIN AB8
DAN *SERRATIA MARCESCENS* STRAIN
MBC1 TERHADAP KEMATIAN LARVA
ANOPHELES SP.**

Nama Mahasiswa : **Mesy Miranda AR**

Nomor Pokok Mahasiswa : 1717021002

Jurusan/ Program Studi : Biologi/ S1 Biologi

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Pembimbing I

Dr. Endah Setyaningrum, M.Biomed.
NIP 19640517 198803 2 001

Pembimbing II

Ir. Salman Farisi, M.Si.
NIP 19610418 198703 1 001

2. Ketua Jurusan Biologi

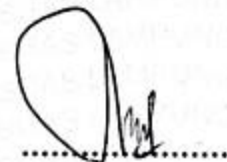
Drs. M. Kanedi, M.Si.
NIP 19610112 199103 1 002

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji


Ketua : **Dr. Endah Setyaningrum, M.Biomed.** 

Sekretaris : **Ir. Salman Farisi, M.Si.** 

Anggota : **Nismah Nukmal, Ph.D.** 

2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam




Dr. Eng. Supto Dwi Yuwono, S.Si., M.T.
NIP 19740705 200003 1 001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : **23 September 2021**

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Mesy Miranda AR
NPM : 1717021002
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Perguruan
Tinggi : Universitas Lampung

Menyatakan dengan sesungguhnya dan sejujurnya, bahwa skripsi saya yang berjudul :

**"Toksitas Metabolit Sekunder Isolat *Streptomyces* sp. Strain AB8
Dan *Serratia marcescens* Strain MBC1 Terhadap Kematian
Larva *Anopheles* sp."**

Baik gagasan, data, maupun pembahasannya adalah benar karya saya sendiri yang saya susun dengan mengikuti norma dan etika yang berlaku dan saya memastikan bahwa tingkat similaritas skripsi ini tidak lebih dari 20%.

Jika di kemudian hari terbukti pernyataan saya ini tidak benar, saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar sarjana maupun tuntutan hukum.

Bandar Lampung, 23 September 2021



(Mesy Miranda AR)

NPM. 1717021002

RIWAYAT HIDUP



Penulis lahir di Desa Gunung Batin Udik pada tanggal 26 Februari 1999, sebagai anak ketiga dari empat bersaudara dari Bapak Ahmad Razak dan Ibu Erna Wati.

Penulis mulai menempuh pendidikan di SD Negeri 01 Gunung Batin Udik pada tahun 2005. Pada tahun 2011, penulis melanjutkan pendidikan tingkat Sekolah Menengah Pertama di SMP Negeri 01 Tulang Bawang Tengah dan tingkat Sekolah Menengah Atas di SMA Negeri 1 Tumijajar, Tulang Bawang Barat kemudian lulus pada tahun 2017.

Pada tahun 2017, penulis diterima sebagai Mahasiswa Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi (SNMPTN). Selama menempuh pendidikan sarjana, penulis pernah menjadi Bendahara Bidang Kaderisasi dan Kepemimpinan Himpunan Mahasiswa Biologi (HIMBIO) FMIPA Unila. Penulis juga pernah mengikuti organisasi Badan Eksekutif Mahasiswa Unila dan Resimen Mahasiswa. Penulis juga pernah menjadi asisten pada mata kuliah Mikrobiologi Umum, Mikrobiologi Pangan dan Industri, Mikrobiologi Bahan Pangan, dan Entomologi di Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Lampung.

Pada tahun 2020, penulis melakukan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Bandar Agung, Kecamatan Terusan Nunyai, Kabupaten Lampung Tengah dan melakukan Kerja Praktik (KP) di Puslitbang Kesehatan dan Biomedis, Jakarta Pusat serta pada tahun 2021 penulis melakukan penelitian di Laboratorium Mikrobiologi dan Zoologi Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

PERSEMBAHAN

Segala puji bagi Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan karunia-Nya, sehingga skripsi ini dapat terselesaikan. Maka skripsi ini ku persembahkan kepada:

***Bapak dan Ibu** yang selalu kusayangi, yang telah memberikan kasih sayang serta doa yang tiada hentinya, memberikan dukungan moril dan materil, menjadi teladan yang baik bagi pribadi ini, serta menjadi pengajar sepanjang hayatku.*

***Kakak dan adiku** yang telah memberikan semangat, motivasi untuk berkarya dan menuntaskan studiku*

***Bapak dan ibu dosen** yang telah mendidik dan mengajariku dengan dedikasi, kesabaran, dan keikhlasannya*

***Sahabat-sahabatku, rekan-rekan seperjuanganku,** yang selalu menjadi penyemangat, memberikan begitu banyak pengalaman berharga, yang selalu menguatkan dan mengajarkan arti perjuangan serta persaudaraan.*

Almamaterku tercinta.

MOTTO

*“If Allah is making you wait,
then be prepared to receive more than what you asked for”*

*“Maka sesungguhnya bersama kesulitan itu ada kemudahan.
Sesungguhnya bersama kesulitan itu ada kemudahan”
(QS Al-Insyirah : 5-6)*

*“Jangan pergi mengikuti kemana jalan akan berujung.
Buat jalanmu sendiri dan tinggalkanlah jejak”
(Ralph Waldo Emerson)*

*“Jadilah kuat tapi tidak menyakiti.
Jadilah baik tapi tidak lemah.
Jadilah berani tapi tidak menakuti
Jadilah rendah hati tapi tidak rendah.
Jadilah bangga tapi tidak sombong.”*

SANWACANA

Assalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh,

Puji syukur penulis sampaikan atas kehadiran Allah SWT yang telah memberikan segala nikmat, rahmat, dan hidayahNya. Shalawat teriring salam tak lupa penulis haturkan kepada Baginda Muhammad SAW, beserta keluarga, sahabat dan pengikutnya hingga akhir zaman, sehingga penulis dapat menyelesaikan SKRIPSI yang berjudul “Toksistas Metabolit Sekunder Isolat *Streptomyces* sp. Strain AB8 dan *Serratia marcescens* strain MBC1 Terhadap Kematian Larva *Anopheles* sp.” adalah salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana Sains di Universitas Lampung.

Pada kesempatan ini, penulis menyampaikan penghargaan dan pengucapan terima kasih kepada:

1. Bapak Dr. Eng. Suropto Dwi Yuwono, S.Si., M.T., selaku dekan FMIPA Unila
2. Bapak Drs. M. Kanedi, M.Si., selaku Ketua Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
3. Ibu Dr. Endah Setyaningrum, M.Biomed., selaku Dosen Pembimbing I atas kesediaannya meluangkan waktu dan kesabarannya memberikan bimbingan, dukungan, serta masukan berupa kritik dan saran dalam selama proses penyelesaian skripsi ini.
4. Bapak Ir. Salman farisi, M.Si., selaku Dosen Pembimbing II yang telah banyak memberi bimbingan, arahan, masukan, dan berbagi ilmu dalam penulisan skripsi.
5. Ibu Nismah Nukmal, Ph.D., selaku Penguji Utama pada ujian skripsi ini, Terimakasih untuk masukan dan saran-saran pada setiap rangkaian seminar terdahulu

6. LPPM (Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat) Universitas Lampung yang telah mendanai penelitian yang diketuai oleh Dr. Endah Setyaningrum, M.Biomed dengan judul “Uji Fraksi Metabolit *Streptomyces* Sebagai Antimalaria Secara In-Vivo”.
7. Bapak Dr. Bambang Irawan, M. Sc., selaku dosen pembimbing akademik yang selalu memberikan bimbingan kepada Penulis selama duduk dibangku perkuliahan.
8. Bapak dan Ibu staf Jurusan Biologi.
9. Kedua orang tua tercinta Bapak Ahmad Razak dan Ibu Erna wati, Kakak tersayang Dediju Delfizar dan Tiyu Arpanji, adikku Wulan Sartika AR, teman dekatku Ivan Primadana yang tiada henti selalu mencurahkan kasih sayang, mendoakan, memberikan semangat, motivasi, yang selalu mendengarkan keluh kesah serta dukungan kepada penulis selama penyusunan skripsi.
10. Ibu Oni Mastuti selaku laboran Laboratorium Mikrobiologi, FMIPA, Universitas Lampung, atas ketersediaannya menjadi ibu bawang yang selalu mendengarkan keluh kesah selama proses penelitian berlangsung.
11. Bapak Aris selaku kader malaria di Desa lempasing, bapak Budi selaku Dinkes Provinsi Lampung, dan bapak Eri Setiawan yang telah banyak membantu sejak awal penelitian hingga terselesainya skripsi ini.
12. Teman-teman seperjuangan tim penelitian antimalaria; Mutia Dinda Lestari, Yusifa Arsy variani, Ulin N. Setiawati, Jihan Fikra Angelia.
13. Teman-teman seperjuangan Biologi angkatan 2017 terkhususnya Feni Yulinda, Vidia Royanti, Dias Anggit Pradini, dan Suciani Miftahul Jannah yang selalu mendengarkan keluh kesah, memberi kebahagiaan, dukungan, semangat, dan kasih sayang kepada Penulis untuk menyelesaikan Skripsi ini.
14. *Last but not least, i wanna thank me, for believing in me, for doing all this hard work, for having no days off, for never quitting.*

Bandar Lampung, 23 September 2021

Mesy Miranda AR

DAFTAR ISI

Halaman

DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	3
1.3 Kerangka Pemikiran	3
1.4 Hipotesis.....	5
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 <i>Streptomyces</i> sp.....	6
2.1 <i>Serratia marcescens</i>	7
2.3 Isektisida	8
2.4 Pengendalian Vektor	9
2.5 Nyamuk <i>Anopheles</i> sp.....	11
2.5.1 Klasifikasi nyamuk <i>Anopheles</i> sp.	11
2.5.2 Morfologi nyamuk <i>Anopheles</i> sp.	11
2.5.3 Siklus hidup nyamuk <i>Anopheles</i> sp.	12
2.5.4 Aktivitas menggigit nyamuk <i>Anopheles</i> sp.....	15
2.5.5 Tempat perindukan nyamuk <i>Anopheles</i> sp.....	15
III. METODE PENELITIAN	17
3.1 Waktu dan Tempat	17
3.2 Alat dan Bahan.....	17
3.2.1 Alat.....	17
3.2.2 Bahan	18
3.3 Rancangan Penelitian.....	19
3.4 Prosedur Kerja.....	20
3.4.1 Sub-kultur isolat <i>Streptomyces</i> sp. strain AB8 dan <i>Serratia</i> <i>marcescens</i> strain MBC1.....	20
3.4.2 Fermentasi isolat <i>Streptomyces</i> sp. strain AB8 dan <i>Serratia</i> <i>marcescens</i> strain MBC1.....	20
3.4.3 Produksi metabolit sekunder isolat <i>Streptomyces</i> sp. strain AB8 dan <i>Serratia marcescens</i> strain MBC1	21

3.4.4 Penyediaan larva uji	22
3.4.5 Uji larvasida <i>Anopheles</i> sp.....	22
3.5 Analisis Data	23
3.6 Diagram Alir	24
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	25
4.1 Rata-rata Kematian Larva <i>Anopheles</i> sp. Berdasarkan Waktu Pengamatan	25
4.2 Perbandingan persentase Kematian Larva <i>Anopheles</i> sp. Pada Perlakuan <i>Streptomyces</i> sp. strain AB8 dan <i>S. marcescens</i> strain MBC1 Setelah 72 Jam.....	27
4.3 Analisis Probit dan ANOVA Ekstrak <i>Streptomyces</i> sp. strain AB8 dan <i>S. marcescens</i> strain MBC1 Terhadap Kematian Larva <i>Anopheles</i> sp.	29
4.4 Pengaruh Ekstrak <i>Streptomyces</i> sp. strain AB8 dan <i>S. marcescens</i> strain MBC1 Terhadap kerusakan Morfologi Larva <i>Anopheles</i> sp.	33
V. KESIMPULAN DAN SARAN	37
5.1 Kesimpulan	37
5.2 Saran.....	37
DAFTAR PUSTAKA	38
LAMPIRAN.....	44

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Konsentrasi Ekstrak Metabolit Sekunder <i>Streptomyces</i> sp. strain AB3 dan <i>Serratia marcescens</i> strain MBC1	20
2. Rata-rata \pm SD kematian larva <i>Anopheles</i> sp. setelah pemberian Ekstrak <i>Streptomyces</i> sp. strain AB8 pada waktu yang berbeda	25
3. Rata-rata \pm SD kematian larva <i>Anopheles</i> sp. setelah pemberian ekstrak <i>S. marcescens</i> strain MBC1 pada waktu yang berbeda	26
4. Uji homogenitas pengaruh ekstrak metabolit sekunder <i>Streptomyces</i> sp. strain AB8 dan <i>S. marcescens</i> strain MBC1 terhadap kematian larva <i>Anopheles</i> sp. instar III	29
5. Hasil ANOVA pengaruh ekstrak metabolit sekunder <i>Streptomyces</i> sp. strain AB8 dan <i>S. marcescens</i> strain MBC1 terhadap kematian larva <i>Anopheles</i> sp. instar III	29
6. Hasil uji lanjut BNT pengaruh ekstrak metabolit sekunder <i>Streptomyces</i> sp. strain AB8 dan <i>S. marcescens</i> strain MBC1 terhadap kematian larva <i>Anopheles</i> sp. instar III	30
7. Hasil analisis probit pengaruh ekstrak metabolit sekunder <i>Streptomyces</i> sp. strain AB8 dan <i>S. marcescens</i> strain MBC1 pada waktu yang berbeda	31
8. Hasil pengamatan uji larvasida ekstrak metabolit sekunder <i>Streptomyces</i> sp. strain AB8 terhadap kematian larva <i>Anopheles</i> sp. instar III selama 72 jam	45
9. Hasil pengamatan uji larvasida ekstrak metabolit sekunder <i>S. marcescens</i> strain MBC1 terhadap kematian larva <i>Anopheles</i> sp. instar III selama 72 jam	46

10. Analisis ragam rata-rata kematian larva <i>Anopheles</i> sp. instar III pada perlakuan ekstrak <i>Streptomyces</i> sp. strain AB8 dan <i>S. marcescens</i> strain MBC1	47
11. Hasil ANOVA dengan uji lanjut BNT taraf 5 %	48
12. Nilai LC <i>Streptomyces</i> sp. strain AB8 setelah 3 jam pengamatan.....	49
13. Nilai LC <i>S. marcescens</i> strain MBC1 setelah 3 jam pengamatan.....	50
14. Nilai LC <i>Streptomyces</i> sp. strain AB8 setelah 6 jam pengamatan.....	51
15. Nilai LC <i>S. marcescens</i> strain MBC1 setelah 6 jam pengamatan.....	52
16. Nilai LC <i>Streptomyces</i> sp. strain AB8 setelah 12 jam pengamatan.....	53
17. Nilai LC <i>S. marcescens</i> strain MBC1 setelah 12 jam pengamatan.....	54
18. Nilai LC <i>Streptomyces</i> sp. strain AB8 setelah 24 jam pengamatan.....	55
19. Nilai LC <i>S. marcescens</i> strain MBC1 setelah 24 jam pengamatan.....	56
20. Nilai LC <i>Streptomyces</i> sp. strain AB8 setelah 48 jam pengamatan.....	57
21. Nilai LC <i>S. marcescens</i> strain MBC1 setelah 48 jam pengamatan.....	58
22. Nilai LC <i>Streptomyces</i> sp. strain AB8 setelah 72 jam pengamatan.....	59
23. Nilai LC <i>S. marcescens</i> strain MBC1 setelah 72 jam pengamatan.....	60

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Telur <i>Anopheles</i> sp.....	12
2. Larva <i>Anopheles</i> sp. instar III.	14
3. Stadium pupa <i>Anopheles</i> sp.	14
4. Nyamuk <i>Anopheles</i> sp.....	15
5. Diagram alir penelitian	24
6. Persentase kematian larva <i>Anopheles</i> sp. pada pemberian ekstrak metabolit sekunder <i>Streptomyces</i> sp. strain AB8 dan <i>S.marcescens</i> strain MBC1 setelah 72 jam.....	28
7. Morfologi larva <i>Anopheles</i> sp. instar III yang telah diberi ekstrak (a) <i>Streptomyces</i> sp. strain AB8 dan (b) <i>S. marcescens</i> strain MBC1.....	33
8. Morfologi larva <i>Anopheles</i> sp. instar III pada kontrol positif	33
9. Uji normalitas rata-rata kematian larva <i>Anopheles</i> sp. instar III	47
10. Subkultur bakteri <i>Streptomyces</i> sp. strain AB8	61
11. Subkultur bakteri <i>S.marcescens</i> strain MBC1	61
12. Morfologi mikroskopik bakteri <i>Streptomyces</i> sp. strain AB8.....	61
13. Morfologi mikroskopik bakteri <i>S.marcescens</i> strain MBC1	61
14. Fermentasi bakteri <i>Streptomyces</i> sp. strain AB8 pada tahap (a) starter dan (b) fermentasi produksi	62

15. Fermentasi bakteri <i>S.marcescens</i> strain MBC1 pada tahap (a) starter dan (b) fermentasi produksi	62
16. Proses penyaringan <i>crude extract</i>	62
17. <i>Crude extract</i> yang telah ditambahkan methanol dan etil asetat	63
18. Hasil proses evaporasi (a) <i>Streptomyces</i> sp. strain AB8 (b) <i>S. marcescens</i> strain MBC1	63
19. Proses penguapan ekstrak hingga menjadi pasta	63
20. Pasta ekstrak metabolit sekunder (a) <i>Streptomyces</i> sp. strain AB8 (b) <i>S. marcescens</i> strain MBC1	64
21. Lokasi tempat pengambilan larva	64
22. Proses pengambilan larva.....	64
23. Pengecekan kadar salinitas air	65
24. Pengecekan suhu air	65
25. Pembuatan konsentrasi ekstrak (a) <i>Streptomyces</i> sp. strain AB8 (b) <i>S. marcescens</i> strain MBC1	66
26. Proses pengelompokan larva uji	66
27. Pengujian larvasida	66

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Malaria merupakan salah satu penyakit menular yang menjadi pusat perhatian dunia karena memiliki angka mortalitas yang tinggi dengan 3,5 juta kasus malaria di tahun 2017 (WHO, 2018). Sekitar 40 % atau 2,3 miliar dari penduduk dunia rentan terkena penyakit malaria. Pada tahun 2019, diperkirakan jumlah kematian akibat penyakit malaria mencapai 409.000 jiwa (Lewinsca dan Raharjo, 2021). Indonesia merupakan negara dengan iklim tropis sehingga rentan adanya penyebaran penyakit menular, termasuk penyakit yang ditularkan melalui vektor nyamuk (Suwito *et al.*, 2015). Menurut Lenakoly *et al.* (2021), sekitar 35 % penduduk Indonesia tinggal di daerah yang beresiko tertular malaria dengan angka kasus disetiap tahunnya mencapai 15 juta kasus dan 30.000 diantaranya meninggal dunia. Tercatat terdapat 167 Kabupaten atau kota di Indonesia yang menjadi wilayah endemis malaria. Provinsi Lampung merupakan salah satu daerah endemis malaria dengan Kabupaten Pesawaran sebagai daerah dengan kasus malaria terbanyak yaitu Puskesmas Hanura 1.738 kasus, Puskesmas Padang Cermin 91 kasus, Puskesmas Pedada 82 kasus dan Puskesmas Gedong Tataan 4 kasus (Shafira dan Krisanti, 2019).

Sebagai upaya dalam memperkecil kasus malaria ialah dengan cara pengendalian vektor. Pengendalian vektor dapat dilakukan dengan 3 cara yaitu mekanik, kimiawi, dan biologis. Pengendalian vektor secara kimia menggunakan insektisida secara berkelanjutan berdampak negatif bagi kesehatan manusia dan lingkungan (Lailatul *et al.*, 2010). Perlu adanya

alternatif untuk mengendalikan populasi nyamuk *Anopheles* sp. sebagai vektor malaria. Upaya yang dapat dilakukan yaitu menggunakan pengendalian hayati dengan memanfaatkan bahan alami yang aman dan ramah lingkungan. Salah satunya yaitu dengan pemanfaatan ekstrak dari berbagai tumbuhan (Ghosh *et al.*, 2012). Menurut Muftiah *et al.* (2019), ekstrak pandan wangi (*Pandanus amaryllifollius*) dengan menggunakan pelarut aquades, mampu membunuh larva *Anopheles* sp. dan *Aedes aegypti* sebanyak 15 %. Argumentasi dari Kartini *et al.* (2020), menunjukkan hasil yang berbeda bahwa dari ekstrak etanol daun salam (*Syzygium polyanthum*) secara efektif membunuh larva *Anopheles* sp. pada konsentrasi 2 %. Namun terlepas dari kelebihan tersebut, penggunaan tanaman membutuhkan waktu yang tidak singkat untuk proses produksinya karena tanaman memiliki siklus hidup yang panjang. Menurut Dyllo *et al.* (2014), bahwa cara lain yang dapat ditempuh yaitu dengan memanfaatkan mikroorganisme.

Salah satu mikroorganisme yang sering dijadikan larvasida yaitu *Bacillus thuringiensis* (Bt). Hasil penelitian Wibowo (2017), diketahui bahwa Bt dapat dijadikan sebagai pengendalian larva *Anopheles* sp. instar I dan II pada konsentrasi terbaik yaitu 108 CFU.mL⁻¹. Hasil penelitian dari Ragavendran *et al.* (2019), dapat menunjukkan *Penicillium* spp. merupakan spesies fungi entomopatogen yang paling baik untuk dijadikan sebagai larvasida nyamuk *Ae. aegypti* dan antibakteri. Namun penggunaan Bt bersamaan dengan insektisida kimiawi dapat menyebabkan resistensi, maka perlu digunakan spesies baru untuk pengendalian larva. Menurut Dhanasekaran *et al.* (2010) bahwa dari aktivitas metabolit sekunder *Streptomyces* sp. dapat dijadikan sebagai larvasida untuk nyamuk *Anopheles* sp. dan perbaikan lingkungan. Pendapat lain menyatakan bahwa kelompok Actinomycetes memungkinkan untuk dijadikan sebagai pendekatan dalam pengendalian nyamuk (Liu *et al.*, 2008). *Streptomyces* juga diketahui dapat menghasilkan metabolit sekunder yang terdiri dari antibiotik dan senyawa yang bertindak sebagai larvasida serangga seperti fearifungin, makrotetroloid, flavonoid, dan tetranektin (Vijayakumar *et al.*, 2010).

Mikroorganisme lain yang memiliki potensi sebagai larvasida yaitu *Serratia marcescens*. Bakteri jenis ini merupakan bakteri yang memiliki pigmen berwarna merah. Hasil penelitian dari Okay *et al.* (2013), menunjukkan bahwa bakteri *S. marcescens* dapat menghasilkan enzim kitinase dan menjadi salah satu bakteri yang efektif dalam mendegradasi kitin. Selain itu, Samrot (2011), juga melaporkan bahwa bakteri ini dapat menghasilkan prodigiosin yang dijadikan sebagai antifungi, antibakteri, antiprotozoal, antimalaria, immunisuppressif dan sebagai aktivitas antikanker.

Isolat *Streptomyces* sp. strain AB8 dan *S. marcescens* strain MBC1 hasil koleksi dari Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Lampung belum diketahui potensinya sebagai larvasida. Berdasarkan informasi tersebut, maka perlu dilakukan penelitian mengenai toksisitas dari metabolit sekunder isolat *Streptomyces* sp. strain AB8 dan *S. marcescens* strain MBC1 untuk dijadikan larvasida sehingga diharapkan dapat mengendalikan populasi nyamuk *Anopheles* sp. sebagai vektor penyakit malaria.

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mengetahui pengaruh ekstrak metabolit sekunder *Streptomyces* sp. strain AB8 dan *S. marcescens* strain MBC1 pada berbagai konsentrasi (125, 250, 500, 1000 ppm) terhadap kematian larva *Anopheles* sp. instar III.
2. mengetahui tingkat toksisitas ekstrak metabolit sekunder *Streptomyces* sp. strain AB8 dan *S. marcescens* strain MBC1 sebagai larvasida *Anopheles* sp.

1.3 Kerangka Pemikiran

Malaria merupakan penyakit menular yang masih menjadi permasalahan kesehatan di Indonesia, terutama di daerah endemis seperti Lampung, Nusa

Tenggara, Papua, dan lain-lain. Penyakit ini disebarkan melalui gigitan nyamuk *Anopheles* sp. betina yang telah terinfeksi *Plasmodium*. Selain itu, penyebaran penyakit malaria juga dapat terjadi melalui manusia yang memiliki riwayat penyakit ini. Semua kelompok umur bahkan pada bayi dan ibu hamil sekalipun sangat beresiko terkena penyakit malaria. Faktor lingkungan sangat mempengaruhi keberadaan vektor penyebab penyakit malaria seperti curah hujan, suhu, kelembaban, salinitas, oksigen terlarut, dan keberadaan tumbuhan serta hewan air lainnya. Berbagai upaya telah dilakukan untuk menurunkan angka penderita dan kematian akibat malaria yaitu meliputi kegiatan penemuan dan pengobatan penderita, pemberantasan vektor dan upaya perlindungan diri terhadap gigitan nyamuk melalui pemakaian kelambu berinsektisida.

Pengendalian vektor secara kimiawi untuk menekan terjadinya kasus malaria sudah banyak dilakukan oleh masyarakat seperti penggunaan insektisida untuk membunuh pada tahap larva, penggunaan insektisida semprot untuk membasmi nyamuk dewasa, dan lain-lain. Namun, penggunaan insektisida secara berkelanjutan dapat memberikan dampak negatif bagi kesehatan manusia dan lingkungan karena insektisida mengandung bahan kimia yang sangat berbahaya. Penggunaan insektisida juga akan membuat nyamuk lebih resistensi terhadap bahan kimia.

Mengingat bahayanya penggunaan insektisida secara berkelanjutan, perlu adanya alternatif lain untuk pengendalian vektor yaitu dengan memanfaatkan bahan alami yang aman dan ramah lingkungan. Pengendalian secara biologis menggunakan mikroba menjadi solusi yang tepat. Diketahui banyak jenis mikroba yang mampu dijadikan sebagai larvasida alami salah satunya yaitu kelompok Aktinomycetes dan turunannya. Diketahui *Streptomyces* memiliki kandungan flavonoid, saponin, tanin, alkaloid, dan triterpen yang berperan sebagai larvasida. Senyawa seperti flavonoid, saponin, dan tanin merupakan racun perut yang mana larut dalam air sehingga apabila masuk ke dalam perut serangga akan merusak sistem pencernaan serangga dan menyebabkan

kematian. Bakteri *S. marcescens* yang memiliki kemampuan mendegradasi kitin secara efektif sehingga dapat dijadikan sebagai larvasida. Senyawa prodigiosin yang dihasilkan bakteri ini akan merusak lapisan membran kulit larva sehingga terjadi kematian pada larva. Bakteri ini juga diketahui berpotensi sebagai antimalaria, antifungi, antibakteri, antiprotozoal, immunosuppressif dan sebagai aktivitas antikanker.

Penelitian ini menggunakan Rancangan Faktorial (2x6) yaitu 2 jenis bakteri dan 6 perlakuan. Larva *Anopheles* sp. instar III diberikan perlakuan ekstrak metabolit sekunder *Streptomyces* sp. strain AB8. Dan *S. marcescens* strain MBC1 dengan konsentrasi yang digunakan yaitu 125, 250, 500, 1.000 ppm. Pengamatan dilakukan selama 3, 6, 12, 24, 48, dan 72 jam kemudian dihitung jumlah larva yang mati. Data dianalisis menggunakan ANOVA untuk melihat pengaruh konsentrasi dengan jenis bakteri serta analisis probit dengan mengetahui nilai LC_{50} dan LC_{90} untuk melihat tingkat toksisitas dari kedua ekstrak tersebut.

1.4 Hipotesis

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah:

1. ekstrak metabolit sekunder isolat *Streptomyces* sp. strain AB8. Dan *S. marcescens* strain MBC1 pada berbagai konsentrasi (125, 250, 500, 1.000 ppm) memiliki pengaruh terhadap kematian larva *Anopheles* sp. instar III.
2. Daya toksik ekstrak metabolit sekunder isolat *S. marcescens* strain MBC1 lebih tinggi terhadap kematian larva *Anopheles* sp. dibandingkan ekstrak metabolit sekunder isolat *Streptomyces* sp. strain AB8.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Streptomyces* sp.

Streptomyces sp. merupakan salah satu bakteri dari kelas Actinomycetes yang dapat ditemukan pada organisme laut dan daratan. *Streptomyces* dapat diisolasi dari laut pada ikan, hewan moluska, bunga karang, tumbuhan bakau, dan rumput laut (Dharmaraj, 2010). Genus *Streptomyces* dikelompokkan sebagai bakteri gram positif, tidak tahan asam, memiliki hifa aeral yang tidak bersekat, dan bersifat kalase (Sari *et al.*, 2014).

Streptomyces mampu menghasilkan antibiotik dan enzim hidrolitik ekstraseluler seperti enzim kitinase dan β 1,3-glukanase (Minas *et al.*, 2000). Lebih dari 70 % senyawa antibiotik yang berasal dari mikroorganisme telah dilaporkan dalam berbagai publikasi berasal dari genus *Streptomyces* (Clardy *et al.*, 2006). Menurut Dhanasekaran *et al.*, 2010 bahwa *Streptomyces* dapat dijadikan sebagai larvasida untuk nyamuk *Anopheles* sp. dan perbaikan lingkungan. Diketahui juga dari penelitian Vijayan dan Balaraman (1991), bahwa Actinomycetes dan turunannya sangat beracun bagi nyamuk dan memiliki tingkat toksisitas yang rendah untuk non-target. Selain itu, Liu *et al.* (2008) menyatakan bahwa kelompok Actinomycetes memungkinkan untuk dijadikan sebagai pendekatan dalam pengendalian nyamuk. *Streptomyces* juga diketahui dapat menghasilkan metabolit sekunder yang terdiri dari antibiotik dan senyawa semacamnya yang dapat bertindak sebagai larvasida serangga seperti fearifungin, makrotetroloid, flavonoid, dan tetranektin (Vijayakumar *et al.*, 2010).

Menurut Kampfer (2006), bahwa *Streptomyces* sp. dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom : Bacteria
Phylum : Actinobacteria
Class : Actinomycetes
Order : Actinomycetales
Family : Streptomycetaceae
Genus : *Streptomyces*
Species : *Streptomyces* sp.

2.1 *Serratia marcescens*

Serratia marcescens merupakan bakteri yang memiliki pigmen berwarna merah. Bakteri ini termasuk bakteri gram negatif dari keluarga Enterobacteriaceae. Biasanya bakteri ini ditemukan di air, tanah, permukaan daun, dalam tubuh serangga, hewan, dan manusia (Khanafari *et al.*, 2006). Pada media NA, *S. marcescens* dapat tumbuh dengan membentuk koloni yang berwarna merah serta memiliki sifat alkali acid pada media TSIA (Darmawati *et al.*, 2019). Karakteristik dari bakteri ini yaitu memiliki motilitas yang cepat dengan bentuk pergerakan peritrik. Bakteri ini dapat tumbuh pada suhu 40-50 °C dan pada pH antara 5 sampai 9 (Lauzon *et al.*, 2003).

Menurut penelitian dari Okay *et al.* (2013), bakteri *S. marcescens* dapat menghasilkan enzim kitinase dan menjadi salah satu bakteri yang efektif dalam mendegradasi kitin. Dari Samrot (2011), juga melaporkan bahwa bakteri ini dapat menghasilkan prodigiosin yang dijadikan sebagai antifungi, antibakteri, antiprotozoal, antimalaria, immunisuppressif dan sebagai aktivitas antikanker. *S. marcescens* merupakan bakteri yang sangat patogen terhadap serangga karena dapat menghasilkan enzim hidrolitik seperti protease, kitinase, nuclease, dan lipase yang bersifat toksin (Flyg dan Xanthopoulos, 1983). Selain itu, bakteri ini juga menghasilkan senyawa serrawetin dan

senyawa sulfaktan yang membantu dalam proses kolonisasi (Hejazi dan Falkiner, 1997).

Menurut Rosidah, 2016 Klasifikasi dari bakteri *S. marcescens* yaitu:

Kingdom : Bacteria
Filum : Proteobakteri
Class : Gamma Proteobakteri
Ordo : Enterobacteriales
Family : Enterobacteriaceae
Genus : *Serratia*
Spesies : *Serratia marcescens*

2.3 Isektisida

Menurut Pratiwi (2013), pengertian insektisida merupakan sekumpulan dari berbagai senyawa tertentu yang berpotensi sebagai racun bagi targetnya. Berikut berbagai cara insektisida masuk ketubuh serangga agar memberikan efek bagi targetnya:

- a. *Stomach poisons*, insektisida masuk bersamaan dengan makanan sehingga merancuni lambung dan terganggunya alat pencernaan.
- b. Insektisida kontak (*contact poisons*), masuk ketubuh serangga melalui jaringan kutikula.
- c. Insektisida yang masuk melalui saluran pernapasan.

Sedangkan menurut cara kerjanya, terdapat 3 macam insektisida, yaitu:

- a. Insektisida peracun protoplasma yaitu yang dapat mengendapkan protein dalam tubuh.
- b. Insektisida peracun fisik yang menyebabkan dehidrasi sehingga keluarnya cairan tubuh di dalam tubuh serangga.
- c. Insektisida peracun pernapasan yang menghambat sistem pernapasan pada serangga.

Larvisida merupakan golongan insektisida yang memiliki kemampuan untuk membunuh serangga yang masih berada di fase larva. Penggunaan larvisida dalam pemberantasan nyamuk termasuk kedalam cara terbaik dalam pencegahan penyebaran nyamuk. Larvisida dikatakan efektif dapat dilihat dari jumlah kematian larva (Moerid *et al.*, 2013). Menurut Kementerian Kesehatan Republik Indonesia (2012), terdapat lima jenis larvisida yaitu, Organofosfat yang bekerja dengan cara menghambat enzim aseilkholinesterase, *Insect Growth Regulator* (IGR), monomolekuler film (diletakkan pada permukaan air agar larva tidak dapat mencapai permukaan air sehingga larva tidak bisa memperoleh oksigen), minyak, dan mikroba seperti *Bacillus sphaericus* dan *Bacillus thuringiensis*.

2.4 Pengendalian Vektor

Pengendalian vektor bertujuan untuk meminimalisir kontak dari vektor dengan host, meminimalkan habitat tempat berkembangbiak, memperkecil kepadatan vektor, dan memperpendek umur vektor. Terdapat beberapa metode pengendalian vektor menurut Setyaningrum (2020) yaitu:

a. Pengendalian kimiawi

pengendalian secara kimiawi dapat dilakukan dengan menggunakan senyawa kimia. Pencegahan secara kimiawi memiliki keuntungan yaitu pencegahan dapat dilakukan secara cepat dengan sebaran daerah yang luas dan dalam waktu yang singkat. Namun sisi lain, kerugian dalam penggunaan bahan kimia ini adalah dapat menimbulkan pencemaran lingkungan, menimbulkan resistensi nyamuk terhadap insektisida, dan menyebabkan matinya hewan predator. Contoh tindakan pencegahan cara ini seperti penggunaan temefos untuk membunuh larva nyamuk, menggunakan insektisida berupa residual *spray*, dll.

b. Pengendalian mekanik

cara pengendalian ini bertujuan untuk meminimalisir kontak langsung antara vektor dan manusia, seperti menggunakan baju pelindung,

memasang kawat kasa pada lubang ventilasi jendela, menggunakan kelambu, dll.

c. Pengendalian fisik

pengendalian ini dapat dilakukan dengan cara menggunakan alat fisik untuk pemanasan, pembekuan, dan penggunaan alat listrik untuk mengganggu dari aktivitas serangga. Contohnya yaitu dengan memasang alat yang menghasilkan hembusan angin yang kuat pada pintu dan menggunakan lampu kuning untuk mencegah masuknya nyamuk.

d. Pengendalian biologik

pengendalian ini menggunakan hewan predator atau musuh alami serangga. Selain itu, pengendalian secara biologik pada stadium larva dapat menggunakan mikroorganisme seperti bakteri, jamur, nematoda, dan virus.

e. Pengendalian genetika

pengendalian ini dilakukan untuk mengganti populasi serangga yang berbahaya dengan populasi serangga baru yang tidak bersifat merugikan. Salah satu langkah yang dapat diambil yaitu dengan memandulkan serangga jantan, atau dengan cara mengawinkan antar *strain* nyamuk sehingga sitoplasma telur tidak dapat ditembus oleh sperma dan tidak terjadi pembuahan atau yang disebut *cytoplasmic incompatibility*.

f. Pengendalian legeslatif

pengendalian ini dilakukan untuk mencegah penyebaran serangga dari satu daerah ke daerah lain dengan menerapkan peraturan perundang-undangan yang ketat. Salah satunya dengan menerapkan karantina di Pelabuhan Laut dan Bandar Udara serta penyemprotan insektisida yang rutin pada kapal yang baru berlabuh atau pesawat yang baru mendarat di bandara.

2.5 Nyamuk *Anopheles* sp.

2.5.1 Klasifikasi nyamuk *Anopheles* sp.

Menurut Setyaningrum (2020), klasifikasi nyamuk *Anopheles* sp. yaitu:

Kingdom : Animalia
Filum : Arthropoda
Class : Hexapoda
Ordo : Diptera
Famili : Culcidae
Genus : *Anopheles*
Spesies : *Anopheles* sp.

2.5.2 Morfologi nyamuk *Anopheles* sp.

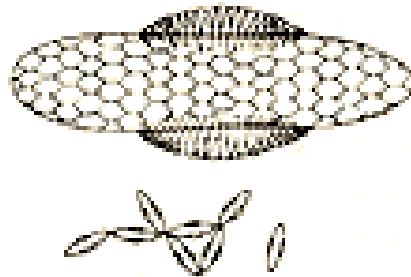
Nyamuk *Anopheles* sp. memiliki probocis yang lebih panjang dari jenis nyamuk lainnya sehingga lebih mudah membedakannya. Selain itu, pada sayapnya terdapat sisik yang berwarna hitam dan putih. Nyamuk *Anopheles* sp. baik jantan maupun betina juga memiliki posisi istirahat yang sangat khas dengan abdomen berada di udara, tidak seperti nyamuk lainnya yang sejajar dengan permukaan (Arsin, 2012). Pada nyamuk dewasa, bagian tubuh nyamuk ini dibagi menjadi 3 bagian yaitu kepala, thorax, dan abdomen. Pada bagian kepala terdapat sepasang mata, antena yang berfungsi sebagai pendeteksi bau, probocis yang digunakan sebagai alat hisap, dan palpus yang terletak pada sisi kanan dan kiri probocis yang berfungsi sebagai sensori. Thorax pada nyamuk *Anopheles* sp. memiliki bentuk seperti lokomotif. Pada bagian thorax melekat tiga pasang kaki, dua pasang sayap, serta antara thorax dan abdomen terdapat alat untuk mengatur keseimbangan saat terbang yang disebut halte. Sedangkan bagian abdomen nyamuk *Anopheles* sp. merupakan organ yang berfungsi sebagai organ pencernaan dan tempat untuk pembuatan telur nyamuk (Setyaningrum, 2020).

2.5.3 Siklus hidup nyamuk *Anopheles* sp.

Menurut Setyaningrum (2020), siklus hidup nyamuk *Anopheles* sp. terdiri dari empat stadium, yaitu:

a. Stadium Telur

umumnya sekali nyamuk *Anopheles* sp. betina bertelur dapat menghasilkan 50-200 butir. Telur nyamuk *Anopheles* sp. memiliki bentuk bundar lonjong dengan runcing dikedua ujung sisinya (Gambar 1). Telur ini akan menetas sekitar 2-3 hari pada kondisi kering sedangkan ketika musim dingin telur akan semakin lama menetas yaitu sekitar 2-3 minggu.



Gambar 1. Telur *Anopheles* sp. (CDC, 2020)

b. Stadium Larva

larva nyamuk *Anopheles* sp. memiliki mulut yang berbentuk seperti sikat yang berfungsi sebagai alat makan, dan memiliki torak yang berukuran besar dengan perut yang tersusun atas segmen-segmen. Larva ini tidak memiliki kaki dan siphon pernapasan oleh karena itu pada saat istirahat memiliki posisi tubuh yang sejajar dengan permukaan air. Larva *Anopheles* sp. memakan mikroorganisme seperti ganggang, bakteri, dan lain-lain yang berada dipermukaan air. Menurut Le *et al.*, 2012 dalam penelitiannya menyatakan larva nyamuk *Anopheles* sp. sebelum menjadi pupa melewati empat tahapan pertumbuhan (instar) yaitu:

- Instar I

Memiliki ciri-ciri yaitu ukuran sangat kecil dengan panjang hanya 1-2 mm, berwarna transparan, dan duri/spinae terletak pada torak yang belum begitu jelas. Larva instar I berkembang dalam jangka waktu kurang lebih 1 hari.

- Instar II

Mulai Berkembang pada hari ke-2 dalam jangka waktu 1-2 hari dan memiliki ukuran tubuh berkisar 2.5-3.9 mm, duri pada dada belum jelas, larva instar II akan mengambil oksigen dari udara melalui spirakel yang terletak pada setiap segmen abdomen dengan badan larva sejajar dengan permukaan air.

- Instar III

Memiliki ukuran tubuh yang lebih besar sedikit dari larva instar II dengan duri duri mulai banyak serta pergerakan lebih aktif (Gambar 2). Larva pada instar III akan berkembang pada hari ke-4 dengan jangka waktu pertumbuhan yaitu 2 hari.

- Instar IV

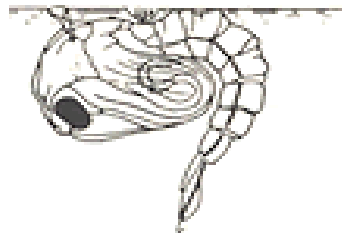
Larva instar IV akan berkembang pada hari ke-5 dalam jangka waktu 2-3 hari. Pada fase ini struktur anatomi larva sudah jelas, tubuh dapat dibagi jelas menjadi tiga bagian yaitu kepala (*caput*), dada (*thorax*), dan perut (*abdomen*). Memiliki ukuran berkisar 5 mm, tubuh langsing, dan bergerak sangat lincah. Pada fase ini belum bisa dibedakan antara jantan maupun betina.



Gambar 2. Larva *Anopheles* sp. instar III (CDC, 2020)

c. Stadium Pupa

Pupa merupakan stadium akhir sebelum berkembang menjadi nyamuk dewasa dan selama menjadi pupa tidak lagi dibutuhkan makanan. Pada stadium ini mulai dibentuk organ-organ tubuh nyamuk seperti alat kelamin, kaki, dan sayap (Gambar 3). Waktu yang diperlukan pupa untuk menjadi nyamuk dewasa sekitar 2-4 hari dan biasanya stadium pupa pada nyamuk jantan lebih cepat sekitar 1-2 jam dari pada nyamuk betina.



Gambar 3. Stadium Pupa *Anopheles* sp. (CDC, 2020)

d. Stadium Dewasa

Nyamuk *Anopheles* sp. dewasa memiliki tubuh yang rapuh dan berukuran sekitar 4-13 mm. Tubuh nyamuk dewasa terdiri dari tiga bagian yaitu kepala, torak, dan abdomen (Gambar 4). Pada bagian kepala bagian mulut yang memanjang membentuk probocis. Pada nyamuk *Anopheles* sp. betina probocis sangat berkembang dengan baik sehingga memudahkannya dalam melukai hospes dan menghisap darah. Nyamuk *Anopheles* sp. betina berperan sebagai vektor penyakit malaria. Nyamuk betina umumnya jika dialam dapat bertahan hidup hingga 1-2 minggu. Sedangkan pada nyamuk *Anopheles* sp. jantan organ probocis hanya digunakan untuk menghisap cairan yang berasal dari tumbuh-tumbuhan, buah-buahan, dan keringat. Pada bagian kepala juga terdapat sepasang antena yang berfungsi untuk mendeteksi bau host dari tempat nyamuk meletakkan telurnya (Arsin, 2012).



Gambar 4. Nyamuk *Anopheles* sp. dewasa (iryani, 2011)

2.5.4 Aktivitas menggigit nyamuk *Anopheles* sp.

Aktivitas menggigit dari nyamuk *Anopheles* sp. yaitu jam 17:00-18:00, sebelum jam 24:00 (20:00-23:00), dan setelah jam 24:00 (00:00-04:00). Perilaku vektor malaria ini sangat penting untuk diketahui dalam mengambil keputusan untuk menentukan tindakan yang harus dilakukan agar tercapainya pengendalian vektor yang lebih efektif (Setyaningrum, 2020).

2.5.5 Tempat perindukan nyamuk *Anopheles* sp.

Berdasarkan tempat perindukan, nyamuk *Anopheles* sp. dibagi menjadi tiga tipe yaitu berkembang biak didaerah persawahan (*An. annularis*, *An. barbirostris*, *An. kochi*, dll), daerah perbukitan/hutan (*An. balabacensis*, *An. bancrofti*, *An. punctulatus*, dll) dan pantai/aliran sungai (*An. flavirostris*, *An. koliensis*, *An. sondaicus*, dan *An. subpictus*). Daerah yang biasanya dijadikan tempat perindukan nyamuk *Anopheles* sp. yaitu pada genangan-genangan air. Daerah perindukan nyamuk *Anopheles* sp. memiliki suhu tertinggi 33,5°C, salinitas sebesar 0 ‰, pH berkisar 6-7, sedangkan warna air di rawa tertinggi mencapai 39,27 mgPtCo, dan nilai DO berkisar 5,3-6,4 mg/L. Umumnya, nyamuk *Anopheles* sp. betina akan meletakkan telurnya pada genangan air yang bersih dan tidak terpapar polusi namun lokasi untuk berkembang biaknya tidak sama. Tempat perindukan nyamuk *Anopheles* sp. biasanya di daerah air tawar atau

air payau seperti tambak, muara sungai, rawa, dan lubang bekas galian. Selain itu tempat perindukan lainnya adalah parit, genangan air hujan, irigasi, air tepi sungai, dan kubangan. Salah satu tempat yang digemari oleh nyamuk *Anopheles* sp. untuk beristirahat yaitu daerah perbukitan. Selain itu, nyamuk *Anopheles* sp. juga menyukai tempat beristirahat di semak-semak dan tanaman perkebunan seperti perkebunan kopi, perkebunan kelapa, tanaman salak, ilalang, dan di pohon perdu (Setyaningrum *et al.*, 2008).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2020 sampai dengan bulan Maret 2021 di Laboratorium Mikrobiologi dan Zoologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Penelitian ini merupakan bagian dari proyek penelitian yang diketuai oleh Dr. Endah Setyaningrum, M.Biomed. dengan judul “Uji Fraksi Metabolit *Streptomyces* Sebagai Antimalaria Secara In-Vivo”.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat – alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain:

a. Pembuatan media subkultur

Alat yang digunakan untuk membuat media subkultur *adalah beaker glass, erlenmeyer, hot plate*, neraca analitik, sendok, gelas ukur, autoklaf, dan lemari pendingin.

b. Subkultur bakteri

Alat yang digunakan untuk subkultur bakteri adalah cawan petri, ose bulat, bunsen, inkubator, dan *laminar air flow*.

c. Fermentasi bakteri

Proses fermentasi bakteri menggunakan alat yaitu erlenmeyer 50 ml, 500 ml, bunsen dan *shaker incubator*.

d. Produksi metabolit sekunder

Alat yang digunakan untuk proses produksi yaitu cawan penguap, *rotary evaporator*, *hot plate*, corong, bunsen, dan erlenmeyer 1.000 ml.

e. Penyediaan larva

Alat yang digunakan dalam pengambilan larva adalah botol sampel, jerigen, alat menciduk larva, termometer, higrometer, refraktometer, dan kertas pH.

f. Uji larvasida

Alat yang digunakan pada saat uji larvasida adalah cup plastik, pipet tetes, gelas ukur, dan mikroskop digital OEM.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan diantaranya sebagai berikut:

a. Pembuatan media

Bahan yang digunakan yaitu media *International Streptomyces Project 4* (starch soluble, K₂HPO₄, MgSO₄, NaCl, Amonium sulfat, CaCO₃, Agar), *Tryptic Soy Agar (TSA)* *Tryptone Water (TW)*, dan akuades.

b. Subkultur bakteri

Bahan yang digunakan untuk mengsubkulturkan bakteri yaitu isolat *Streptomyces* sp. strain AB8 dan *Serratia marcescens* strain MBC1, media ISP4, media TSA, tisu, alkohol 70%, spritus, dan *cling wrap*.

c. Fermentasi bakteri

Bahan yang digunakan dalam proses fermentasi yaitu isolat *Streptomyces* sp. strain AB8 dan *Serratia marcescens* strain MBC1,

media ISP4 cair, media TW, akuades, tisu, alkohol 70%, spritus, dan *cling wrap*.

d. Produksi metabolit sekunder

Bahan yang digunakan adalah hasil fermentasi isolat *Streptomyces* sp. strain AB8 dan *Serratia marcescens* strain MBC1, media ISP4 cair, media TW, akuades, tisu, alkohol 70%, spritus, dan *cling wrap*, kertas saring *whatman* no.40, etil asetat, dan methanol.

e. Penyediaan larva

Bahan yang digunakan adalah air yang berasal dari tempat perindukan larva *Anopheles* sp. diperoleh.

f. Uji larvasida

Bahan yang digunakan pada uji larvasida yaitu larva *Anopheles* sp. instar III, ekstrak metabolit sekunder *Streptomyces* sp. strain AB8 dan *Serratia marcescens* strain MBC1, dan air yang berasal dari tempat perindukan.

3.3 Rancangan Penelitian

Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Faktorial Blok (2x6) yang terdiri dari dua faktor yaitu jenis bakteri dan konsentrasi. Pada penelitian ini menggunakan 4 konsentrasi yaitu 125 ppm, 250 ppm, 500 ppm, dan 1.000 ppm ekstrak metabolit sekunder *Streptomyces* sp. strain AB8 dan *Serratia marcescens* strain MBC1 dengan perlakuan kontrol positif menggunakan 1 % Temefos (Abate) serta kontrol negatif menggunakan air yang diperoleh dari tempat perindukan Setiap perlakuan diulang sebanyak 4 kali ulangan (Tabel 1) dan membutuhkan 20 ekor larva *Anopheles* sp. instar III sehingga total hewan uji yang diperlukan sebanyak 640 ekor dengan 32 unit percobaan.

Tabel 1. Konsentrasi Ekstrak Metabolit Sekunder *Streptomyces* sp. strain AB3 dan *Serratia marcescens* strain MBC1

Perlakuan	K +	K -	<i>Streptomyces</i> sp. strain AB3 (ppm)				<i>Serratia marcescens</i> strain MBC1 (ppm)			
			125	250	500	1000	125	250	500	1000
Ulangan										
1										
2										
3										
4										

Keterangan : Kontrol (+) = 1 % Temefos (Abate)
Kontrol (-) = air tempat perindukan

3.4 Prosedur Kerja

3.4.1 Sub-kultur isolat *Streptomyces* sp. strain AB8 dan *Serratia marcescens* strain MBC1

Isolat *Streptomyces* sp. strain AB8 dan *Serratia marcescens* strain MBC1 merupakan koleksi dari Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Isolat *Streptomyces* sp. strain AB8 dikultur pada media *International Streptomyces Project* (ISP) 4. Sedangkan isolat *S. marcescens* strain MBC1 di kultur pada media *Tryptone Soya Agar* (TSA).

3.4.2 Fermentasi isolat *Streptomyces* sp. strain AB8 dan *Serratia marcescens* strain MBC1

Media yang digunakan untuk proses fermentasi isolat *Streptomyces* sp. strain AB8 yaitu ISP 4 cair. Proses fermentasi ini diawali dengan membuat starter di 100 ml media ISP 4 yang terdiri dari komposisi starch soluble 1 g, K₂HPO₄ 0.1 g, MgSO₄ 0.1 g, NaCl 0.1 g, Amonium sulfat 0.2 g, dan CaCO₃ 0.2 g. Kemudian disterilisasikan

dengan autoclave selama 15 menit. lalu 1 ose isolat *Streptomyces* sp. strain AB8 diinokulasikan. Starter isolat *Streptomyces* sp. strain AB8 ini kemudian di inkubasi selama 7 hari dengan suhu 32 °C di *incubator shaker*. Starter yang telah jadi kemudian dituangkan di 900 ml media ISP 4 cair lalu di inkubasi kembali selama 7 hari dengan suhu 32 °C di *incubator shaker* untuk produksi metabolit sekundernya (Fitri *et al.*, 2019).

Sedangkan untuk fermentasi isolat *S. marcescens* strain MBC1 menggunakan media *Tryptone Water* (TW). Proses ini diawali dengan melarutkan 1.5 g media TW di 100 ml aquades kemudian disterilisasikan selama 15 menit menggunakan autoclave. Lalu 1 ose isolat *S. marcescens* strain MBC1 diinokulasi dan diinkubasi selama 7 hari untuk kemudia dijadikan sebagai starter. Starter yang telah jadi dituangkan ke 900 ml media TW untuk proses produksi metabolit sekunder.

3.4.3 Produksi metabolit sekunder isolat *Streptomyces* sp. strain AB8 dan *Serratia marcescens* strain MBC1

Sebanyak 1 liter dari hasil masing-masing proses fermentasi isolat *Streptomyces* sp. strain AB8 dan *S. marcescens* strain MBC1 di saring menggunakan kertas saring *whatman* nomor 40 untuk memisahkan natan dan supernatan. Supernatan dari kedua isolat ini kemudian ditambahkan pelarut (etil asetat) dan praksi (metanol) sebanyak 1 : 1 dari jumlah supernatan lalu di shaker selama 30 menit. Supernatan yang telah ditambahkan etil asetat dan metanol dipisahkan menggunakan evaporator hingga menghasilkan pasta. Hasil ekstraksi metabolit sekunder kemudian disimpan di lemari pendingin (Nugraha *et al.*, 2020).

3.4.4 Penyediaan larva uji

Larva *Anopheles* sp. didapatkan dari tempat perindukan nyamuk *Anopheles* sp. di Desa Sukajaya Lempasing, Kecamatan Teluk Pandan, Kabupaten Pesawaran, Lampung. Pengambilan sample dilakukan dengan menggunakan metode *simple random sampling*, dimana sample diambil secara acak. Sample larva yang didapatkan kemudian diamati menggunakan mikroskop digital OEM untuk memastikan bahwa sample yang diperoleh merupakan larva *Anopheles* sp. instar III. Selain itu, tempat perindukan larva uji ini akan dilakukan pemeriksaan pH, kadar salinitas, kelembapan dan temperatur air untuk memperkuat homogenitas. Setyaningrum *et al.* (2008), menyatakan bahwa daerah perindukan nyamuk *Anopheles* sp. berada di daerah air tawar atau air payau seperti tambak, muara sungai, rawa, dan lubang bekas galian dengan suhu tertinggi 33,5 °C, salinitas sebesar 3,47 ‰, pH berkisar 6-7, sedangkan warna air di rawa tertinggi mencapai 39.27 mgPtCo, dan nilai DO berkisar 5.3-6.4 mg/L.

3.4.6 Uji larvasida *Anopheles* sp.

Langkah awal dalam uji larvasida yaitu pengambilan sampel sebanyak 20 ekor larva *Anopheles* sp. instar III dimasukkan ke dalam cup yang berisi 20 ml metabolit sekunder isolat *Streptomyces* sp. strain AB8 dan *Serratia marcescens* strain MBC1. dengan konsentrasi yang berbeda. Menurut hasil penelitian Rajesh *et al.*, 2015 pada konsentrasi 250 ppm telah menunjukkan kematian larva sebanyak 50 %. Oleh sebab itu, peneliti menggunakan konsentrasi 125 ppm, 250 ppm, 500 ppm, dan 1.000 ppm. Perlakuan kontrol positif menggunakan 1 % Temefos (Abate) dan kontrol negatif dengan air yang diperoleh dari tempat perindukan. Lalu dilakukan pengamatan terhadap jumlah kematian dengan rentang waktu 3 jam, 6 jam, 12 jam,

24 jam, 48 jam, dan 72 jam. Selama perlakuan berlangsung, kondisi lingkungan dikontrol agar tetap stabil dengan mengecek pH air, suhu, dan kelembapan. Larva yang mati akibat perlakuan kemudian diamati dibawah mikroskop digital OEM dengan perbesaran 1-1200X.

3.5 Analisis Data

Data jumlah kematian larva *Anopheles* sp. disajikan dalam bentuk angka dan dianalisis menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) untuk mengetahui pengaruh ekstrak *Streptomyces* sp. strain AB8 dan *Serratia marcescens* strain MBC1 dengan konsentrasi yang digunakan terhadap kematian larva *Anopheles* sp. instar III. Apabila terdapat perbedaan akan diuji lanjut dengan uji BNT, $\alpha = 5\%$ (0,05). Kemudian dianalisis probit untuk mengetahui Lethal Concentration dari kedua isolat yang dinyatakan dengan nilai LC_{50} dan LC_{90} menggunakan aplikasi SPSS versi 26. Sebelum dilakukan analisis probit, data terlebih dahulu dikoreksi dengan pendekatan Abbot yaitu jumlah kematian larva dapat dianalisis lebih lanjut apabila kematian pada kontrol $< 5\%$. Jika kematian kontrol antara 5-20 %, maka dilakukan koreksi data dengan menggunakan rumus Abbot, yaitu:

$$A_1 = \frac{A - C}{100 - C} \times 100\%$$

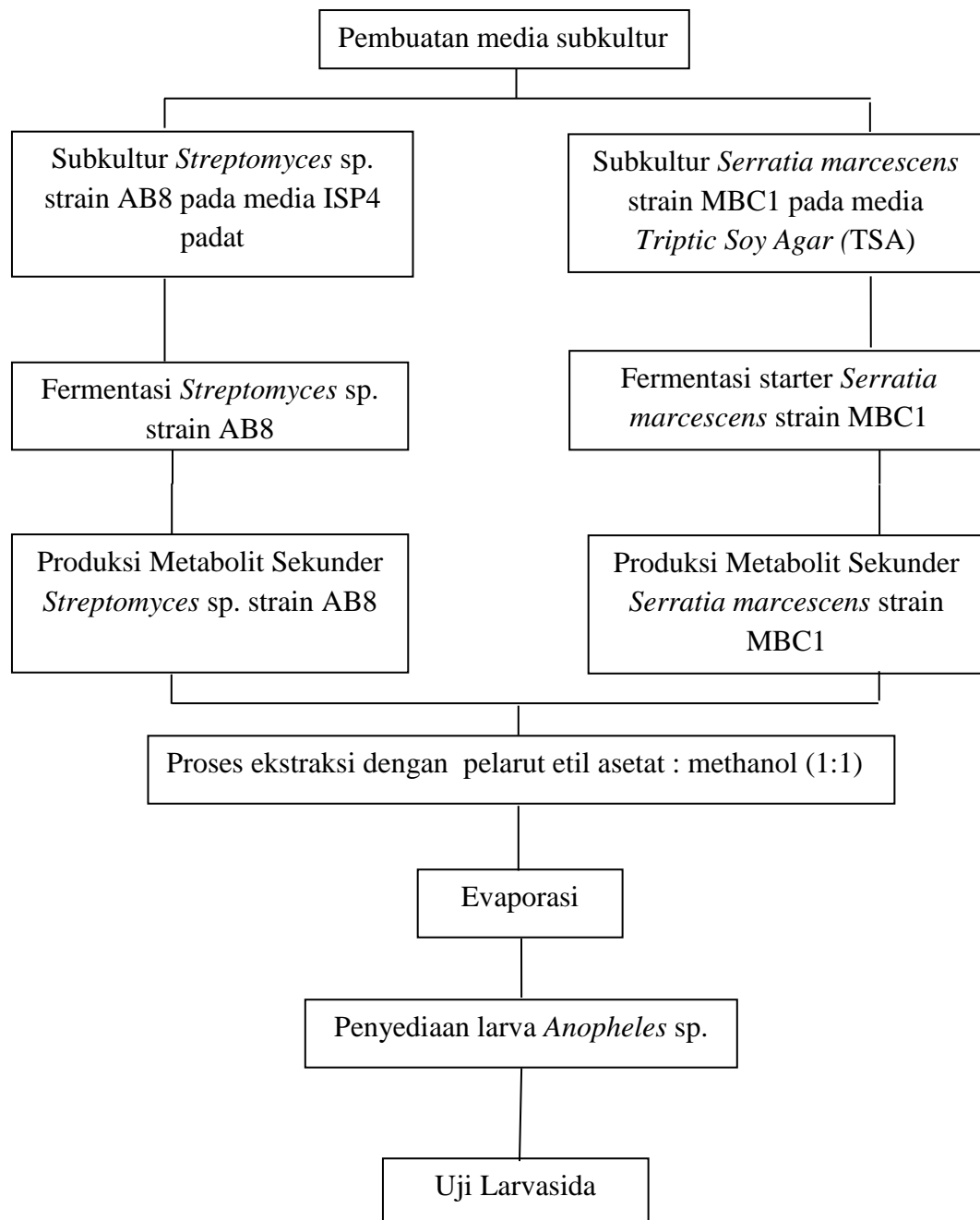
Keterangan :

A_1 = kematian setelah dikoreksi

A = kematian pada perlakuan

C = kematian pada kontrol negatif

3.6 Diagram Alir



Gambar 5. Diagram alir penelitian

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diperoleh dari penelitian ini adalah:

1. Ekstrak metabolit sekunder *S. marcescens* strain MBC1 pada konsentrasi 250 dan 500 ppm dan *Streptomyces* sp. strain AB8 pada konsentrasi 1.000 ppm memiliki pengaruh yang sama, sehingga lebih baik digunakan Ekstrak *S. marcescens* strain MBC1 dengan konsentrasi 250 ppm.
2. Daya toksik ekstrak metabolit sekunder *S. marcescens* strain MBC1 baik pada nilai LC₅₀ (1,304 ppm) dan LC₉₀ (138,147 ppm) lebih tinggi dibandingkan *Streptomyces* sp. strain AB8 yang memiliki nilai LC₅₀ (327,806 ppm) dan LC₉₀ (654,328 ppm), sehingga ekstrak *S. marcescens* strain MBC1 lebih efektif dijadikan larvasida *Anopheles* sp. instar III.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan perhitungan *Letal Date* (LD) pada uji larvasida untuk mengetahui waktu optimum dari kedua jenis ekstrak terhadap kematian larva *Anopheles* sp..
2. Perlu penelitian uji lanjut dengan menurunkan konsentrasi yang digunakan pada ekstrak metabolit sekunder *Streptomyces* sp. strain AB8 dan *S. marcescens* strain MBC1.

DAFTAR PUSTAKA

- Aggarwal, C., S. Paul, V. Tripathi, B. Paul, dan M. A. Khan. 2015. Chitinolytic activity in *Serratia marcescens* (strain SEN) and potency against different larval instars of *Spodoptera litura* with effect of sublethal doses on insect development. *BioControl*. 60(5) : 631–640.
- Arsin, A. A. 2012. Malaria Di Indonesia Tinjauan Aspek Epidemiologi. *Heart Surgery Forum*.
- Balachandar, R., N. Karmegam, dan R. Subbaiya. 2018. Extraction, separation and characterization of bioactive compounds produced by streptomyces isolated from vermicast soil. *Research Journal of Pharmacy and Technology*. 11(10) : 4569–4574.
- Bisyaroh, N. 2020. Uji Toksisitas Ekstrak Biji Kelor (*Moringa Oleifera*) Terhadap Larva Nyamuk *Aedes Aegypti*. *Jurnal Farmasi Tinctura*. 1(2) : 34–44.
- Bureni, E. Y. N., I. N. Sasputra, dan M. A. E. Dedy. 2018. Uji Efektivitas Ekstrak Batang Kelor (*Moringa Oleifera*) Terhadap Larva Nyamuk *Aedes aegypti*. *Cendana Medical Journal*, 15(3), 1–12.
- Cania, E., dan E. Setyaningrum. 2013. Uji efektivitas larvasida ekstrak daun legundi (*Vitex trifolia*) terhadap larva *Aedes aegypti*. *Journal Medical of Lampung University*. 2(4) : 52–60.
- Clardy, J., M. A. Fischbach, dan C. T. Walsh. 2006. New antibiotics from bacterial natural products. *Nature Biotechnology*. 1541-1550.
- Darmawati, S., E. N. Sofyanita, dan S. S. Dewi. 2019. The Effectiveness of Wild Honey In Inhibiting The Growth of Bacterium on The Positive Widal Blood Culture of Enterobacteriaceae Familia. *Jaringan Laboratorium Medis*. 1(2) : 91-97.
- Dhanasekaran, D., A. Panneerselvam, V. Sakthi, dan N. Thajuddin. 2010. Preliminary Evaluation of Anopheles Mosquito Larvicidal Efficacy of Mangrove Actinobacteria. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*. 1(2) : 374-381.

- Dharmaraj, S. 2010. Marine Streptomyces as a novel source of bioactive substances. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*.
- Dylo, P., C. Martin, dan C. Mhango. 2014. Efficacy of *Bacillus thuringiensis* var israelensis (Bti) on *Culex* and *Anopheles* mosquito larvae in Zomba. *Malawi Journal of Science and Technology*. 10(1) : 40-52.
- Fitri, L. E., A. Alkarimah, A. W. Cahyono, W. N. Lady, A. T. Endharti, dan R. Y. B. Nugraha. 2019. Effect of metabolite extract of *Streptomyces hygrosopicus* subsp. *hygrosopicus* on *Plasmodium falciparum* 3D7 in vitro. *Iranian Journal of Parasitology*. 14(3) : 444-452.
- Flyg, C., dan K. G. Xanthopoulos. 1983. Insect Pathogenic Properties Of *Serratia Marcescens*. Passive And Active Resistance To Insect Immunity Studied With Protease-Deficient And Phage-Resistant Mutants. *Microbiology*. 129(2) : 453-464.
- Ghosh, A., N. Chowdhury, dan G. Chandra. 2012. Plant extracts as potential mosquito larvicides. *Indian Journal of Medical Research*.
- Gilbert, G.I., K. Latrou., dan S.S. Gill. 2005. Biochemistry of Digestion, in : *Comprehensive Molecular Insect science Biochemical and Molecular Biology*. 171-224. Elsevier Press. Oxford. UK.
- Hejazi, A., dan F. R. Falkiner. 1997. *Serratia marcescens*. *Journal of Medical Microbiology*.
- Iryani, K. 2011. Hubungan *Anopheles barbirostris* Dengan Malaria. *jurnal Matematika, Sains, dan Teknologi*. 12 (1) : 18-29.
- Kahar, S. R. S., A. Hasan, dan C. Lamangantjo. 2019. Aktivitas Entomopatogen *Serratia Marcescens* Bizio Terhadap Mortalitas Larva Kumbang Kelapa (*Brontispa longissima*) Gestro. *Jambura Edu Biosfer Journal*, 1(2), 64–71.
- Kampfer, P. 2006. The Family Streptomycetaceae, Part I: Taxonomy BT – The Prokaryotes. *Interntional Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*.
- Kartini, S., D. Pratiwi, dan Z. Atina. 2020. Uji Mortalitas Larva Nyamuk *Anopheles* Dengan Pemberian Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzygium Polyantum*). *Klinikal Sains : Jurnal Analis Kesehatan*. 8(1) : 41–48.
- Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. 2012. *Profil Kesehatan Indonesia Tahun 2011*. Kementrian Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.

- Khanafari, A., M. M. Assadi, dan F. A. Fakhr. 2006. Review of Prodigiosin, Pigmentation in *Serratia marcescens*. *OnLine Journal of Biological Sciences*. 6(1) : 1-13.
- Krishanti, N. P. R. A., B. Wikantyo, A. Zulfitri, dan D. Zulfiana. 2017. Bakteri Entomopatogen Sebagai Agen Biokontrol Terhadap Larva *Spodoptera litura* (F.). *Jurnal Ilmu-Ilmu Hayati*. 16(1).
- Lailatul, K. L., A. Kadarohman, dan R. Eko. 2010. Efektivitas biolarvasida ekstrak etanol limbah penyulingan minyak akar wangi (*Vetiveria zizanoides*) terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*, *Culex sp.*, dan *Anopheles sundaicus*. *Jurnal Sains Dan Teknologi Kimia*. 1(1) : 59-65.
- Lauzon, C. R., T. G. Bussert, R. E. Sjogren, dan R. J. Prokopy. 2003. *Serratia marcescens* as a bacterial pathogen of *Rhagoletis pomonella* flies (Diptera: Tephritidae). *European Journal of Entomology*. 100(1) : 87-92.
- Lenakoly, T. Y., M. A. Wurjanto, dan R. Hestingsih. 2021. Survei Entomologi Vektor Malaria Di Desa Piru Kabupaten Seram. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*. 9(1): 16–20.
- Lewinsca, M. Y., dan M. Raharjo. 2021. Faktor Risiko yang Mempengaruhi Kejadian Malaria Di Indonesia : Review Literatur 2016-2020. *Kesehatan Lingkungan*. 11(1) : 16–28.
- Liu, H., S. Qin, Y. Wang, W. Li, dan J. Zhang. 2008. Insecticidal action of Quinomycin A from *Streptomyces sp.* KN-0647, isolated from a forest soil. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 24(10) : 2243-2248.
- Minas, W., J. E. Bailey, dan W. Duetz. 2000. Streptomycetes in micro-cultures: Growth, production of secondary metabolites, and storage and retrieval in the 96-well format. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*. 78(3-4) : 297-305.
- Moerid, M. S., R. E. P. Mangindaan, dan F. Losung. 2013. Uji Aktivitas Larvasida Nyamuk *Aedes Aegypti* dari Beberapa Ekstrak Ascidian. *Jurnal Pesisir Dan Laut Tropis*. 1(1) : 15.
- Muftiah, A. T., A. Y. Kasma, dan M, Risda. 2019. Efektivitas Ekstrak Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius*) Terhadap Mortalitas Larva *Aedes sp* dan *Anopheles*. *Jurnal Vektor Penyakit*. 13(2) : 107-114.
- Naine, S. J., dan C. S. Devi. 2014. Larvicidal and repellent properties of streptomyces sp. VITJS4 crude extract against *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *Polish Journal of Microbiology*, 63(3), 341–348.

- Ndione, R. D., O. Faye, M. Ndiaye, A. Dieye, dan J. M. Afoutou. 2007. Toxic effects of neem products (*Azadirachta indica* A. Juss) on *Aedes aegypti* Linnaeus 1762 larvae. *African Journal of Biotechnology*. 6 (24) : 2846-2854.
- Nugraha, R. Y. B., I. F. D. Faratisha, K. Mardhiyyah, D. G. Ariel, F. F. Putri, Nafisatuzzamrudah, S. Winarsih, T. W. Sardjono, dan L. E. Fitri. 2020. Antimalarial Properties of Isoquinoline Derivative from *Streptomyces hygrosopicus* subsp. *Hygrosopicus*: An in Silico Approach. *BioMed Research International*. 15.
- Okay, S., M. Özdal, dan E. B. Kurbanoglu. 2013. Characterization, antifungal activity, and cell immobilization of a chitinase from *Serratia marcescens* MO-1. *Turkish Journal of Biology*. 37(6) : 639-644.
- Patil, C. D., V. P. Saltish, K. S. Bipinchandra, dan B. S. Rahul. 2011. prodigiosin produced by *Serratia marcescens* NMCC\$^A\$ as a mosquito larvicidal agent against *Aedes aegypti* and *Anopheles stephensi*. *Parasitology research*. 109 (4) : 1179-1187.
- Pratiwi, A. 2013. Studi Deskriptif Penerimaan Masyarakat Terhadap Larvasida Alami. [Skripsi]. fakultas Ilmu Keolahragaan. Universitas Negeri Semarang. Semarang.
- Ragavendran, C., V. Manigandan, C. Kamaraj, G. Balasubramani, J. S. Prakash, P. Perumal, dan D. Natarajan. 2019. Larvicidal, histopathological, antibacterial activity of indigenous fungus *Penicillium* sp. Against *Aedes aegypti* L and *Culex quinquefasciatus* (Say) (Diptera: Culicidae) and Its Acetylcholinesterase Inhibition and Toxicity Assessment of Zebrafish (*Danio re*. *Frontiers in Microbiology*.
- Rajesh, K., D. Dhanasekaran, dan B. K. Tyagi. 2015. Mosquito survey and larvicidal activity of actinobacterial isolates against *Culex* larvae (Diptera: Culicidae). *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*. 14(2) : 116-122.
- Ridjal, A. T. M., A. Y. Kasma, dan M. Risda. 2019. Efektivitas Ekstrak Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius*) Terhadap Mortalitas Larva *Aedes* sp dan *Anopheles*. *Jurnal Vektor Penyakit*, 13(2), 107–114.
- Rosidah, U. 2016. Tepung ampas tahu sebagai media pertumbuhan bakteri *serratia marcescens*. *Skripsi Unimus*. 1-63.
- Samrot, A. V. 2011. Optimized Production of Prodigiosin from *Serratia Marcescens* SU-10 Grown as Batch Culture and Evaluation of Bioactivity of Produced Prodigiosin. *International Journal of Medicobiological Research*. 1(3) : 145-150.

- Sari, N. M., R. Kawuri, Khalimi, dan Khamdan. 2014. *Streptomyces* sp. Sebagai Biofungisida Patogen *Fusarium oxysporum* (Schlecht.) f.sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder et Hans. Penyebab Penyakit Layu Pada Tanaman Tomat (*Solanum lycopersicum* L.). *Agrotrop: Journal on Agriculture Science*. 2(2).
- Setyaningrum, E. 2020. *Mengenal Malaria dan Vektornya*. Pustaka Ali Imron. 27-49.
- Setyaningrum, E., S. Murwani, E. Rosa, dan K. Andananta. 2008. Studi Ekologi Perindukan Nyamuk Vektor Malaria di Desa Way Muli, Kecamatan Rajabasa, Lampung Selatan. *Seminar Hasil Penelitian Dan Pengabdian Kepada Masyarakat.Unila*. 292–299.
- Shafira, I. D., dan I. G. Krisanti. 2019. Faktor-Faktor Kepatuhan Minum Obat pada Penderita Malaria Vivax di Puskesmas Hanura Kabupaten Pesawaran. *Jurnal Analis Kesehatan*. 8(2) : 53–57.
- Shirling, E. B., dan D. Gottlieb. 1966. Methods for characterization of *Streptomyces* species. *International Journal of Systematic Bacteriology*. 16(3) : 313-340.
- Sinaga, L. S., Martini, dan L. D. Saraswati. 2016. Status Resistensi Larva *Aedes aegypti* (Linnaeus) terhadap Temephos (Studi di Kelurahan Jatiasih Kecamatan Jatiasih Kota Bekasi Provinsi Jawa Barat). *Jurnal Kesehatan Masyarakat*, 4(1), 142–152.
- Suari, L. G. S. A., A. D. Haq, dan L. A. D. Rahayu. 2021. Potensi Ekstrak Bunga Kamboja (*Plumeria* Sp.) Dan Bunga Kluwih (*Artocarpus Camansi*) Sebagai Biolarvasida Nyamuk *Anopheles* Sp. Dalam Upaya Pencegahan Penyakit Malaria Luh. *JIMKI*. 8(3) : 137–145.
- Suryawanshi, R. K., C. D. Patil, H. P. Borase, C. P. Narkhede, B. K. Salunke, dan S. V. Patil. 2015. Mosquito larvicidal and pupaecidal potential of prodigiosin from *Serratia marcescens* and understanding its mechanism of action. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 123 : 49–55.
- Suwito, S., U. K. Hadi, S. H. Sigit, dan S. Sukowati. 2015. Hubungan Iklim, Kepadatan Nyamuk *Anopheles* dan Kejadian Penyakit Malaria. *Jurnal Entomologi Indonesia*. 7(1) : 42.
- Urip, T., Y. Edi., dan I. Nurul. 2016. *Bacillus thuringiensis* Effectiveness As Larvasida Malaria Vectors in the District of Batu Layar , West Lombok Efektifitas *Bacillus thuringiensis* Sebagai Larvasida Vektor Malaria di Kecamatan Batu Layar Kabupaten Lombok Barat Urip Erlin Yustin Tatontos Nur. *Jurnal Kesehatan Prima*, 205–209.

- Vijayakumar, R., S. Murugesan, A. Cholarajan, dan V. Sakthi. 2010. Larvicidal Potentiality of Marine Actinomycetes Isolated from Muthupet Mangrove, Tamilnadu, India. *International Journal of Microbiological Research*.
- Vijayan, V., dan K. Balaraman. 1991. Metabolites of fungi and actinomycetes active against mosquito larvae. *Indian Journal of Medical Research - Section A Infectious Diseases*. 93 : 115-117.
- Waskito, P., dan W. Cahyati. 2018. Efektivitas Granul Daun Salam (*Eugenia polyantha* Wight) Sebagai Larvasida Nyamuk *Aedes aegypti*. *SPIRAKEL*. 10(1) : 12–20.
- WHO. 2018. WHO | *The World malaria report 2018*. Who, Geneva, Switzerland.
- Wibowo, C. I. 2017. Efektivitas *Bacillus thuringiensis* dalam Pengendalian Larva Nyamuk *Anopheles* sp. *Biosfera*. 34(1) : 39.
- Widiastuti, D., dan B. Ikawati. 2018. Resistensi Malathion dan Aktivitas Enzim Esterase pada Populasi Nyamuk *Aedes aegypti* di Kabupaten Pekalongan. *Balaba: Jurnal Litbang Pengendalian Penyakit Bersumber Binatang Banjarnegara*. 61–70.
- Yuliasih, Y., dan M. Widawati. 2017. Aktivitas Larvasida Berbagai Pelarut pada Ekstrak Biji Kayu Besi Pantai (*Pongamia pinnata*) terhadap Mortalitas Larva *Aedes* spp. *Balaba: Jurnal Litbang Pengendalian Penyakit Bersumber Binatang Banjarnegara*. 13(2) : 125–132.